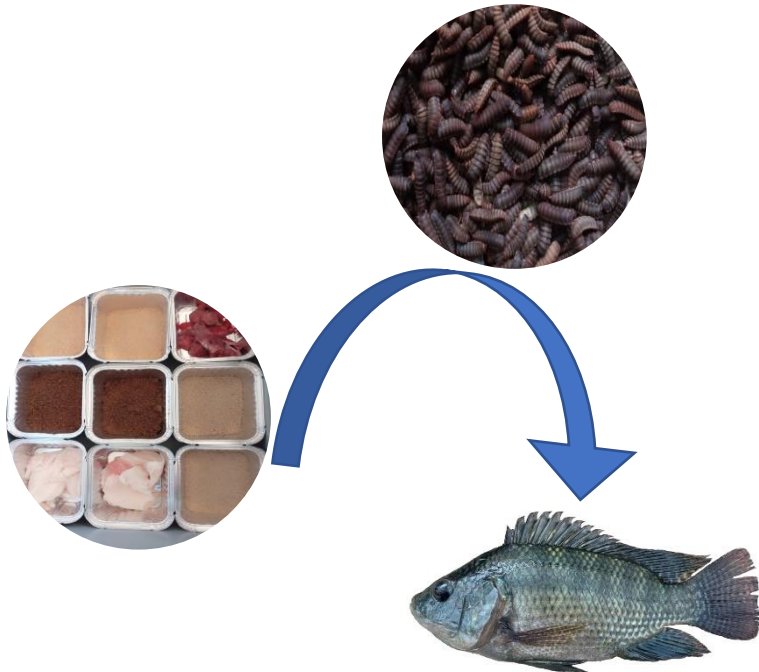


Valorisation de coproduits agricoles pour l'élevage de la mouche-soldat noire, *Hermetia illucens* (L. 1758) visant l'alimentation du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L. 1758) au Bénin



Mahounan Ulrich Armel GOUGBEDJI



COMMUNAUTÉ FRANÇAISE DE BELGIQUE  
UNIVERSITÉ DE LIÈGE – GEMBLoux AGRO-BIO TECH

**Valorisation de coproduits agricoles pour l'élevage de la  
mouche-soldat noire, *Hermetia illucens* (L. 1758) visant  
l'alimentation du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L.  
1758) au Bénin**

Mahounan Ulrich Armel GOUGBEDJI

Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en  
sciences agronomiques et ingénierie biologique

Promoteur: Prof. Rudy Caparros Megido (ULiège-Gembloux Agro-Bio Tech)

Co-promoteurs: Prof. Frédéric Francis (ULiège-Gembloux Agro-Bio Tech)

Prof. Philippe Adédjobi Lalèyè (Université d'Abomey-Calavi)

Année civile : 2022

## **Copyright**

Cette œuvre est sous licence Creative Commons. Le lecteur est libre de reproduire, de modifier, de distribuer et de communiquer cette création au public selon les conditions suivantes :

- paternité (BY) : citer le nom de l'auteur original de la manière indiquée par l'auteur de l'œuvre ou le titulaire des droits qui vous confère cette autorisation (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'ils vous soutiennent ou approuvent votre utilisation de l'œuvre) ;
- pas d'utilisation commerciale (NC) : pas de droit d'utiliser cette création à des fins commerciales ;
- partage des conditions initiales à l'identique (SA) : le droit de distribuer la création qui résulte de modifications, transformations ou adaptations de la création que sous un contrat identique à celui-ci.

A chaque réutilisation ou distribution de cette création, vous devez faire apparaître clairement au public les conditions contractuelles de sa mise à disposition. Chacune de ces conditions peut être levée si vous obtenez l'autorisation du titulaire des droits de cette œuvre. Rien dans ce contrat ne diminue ou ne restreint le droit de l'auteur.

**GOUGBEDJI M.U. Armel (2022).** Valorisation de coproduits agricoles pour l'élevage de la mouche-soldat noire, *Hermetia illucens* (L. 1758) visant l'alimentation du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L. 1758) au Bénin. (Thèse de doctorat). Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Belgique.

## Résumé

La disponibilité en protéines animales de qualité est la principale préoccupation pour une population mondiale en pleine croissance. Le déclin graduel des captures de la pêche et la demande accrue d'aliments pour le secteur aquacole ont provoqué une diminution marquée de la disponibilité de la farine de poisson et de l'huile de poisson avec une augmentation de leur prix. La durabilité de ces intrants devient problématique et la recherche de ressources alternatives performantes s'avère imminente. Les farines végétales comme le soja et d'autres plantes terrestres ont été largement introduites dans l'alimentation des poissons. Bien qu'elles soient riches en protéines et en lipides, plusieurs de ces ressources végétales présentent des facteurs antinutritionnels, des niveaux élevés d'acides gras saturés, une carence en acides gras polyinsaturés longues chaînes et connaissent une concurrence avec le secteur de la consommation humaine. De plus, l'empreinte écologique liée à la consommation énergétique et hydrique engendrée par leur production met en péril la durabilité de cette alternative. Une source de protéines précieuse et pérenne est constituée par les insectes. Ils font naturellement partie du régime alimentaire des poissons et possèdent une valeur nutritionnelle élevée. Par rapport aux élevages conventionnels, ils ont une efficacité de conversion élevée et nécessitent beaucoup moins d'eau. L'aptitude des insectes à convertir les déchets en nutriments de haute qualité est bien connue et la mouche-soldat noire (*Hermetia illucens* L. 1758) est reconnue comme l'un des bio-convertisseurs les plus efficaces. La rapidité de son cycle de développement et son habitude alimentaire polyphage en font un candidat de premier ordre à la substitution de la farine et de l'huile de poisson. Cependant, son profil lipidique est caractérisé par des niveaux élevés en acides gras saturés qui limitent son inclusion dans l'aliment des poissons. Par ailleurs, la production de masse de cette espèce n'est pas encore une activité courante et la littérature en matière de production est encore peu documentée, surtout en Afrique et notamment au Bénin où elle est inexistante.

Cette thèse qui s'inscrit dans un programme d'optimisation de la filière de production du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L. 1758) au Bénin s'est intéressée à l'élevage de la mouche-soldat noire à partir de coproduits agricoles locaux pour son incorporation dans les aliments piscicoles.

La première partie de ce travail a consisté à réaliser un inventaire des ressources disponibles, potentiellement utilisables pour l'élevage de la mouche-soldat noire. Une enquête a été réalisée et une liste de 22 coproduits d'intérêt constituée de tourteaux, de sons et de résidus organiques a été proposée.

Le second volet de cette thèse a consisté à développer une unité fonctionnelle de production de la farine de mouche-soldat noire. Les paramètres zootechniques de l'élevage ont été étudiés pour définir les bases adaptées à une production locale. Les

paramètres de reproduction optimale établis définissent une densité de charge des adultes de 8500 individus/m<sup>3</sup> à 26-27°C en les exposant à au moins 12h de lumière naturelle. Un dispositif d'élevage larvaire adapté au comportement de l'insecte a été conçu à partir de bacs plastiques puis testé. L'élevage des larves a été conduit sur l'association de coproduits broyés et humidifiés à 70%. La densité de charge larvaire optimale définie était de 2g d'aliment par larve. A partir d'une unité de 0,12 m<sup>2</sup>, environ 400 g de farine de mouche-soldat noire ont pu être produits.

La troisième étape de la recherche a consisté à optimiser la qualité des acides gras de la mouche-soldat noire. L'objectif était d'apporter chez l'insecte, à travers l'alimentation, les acides gras polyinsaturés (AGPI) qu'il était incapable de produire, mais qui sont déterminants chez le poisson. Il s'agit des acides linoléique (LA), alpha linoléique (ALA), eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Les régimes alimentaires des insectes ont été modulés en les enrichissant par incorporation de coproduits végétaux riches en LA et ALA et des abats de poissons contenant des niveaux élevés d'EPA et de DHA. Ces acides gras se sont retrouvés en proportions relativement importantes dans la farine de la mouche-soldat noire à l'exception du DHA qui présentait de faibles valeurs.

La quatrième phase de la recherche a consisté à tester l'effet du remplacement total de la farine et de l'huile de poisson par les farines enrichies sur les performances de croissance et la qualité nutritionnelle du tilapia du Nil. Globalement les poissons nourris avec les régimes témoins contenant la farine de poisson et l'huile de poisson présentaient de meilleures performances. Cependant, certains régimes à base de mouche-soldat noire permettaient d'obtenir des croissances similaires aux témoins. Si les poissons ont répondu différemment selon les niveaux d'enrichissement des AGPI, les proportions d'ALA, EPA et DHA dans les poissons étaient satisfaisantes. A partir du précurseur « LA » apporté par l'insecte, *O. niloticus* est en mesure de synthétiser les AG essentiels comme l'acide arachidonique. La digestibilité des aliments a été affaiblie par les substitutions totales effectuées. Les proportions élevées de chitine dans les pré-pupes de mouche-soldat noire en sont l'explication plausible. Des pistes de recherche pour éliminer ou réduire son influence ont été suggérées.

La dernière partie de cette étude a porté sur une analyse quantitative des effets de l'inclusion de la mouche-soldat noire dans les aliments en pisciculture. L'objectif était de voir si les promesses faites à propos de la mouche-soldat noire en tant que protéine d'avenir pour l'industrie piscicole étaient solides. Les études concernant le sujet ont été analysées et bien qu'aucune conclusion définitive n'ait été tirée, il est possible d'envisager des niveaux élevés de substitution sans compromettre les performances du poisson. Toutefois, la viabilité économique d'une production commerciale de poisson à partir d'aliments à base de la mouche-soldat noire doit être rigoureusement analysée.

Les résultats de cette thèse constituent une base d'amélioration des différents aspects d'élevage de la mouche-soldat noire et de son optimisation nutritionnelle pour remplacer efficacement la farine de poisson.

**GOUGBEDJI M. U. Armel (2022).** Valorization of agricultural byproducts for Black Soldier Fly breeding, *Hermetia illucens* (L. 1758) to feed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L. 1758) in Benin. (PhD thesis). Gembloux Agro-Bio Tech, Liège University, Belgium.

## Abstract

The availability of good quality animal protein is the main concern for a growing world population. The gradual decline in fisheries catches and the increased demand for aquaculture feeds have resulted in a marked decrease of fishmeal and fish oil availability with an increase of their price. The sustainability of these inputs is becoming a challenge and the search for efficient alternative resources is urgent. Plant meals such as soybean and other terrestrial plants have been widely introduced in fish feed. Although rich in protein and lipids, many of these plant resources have antinutritional factors, high levels of saturated fatty acids, a deficiency of long chain polyunsaturated fatty acids and compete with the human consumption sector. In addition, the ecological footprint related to the energy and water consumption generated by their production jeopardizes the sustainability of this alternative. A valuable and sustainable source of protein is insects. They are a natural part of the fish diet and have a high nutritional value. Compared to conventional fish farms, they have a high conversion efficiency and require much less water. The ability of insects to convert waste into high quality nutrients is well known and the black soldier fly (*Hermetia illucens* L. 1758) is recognized as one of the most efficient bio-converters. Its fast development cycle and polyphagous feeding habit make it a prime candidate for fishmeal and fish oil substitution. However, its lipid profile is characterized by high levels of saturated fatty acids that limit its inclusion in fish feed. Moreover, mass production of this species is not yet a common activity and the literature on production is still poorly documented, especially in Africa and particularly in Benin where it is non-existent.

This thesis, which is part of a program to optimize the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L. 1758) production chain in Benin, focused on the rearing of the black soldier fly from local agricultural by-products for incorporation into fish feed.

The first part of this work consisted in making an inventory of available resources that could potentially be used for black soldier fly rearing. A survey was carried out and a list of 22 by-products of interest consisting of oilcake, bran and organic residues was proposed.

The second part of this thesis consisted in developing a functional unit for the production of black soldier fly meal. The zootechnical parameters of the breeding were studied to define the bases adapted to a local production. The optimal reproduction parameters established define a stocking density of 8500 individuals/m<sup>3</sup> at 26-27°C with at least 12 hours of natural light. A larval rearing system adapted to the behavior of the insect was designed and tested in plastic tanks. The larvae were reared on a combination of crushed and 70% moistened coproducts. The optimal

larval load density was defined as 2g of feed per larva. From a 0.12 m<sup>2</sup> unit, approximately 400 g of black soldier fly meal could be produced.

The third step of the research was to optimize the quality of the fatty acids of the black soldier fly. The objective was to provide the insect with polyunsaturated fatty acids (PUFAs) that it was unable to produce, but which are crucial in fish. These are linoleic (LA), alpha linolenic (ALA), eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids. Insect diets were modulated by incorporating plant co-products rich in LA and ALA and fish offal containing high levels of EPA and DHA. These fatty acids were found in relatively high proportions in the black soldier fly meal, with the exception of DHA, which had low values.

The fourth step of the research was to test the effect of total replacement of fish meal and fish oil by the enriched meals on the growth performance and nutritional quality of Nile tilapia. Overall, fish fed the control diets containing fishmeal and fish oil showed better performance. However, some black soldier fly diets resulted in growth rates similar to the controls. While fish responded differently to different levels of PUFA enrichment, the proportions of ALA, EPA and DHA in the fish were satisfactory. From the precursor "LA" provided by the insect, *O. niloticus* is able to synthesize essential FAs such as arachidonic acid. The digestibility of the food was weakened by the total substitutions made. The high proportions of chitin in black soldier fly prepupae are a plausible explanation. Avenues of research to eliminate or reduce its influence were suggested.

The final part of this study focused on a quantitative analysis of the effects of including black soldier fly in fish farm feeds. The objective was to see if the promises made about black soldier fly as a future protein for the fish farming industry were sound. Studies on the subject were reviewed and although no definitive conclusions were reached, it is possible to consider high levels of substitution without compromising fish performance. However, the economic viability of commercial fish production from black soldier fly feeds must be rigorously analyzed.

The results of this thesis provide a foundation for improving the various aspects of black soldier fly rearing and its nutritional optimization to effectively replace fish meal.





## Remerciements

Un parcours doctoral est certes une aventure personnelle, mais son succès est fortement tributaire des investissements scientifiques, financiers et moraux de toutes les personnes rencontrées sur cette longue route.

Je tiens en premier lieu à remercier mon promoteur, **Rudy Caparros Megido**. Il est clair que ce travail n'aurait pu être achevé sans votre inestimable concours. Vous m'avez initié à la production des insectes et avez été mon mentor scientifique tout au long de cette thèse. Tel un nouveau-né, vous avez guidé mes pas à travers les différentes expérimentations ainsi que les manuscrits rédigés et publiés. Votre disponibilité, votre humilité et votre patience envers moi m'ont profondément touché. Je n'aurais pas rêvé d'un meilleur guide scientifique.

Je tiens tous particulièrement à remercier mes co-promoteurs, les professeurs **Frédéric Francis** et **Philippe Lalèyè**. Professeur Francis, vous m'avez promptement accueilli au sein de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive pour un stage en production d'insectes. Au terme de celui-ci, vous n'avez pas hésité un instant à codiriger cette thèse. Depuis lors, vous avez mené maints combats pour l'achèvement de cette œuvre. Je vous serai éternellement reconnaissant de ce dévouement perpétuel. Prof Lalèyè, vous avez été mon formateur depuis mes premiers travaux de fin d'étude en Licence. Vous m'avez toujours soutenu et m'avez encouragé à débiter ce projet. Je suis extrêmement honoré de la confiance que vous me portez depuis toutes ces années et j'espère en avoir été digne.

Je remercie mon collègue **Bertrand Hoc**. Tu m'as été d'un grand soutien dans l'exécution de mes protocoles expérimentaux. Nos échanges quotidiens et tes conseils avisés m'ont réellement inspiré. Au-delà de l'aspect professionnel, c'est ton humanité et ta bonne humeur que je retiens. Notre première pêche en Flandre restera gravée dans ma mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à **Lucien Mostade** qui m'a accompagné dans la mise en place de mes expériences et dans mes analyses chimiques en Belgique. J'ai toujours apprécié ton caractère fort sympathique.

Je suis reconnaissant envers mes collègues béninois du projet « OpTil-Bénin » ; **Pamphile Agbohessou** et **Mohammed Fagbemi**. Nous avons parcouru du chemin ensemble et votre esprit de fraternité et de bienveillance a permis la réussite de nos différentes collaborations scientifiques. Je vous souhaite une excellente carrière. Dans le même registre, je remercie **Arnold Codjia**, technicien au sein du projet « OpTil » pour son assistance tout au long du projet.

Mes pensées vont vers mes collègues de bureau en Entomologie. **Boni Yarou** et **Sandrine Bayendi**, merci à vous de m'avoir accueilli et facilité mon intégration au sein de l'unité et en Belgique. Merci **Abdou Azaque Zouré** pour tes conseils et ton amitié. Ta phénoménale aptitude à consommer du riz quotidiennement continue de m'interloquer. Un grand merci à **Junior Corneille Fingu**. J'ai toujours pu compter sur toi pour le moindre besoin, et même depuis le Bénin. Merci également à **Idriss Hamidou Leyo** pour tout ; enfin, tu sais cuisiner ! Merci enfin à **Françoise Madamo**

**Malas** pour sa grande humanité. Vous avez tous été de merveilleux compagnons au cours de mes séjours en Belgique.

A toute l'équipe d'Entomologie, j'exprime ma reconnaissance pour les différentes contributions que vous m'avez apportée et pour le bon esprit de travail qui a régné entre nous. Je pense spécialement aux très dévouées **Catherine Willaume** et **Sandra Torsin** ; à **Nicolas Poncelet**, **Grégoire Noel**, **Laurent Serteyn**, **Jeannine Bortels**, **Joachim Carpentier** sans oublier **Didier Conoir** pour ses nombreuses interventions dans les conteneurs d'élevage des mouches.

Un mot spécial pour **Djiman Lederoun** du Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture (LHA) et **Hyppolite Agadjihouèdé** de l'Université Nationale d'Agriculture (UNA) au Bénin qui m'ont toujours conseillé sur le plan scientifique et sur le plan personnel.

Je m'en voudrais d'oublier les stagiaires qui ont effectué leurs travaux de fin d'étude sur des thématiques liées à la production de la mouche-soldat noire et qui m'ont grandement aidé. Merci à **Ali Moustakbal**, **Christian Adegbola**, **Wallerens Lima**, **Yazid Zime Yerima** et **Maldes Djihinto**.

J'exprime ma profonde gratitude à Feu **Emmanuel Agossou** qui m'a beaucoup aidé dans mes collectes de données sur le terrain et a été un précieux conseillé. Je pleure encore ta disparition.

Je remercie mes autres collègues du LHA et d'autres laboratoires du Bénin pour leur diverses assistances. Je pense spécialement à **Romaric Lalèyè**, **Thierry Agblonon**, **Romaric Aizonou** et **Mardocheé Achoh**.

Pour tous les bons moments passés à la maison Nord-Sud, lors de mes séjours en Belgique, je remercie chaleureusement tous les résidents que j'ai rencontrés durant cette période et avec qui j'ai partagé de mémorables souvenirs. Je pense particulièrement à mon compatriote **Ben-Vital Kpanou** pour tout le soutien moral qu'il m'a apporté et la complicité fraternelle qui a régné entre nous ; Gembloux nous réunit à jamais. A **Michel Yao** pour nos nombreux échanges à la cuisine tard dans la nuit, je dis merci. Merci à **Lin Li** pour m'avoir fait découvrir la cuisine chinoise et à **Claudia Tchangang** pour ton amitié. Je ne pourrais oublier **Joseph Kambire**, **Ange Yao**, **Fanta Touré**, **Rosaire Ablan** et **Bintou Traoré** pour les instants de joies et de fêtes, mais surtout pour le « Dabali en Gbonhi ». Bonne continuation à vous tous.

Un grand merci à mon meilleur ami **Hamil Vodougnon** pour son soutien. Nous avons affronté tant d'épreuves ensemble depuis notre formation en Master et nous avons toujours pu compter l'un sur l'autre. Je te souhaite beaucoup de succès dans tes projets.

Je rends hommage à mon père **Rufin Gougbedji**, ma mère **Madeleine Agbélélé** et ma sœur **Diane Gougbedji** sans qui je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci de m'avoir encouragé à aller toujours plus loin dans mes études et pour les nombreux sacrifices que vous avez consentis pour faire de moi l'homme que je suis aujourd'hui. Veuillez voir dans ce travail la récompense de vos efforts.

À toi ma « bibiche » bien-aimée, **Eliane**, merci pour tout l'amour que tu me portes et pour avoir supporté mes absences ; merci pour notre adorable « petite exploratrice »

**Norah**, qui me comble de joie chaque jour. Vous m'avez tous les deux aidé à tenir dans les moments difficiles.

Je n'oublie pas mes beaux-parents, **Noël de Pedicepuis** et **Mouïbatou ODJO** ainsi que ma belle-sœur **Flavie de Pedicepuis**. Merci à vous pour tout le soutien que vous m'avez apporté.

Je voudrais enfin exprimer ma gratitude à l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur-Commission de Coopération au Développement-Fédération Wallonie Bruxelles (ARES-CCD) pour avoir financé cette thèse à travers le projet de développement « Optimisation de la filière tilapia au Bénin par amélioration génétique et stratégies alimentaires innovantes (OpTil-Bénin) ». Merci également à l'équipe du PACODEL, spécialement à **Lindsay Lebeau** et Valérie **Voyeux** pour la gestion administrative de ce financement.

# Tables des matières

Résumé .....	5
Abstract.....	7
Remerciements .....	10
Tables des matières.....	13
Liste des figures.....	18
Liste des tableaux .....	19
<b>Chapitre 1: Introduction générale .....</b>	<b>21</b>
1. Contexte et problématique de l'étude .....	23
1.1. Caractérisation du secteur piscicole au Bénin .....	23
1.2. Problématique du développement de la pisciculture .....	28
2. Ressources alternatives à la farine et à l'huile de poisson.....	29
2.1. Alternatives à la farine de poisson.....	29
2.2. Alternatives à l'huile de poisson.....	31
3. Choix d'un modèle entomologique .....	31
4. Présentation de la mouche-soldat noire .....	33
4.1. Systématique, morphologie et distribution géographique .....	33
4.2. Ethologie et cycle de développement .....	35
4.3. Alimentation et valeur nutritionnelle.....	37
4.3.1. Régime alimentaire.....	37
4.3.2. Composition proximale .....	37
4.3.3. Composition en acides gras .....	38
4.4. La mouche-soldat noire dans l'alimentation des poissons.....	39
4.5. Autres champs d'utilisation de la mouche-soldat noire.....	40
5. Présentation du tilapia du Nil .....	41
5.1. Systématique, morphologie et distribution géographique .....	41
5.2. Alimentation et besoins nutritionnels .....	42
6. Questions de recherche .....	43
7. Références .....	43
<b>Chapitre 2: Objectifs et Structure de la thèse.....</b>	<b>56</b>

1. Objectifs de recherche .....	58
2. Structure de la thèse.....	59
<b>Chapitre 3: Inventaire de coproduits agricoles et test de nutrition de la mouche-soldat noire au Bénin.....</b>	<b>61</b>
Résumé .....	63
1. Introduction .....	64
2. Matériel et Méthodes.....	65
2.1. Zone d'étude.....	65
2.2. Inventaire et sélection des coproduits agricoles pour l'élevage d' <i>Hermetia illucens</i> .....	65
2.3. Croissance des larves d' <i>Hermetia illucens</i> nourries avec des coproduits agricoles.....	66
2.4. Composition nutritionnelle des prépuces d' <i>Hermetia illucens</i> .....	68
2.5. Analyse des données.....	68
3. Résultats .....	68
3.1. Description de la population étudiée .....	68
3.2. Diversité et distribution géographique des coproduits agricoles.....	70
3.3. Disponibilité temporelle, quantitative et valeur marchande des coproduits agricoles identifiés.....	73
3.4. Paramètres d'élevage et composition nutritionnelle des prépuces .....	76
4. Discussion .....	78
5. Conclusion.....	80
6. Références .....	80
4	84
<b>Chapitre 4: Technique d'élevage et enrichissement nutritionnel .....</b>	<b>84</b>
Abstract .....	86
1. Introduction .....	87
2. Materials and Methods .....	88
2.1. Study site .....	88
2.2. Reproduction of black soldier fly .....	88
2.3. Larvarium design.....	89
2.4. Determination of optimal load density .....	90
2.5. Harvesting system and feed production.....	90
2.6. Optimization of the lipid quality of black soldier fly prepupae.....	91

2.7.	Chemical analysis .....	92
2.8.	Financial evaluation of productions.....	93
2.9.	Data processing.....	93
3.	Results .....	94
3.1.	Reproductive parameters of <i>Hermetia illucens</i> .....	94
3.1.1.	Ambient temperature and light duration.....	94
3.1.2.	Evolution of oviposition over time .....	94
3.1.3.	Variation of egg-laying and larval production according to densities and substrates.....	94
3.2.	Breeding parameters .....	95
3.3.	Prepupal weight and proximate composition of BSF reared on contrasted lipid diets .....	96
3.4.	Fatty acids composition of BSF prepupae reared on contrasted lipid diets	97
3.5.	Evaluation of <i>Hermetia illucens</i> prepupal production costs.....	99
4.	Discussion.....	102
4.1.	Black soldier fly artificial reproduction.....	102
4.2.	Larvarium prototype .....	103
4.3.	Larval rearing .....	103
4.4.	Nutritional composition of prepupae reared on contrasted lipid diet .....	104
4.5.	Economic evaluation of production.....	106
5.	Conclusion.....	106
6.	References .....	107
Chapitre 5: Inclusion de la farine d' <i>Hermetia illucens</i> dans le régime alimentaire d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....		112
1.	Introduction .....	115
2.	Materials and Methods .....	116
2.1.	Enrichment of black soldier fly meal.....	116
2.2.	Facilities and Fish.....	120
2.2.1.	Experimental Diet.....	120
2.2.2.	Fish rearing and feeding .....	120
2.3.	Data collection.....	123
2.3.1.	Growth performance and feed utilization .....	123

2.3.2.	Sample collection .....	123
2.3.3.	Proximate analysis.....	123
2.3.4.	Fatty acid analysis .....	124
2.3.5.	Digestibility assessment .....	124
3.	Results .....	125
3.1.	Growth performances and feed utilization .....	125
3.2.	Whole-body biochemical composition.....	127
3.2.1.	Protein and total lipid contents .....	127
3.2.2.	Fatty acid metabolism.....	127
3.3.	Nutrient digestibility.....	128
4.	Discussion .....	<b>129</b>
4.1.	Effects of PUFAs enriched larval meals on growth related parameters..	129
4.2.	Effects of PUFAs enriched black soldier fly meal on digestibility .....	130
4.3.	Effects of PUFAs enriched black soldier fly meal on fish fatty acid metabolism .....	131
5.	Conclusion.....	132
6.	References .....	132
	<b>Chapitre 6: La farine d'insecte peut-elle remplacer la farine de poisson ? .....</b>	<b>139</b>
1.	Introduction .....	142
2.	Materials and Methods .....	143
2.1.	Study Search.....	143
2.2.	Selection .....	143
2.3.	Data Extraction.....	143
2.4.	Data Analysis .....	144
3.	Results .....	145
3.1.	Description of Studies Included in the Meta-Analysis .....	145
3.2.	Search for Bias between Studies .....	147
3.3.	Sources of Heterogeneity .....	148
4.	Discussion .....	151
5.	Conclusion.....	152
6.	References .....	166
	<b>Chapitre 7: Discussion générale, perspectives et conclusion .....</b>	<b>172</b>
1.	Discussion et perspectives.....	174



1.1.	Choix des modèles biologiques .....	174
1.2.	Elevage et production de masse de la mouche-soldat noire au Bénin ....	176
1.2.1.	Infrastructures .....	176
1.2.2.	Reproduction .....	177
1.2.3.	Production larvaire.....	178
1.2.4.	Choix des coproduits agricoles et influence sur la qualité nutritionnelle des larves	180
1.2.5.	Perspectives de production industrielle .....	182
1.3.	Nutrition du tilapia du Nil à partir de pré-pupes de mouche-soldat noire enrichies.....	183
1.4.	Considérations économiques de la production de poissons à partir de la farine de mouche-soldat noire .....	184
2.	Conclusion.....	184
3.	Références .....	185
	Appendices .....	191

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Effectif des pisciculteurs recensés par département. ....	25
<b>Figure 2 :</b> Evolution de la production de poissons d'élevage au Bénin. ....	26
<b>Figure 3 :</b> Carte du réseau hydrographique du Bénin avec les niveaux du potentiel piscicole par zone géographique. ....	27
<b>Figure 4 :</b> Comparaison des niveaux d'espace, d'aliment et d'eau entre différents animaux d'élevage pour produire 1 kg de biomasse et proportion comestible de l'animal.....	30
<b>Figure 5 :</b> Position systématique de <i>Hermetia illucens</i> dans le règne animal. ....	33
<b>Figure 6 :</b> Morphologie de la mouche-soldat noire adulte.. ....	34
<b>Figure 7 :</b> Distribution géographique de <i>Hermetia illucens</i> en Afrique. ....	35
<b>Figure 8 :</b> Cycle de développement de la mouche soldat-noire.....	36
<b>Figure 9 :</b> Un spécimen du tilapia du Nil, <i>Oreochromis niloticus</i> .....	41
<b>Figure 10 :</b> Cartographie des structures enquêtées par département. ....	66
<b>Figure 11 :</b> Dispositif d'élevage larvaire.....	67
<b>Figure 12 :</b> Histogramme d'abondance des coproduits agricoles par département. ....	69
<b>Figure 13 :</b> Histogramme d'abondance des coproduits agricoles par commune. ....	69
<b>Figure 14 :</b> Représentation de l'abondance des coproduits agricoles par groupe.....	70
<b>Figure 15 :</b> Évolution journalière du poids moyen des larves en fonction des régimes alimentaires. ....	76
<b>Figure 16 :</b> Larvarium.....	90
<b>Figure 17 :</b> Temporal evolution of oviposition of <i>Hermetia illucens</i> .....	94
<b>Figure 18 :</b> Evolution of the average weight of the larvae of each treatment during the experiment. ....	96
<b>Figure 19 :</b> Fatty acid contents of fish fed different diets.....	128
<b>Figure 20 :</b> Distribution of publications according to continents and years. ....	145
<b>Figure 21 :</b> Relative abundance of fish species by publications identified in the meta-analysis. ....	146
<b>Figure 22 :</b> Protein substitution rate of fish meal by Black Soldier Fly meal according to trials. ....	146
<b>Figure 23 :</b> Funnel plots of differences in means between experimental and control groups. ....	147

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Historique de quelques projets ou programmes nationaux importants qui ont contribué au développement de la pisciculture au Bénin. ....	24
<b>Tableau 2</b> : Principaux critères de choix d'une espèce d'insecte pour l'élevage.. ..	32
<b>Tableau 3</b> : Composition des différents substrats nourriciers. ....	67
<b>Tableau 4</b> : Profil général de la diversité des coproduits agricoles inventoriés. ....	71
<b>Tableau 5</b> : Disponibilité temporelle, quantité et coût des coproduits agricoles. ....	74
<b>Tableau 6</b> : Paramètres biologiques et nutritionnels de larves et prépuces d' <i>Hermetia illucens</i> . ....	77
<b>Tableau 7</b> : Composition of formulated larval rearing diets.....	91
<b>Tableau 8</b> : Production of eggs and larvae according to densities and substrates at the end of reproduction cycle. ....	95
<b>Tableau 9</b> : <i>Hermetia illucens</i> breeding parameters. ....	95
<b>Tableau 10</b> : Larval weight and nutritional parameters of BSF prepupae reared on vegetable diet (VGD) and on fish offal diet (FOD).....	97
<b>Tableau 11</b> : Fatty acids composition of black soldier fly prepupae reared on vegetable diet (VGD) and fish offal diet (FOD).....	98
<b>Tableau 12</b> : Total cost of inputs for the production of 1 kg of <i>Hermetia illucens</i> prepupae. ....	100
<b>Tableau 13</b> : Composition of agricultural by-products in enriched substrates for insect larvae.. ....	117
<b>Tableau 14</b> : Chemical composition of black soldier fly prepupae meals produced on plant (VGS1 and VGS2) and animal (FOS1 and FOS2) substrates.....	118
<b>Tableau 15</b> : Proximal and fatty acid composition of experimental fish diets formulated with insect meal.....	121
<b>Tableau 16</b> : Growth performance, feed utilization and survival of juvenile Nile tilapia fed with fish meal diet (FMD1, FMD2) or BSF meal diet (VGD1, VGD2, FOD1, FOD2) enriched with LC-PUFAs.....	126
<b>Tableau 17</b> : Whole-body composition of Nile tilapia juveniles fed fish meal diet (FMD1) or BSF meal diet (VGD1, FOD1) enriched with LC-PUFAs. ....	127
<b>Tableau 18</b> : Apparent digestibility coefficients (ADC) of nutrients in Nile tilapia juveniles fed fish meal or BSF larval meal.....	129
<b>Tableau 19</b> : Funnel asymmetry Tests.....	148
<b>Tableau 20</b> : Estimation of effects responsible for sources of heterogeneity across studies. ....	149
<b>Tableau 21</b> : Simulation d'une production de farine d'insecte à l'échelle industrielle pour satisfaire la demande en annuelle nationale .....	182



# 1

---

## Introduction générale



# 1. Contexte et problématique de l'étude

## 1.1. *Caractérisation du secteur piscicole au Bénin*

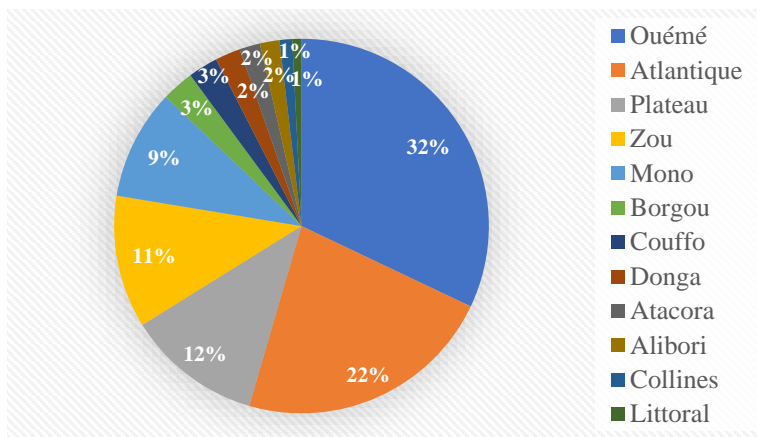
Le Bénin est un pays d'Afrique de l'Ouest d'une superficie de 114.763 km<sup>2</sup> avec une population estimée à 12.506.347 habitants en 2021. Le pays est subdivisé en 12 départements qui regroupent 77 communes. Il est doté d'un réseau hydrographique fort dense qui traverse le pays du Nord au Sud et est constitué de plusieurs cours d'eaux d'une longueur cumulée de 7000 km. La région côtière du Bénin est parsemée de lagunes, de lacs et de marécages d'une superficie totale de 330 km<sup>2</sup>. Cet atout hydraulique a permis à la pêche de prospérer en tant qu'activité économique importante qui occupe 15% de la population active et 25% de celle du secteur agricole (Rurangwa et al., 2014). Depuis plusieurs années, la pêche continentale et la pêche maritime artisanale contribuent largement (plus de 90%) à la production halieutique nationale (DPH, 2021). Cependant elles sont loin de couvrir les besoins annuels des populations béninoises estimés à plus de 180.000 tonnes en moyenne (DSID, 2019). Face à ce déficit qui perdure et s'accroît, la pisciculture s'est développée au fil du temps pour pallier le manque et réduire les importations massives de poissons. Les programmes d'appuis, de promotion, de vulgarisation ou de renforcement de la pisciculture présentés dans le tableau 1 se sont intensifiés dans l'optique d'atteindre une production nationale moyenne de 20.000 tonnes par an (MAEP, 2017). Le Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale (PROVAC) a eu une forte influence sur le développement de l'Aquaculture. La première phase du projet (2010-2013) a permis une augmentation du nombre de pisciculteurs dans les départements du Sud-Bénin. Cette phase a promu une pisciculture semi-intensive grâce à une formation adéquate, une amélioration des techniques de productions et la fourniture d'alevins de tilapia mono-sexes mâles (BBIA, 2017). La seconde phase qui a débuté en 2017 et qui se poursuit a pour but d'induire une augmentation de la production piscicole au plan national et le nombre de piscicultures dans les régions Nord et Sud.

**Tableau 1 :** Historique de quelques projets ou programmes nationaux importants qui ont contribué au développement de la pisciculture au Bénin.

<b>Année</b>	<b>Projet/Programme</b>	<b>Objectif/Réalisation</b>	<b>Référence</b>
2010-2013	Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale (PROVAC-1)	Augmentation du nombre de pisciculteurs au Bénin par des formations avec l'approche « fermier à fermier »	(MAEP, 2013)
2011-2016	Projet de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO)	Volet piscicole orienté vers le développement des technologies de production d'alevins unisexes de tilapia au Bénin	(DSID, 2019)
2012-2017	Projet d'Appui à la Diversification Agricole (PADA)	Volet piscicole consacré à la structuration des pisciculteurs	(DSID, 2019)
2016-2022	Optimisation de la filière de production de Tilapia au Bénin par amélioration génétique et Stratégie alimentaire innovante (OpTIL-BENIN)	Identification de souches performantes de tilapia et formulation d'aliments performants	(PRD, 2016)
2017-2022	Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale (PROVAC-2)	Intensification de la production piscicole dans sept départements du sud Bénin à travers l'approche de vulgarisation « fermier à fermier » et l'amélioration des techniques de pisciculture.	(BBIA, 2017)
2021	Renforcement des Capacités Techniques des Gestionnaires d'écloserie et des Techniciens spécialisés (RCGT)	Formation des gestionnaires d'écloseries et des techniciens spécialisés sur les bonnes pratiques de gestion des géniteurs de poissons (cas du tilapia et du poisson chat)	(PROAGRO, 2021)

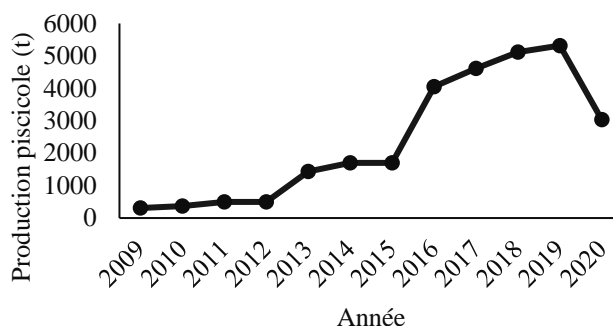


Le développement progressif du secteur piscicole s'est traduit en premier lieu par une augmentation du nombre de pisciculteurs. Le projet PROVAC a dénombré en 2017 un total de 2018 pisciculteurs répartis sur l'ensemble du territoire. La zone Sud constituée des départements de l'Ouémé, de l'Atlantique, du Plateau, du Zou, du Mono, des Collines et du Littoral concentre 89 % des pisciculteurs (Figure 1). Les départements avec les plus grands effectifs sont l'Ouémé et l'Atlantique.



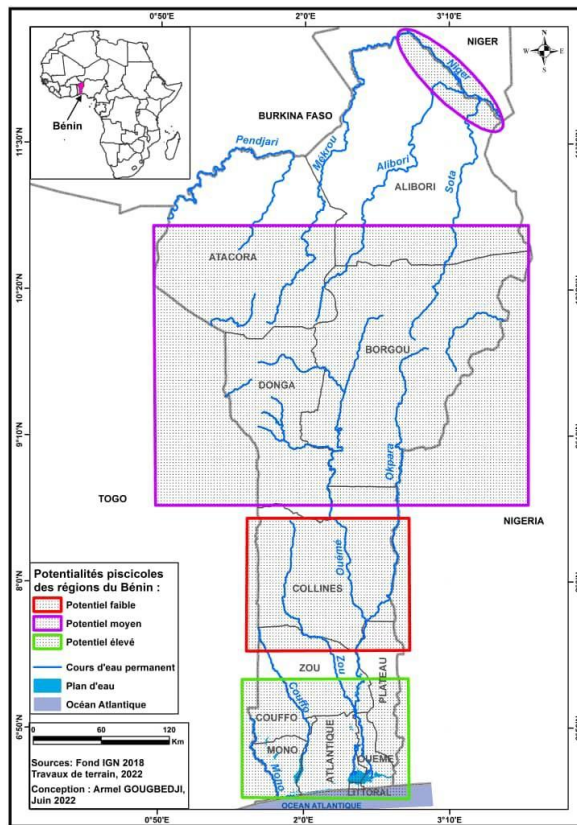
**Figure 1** : Répartition des pisciculteurs recensés par département. Données issues de BBIA (2017).

Le deuxième indicateur de l'impact positif des actions des programmes est la croissance graduelle de la production piscicole observée depuis plus de 10 ans (Figure 2). La plus forte production a été enregistrée en 2019 avec 5318 t. La baisse de production enregistrée en 2020 est principalement due à deux facteurs. Le premier concerne la chute de la production du poisson-chat en 2020. En effet, le poisson-chat produit au Bénin est principalement exporté vers le marché du Nigéria (Rurangwa et al., 2014). Or, le pays ferme ses frontières terrestres avec le Bénin en août 2019 afin d'endiguer la contrebande de marchandises, notamment du riz. Le second facteur concerne la crise de la pandémie de COVID-19 qui a fortement impacté les importations des aliments piscicoles et par conséquent la productivité du secteur. De façon globale, les chiffres actuels sont encore loin des objectifs de production escomptés qui sont de 20.000 tonnes de poissons par an.



**Figure 2 :** Évolution de la production de poissons d'élevage au Bénin. Données issues de DPH (2021).

A partir d'une analyse intégrée de la densité du réseau hydrographique du Bénin, de la répartition géographique des pisciculteurs, du recensement des infrastructures aquacoles et des institutions de développement agricole, une cartographie des zones potentielles de développement de la pisciculture a été établie (Figure 3). Les zones du Sud, du Nord et du Centre présentent respectivement des potentialités élevées, moyennes et faibles. En effet, la région du Sud regroupe le plus grand nombre de pisciculteurs (89%), la plus grande proportion d'infrastructures piscicoles (92,8%) et la majorité des institutions de la gestion de la pêche et de l'aquaculture tels que le Ministère de l'Élevage, de l'Agriculture et de la Pêche, la Direction de la Production Halieutique et les Agences Territoriales de Développement Agricole (DSID, 2019). Elle permet un cadrage optimal des zones d'intervention des différents projets au Bénin.



**Figure 3 :** Carte du réseau hydrographique du Bénin avec les niveaux du potentiel piscicole par zone géographique. Adaptation à partir de MAEP-DPH (2009).

Deux espèces de poisson sont couramment élevées dans les fermes piscicoles au Bénin en vue d'une commercialisation : le tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) et le poisson-chat africain, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). Le tilapia du Nil est traditionnellement fort apprécié des consommateurs béninois par rapport au poisson chat (PRD, 2016). Les infrastructures principalement utilisées en pisciculture béninoise sont des étangs, des bassins en béton, des bacs hors sol, des cages et des enclos. D'après le recensement effectué en 2017, les étangs représentaient 65,8% des infrastructures d'élevage fonctionnels. Les bassins représentaient 16,9% ; les cages, 8% ; les bacs hors sol, 7,5 % et les enclos 1,8%.

Le poisson d'élevage au Bénin est essentiellement élevés avec deux types d'aliments : l'aliment importé et l'aliment local. L'aliment importé est constitués de granulés extrudés (pellets flottants obtenus par compression, à température élevée, dans des enceintes pressurisées à forte humidité) nutritionnellement performants et importés depuis les Pays-Bas, la France, le Ghana ou le Nigéria (Adéyèmi et al., 2020). Les marques courantes utilisées par les pisciculteurs sont : BioMar, Le Guoussan, Raanan et Topfeed (Aizonou, 2022). Ils sont généralement produits à partir

de plusieurs ingrédients comme la farine et l'huile de poisson, les farines de soja, de maïs, de blé, de graine de coton ou de lin et des compléments en acides aminés et vitamines. Ces aliments fabriqués à partir d'une technologie de pointe constituent les ressources de base de l'alimentation en pisciculture béninoise. Les aliments locaux sont des aliments de complément fabriqués par les pisciculteurs eux-mêmes. Ils sont produits à partir d'une diversité de matières d'origines animales comme la farine de poisson, les abats de poissons ou de volailles, la farine de sang, le ver de terre et de matières d'origines végétales comme les sons de maïs, de riz, de blé, les tourteaux de soja ou de coton, les cossettes de manioc, l'huile de palme (Adéyèmi et al., 2020).

## ***1.2. Problématique du développement de la pisciculture***

Bien que les différents programmes ou projets sus-cités aient apporté une réelle contribution à l'essor de la pisciculture au Bénin, la réalité est telle que les objectifs de production permettant de satisfaire la demande nationale ne sont pas atteints. Les investigations menées par Rurangwa et al. (2014) ont permis de relever les contraintes majeures pour le développement aquacole. Elles sont de trois ordres : les contraintes relatives aux intrants (aliments, semences, technologie) ; celles relatives aux politiques et régulations et celles concernant les droits à la propriété. Les contraintes liées aux intrants aquacoles sont :

- le coût élevé des aliments importés,
- la mauvaise qualité des aliments locaux,
- la dégénérescence génétique des souches d'*O. niloticus*,
- le nombre limité d'espèces élevées en aquaculture,
- le coût élevé des infrastructures et équipements pour la production piscicole,
- la non maîtrise des paramètres de production aquacole notamment les protocoles d'élevage de poisson (aménagement des bassins, élevage de reproducteurs, alimentation appropriée, prophylaxie et soins vétérinaires),
- l'insuffisance de recherche et d'encadrement adapté en aquaculture,
- les coupures d'électricité et le coût élevé de l'auto-génération énergétique.

La problématique de l'alimentation efficiente des poissons demeure une question primordiale. Au-delà des performances biologiques, l'aliment du poisson contribue pour 40-70% du coût total de production (Rana et al., 2009). Ainsi, des aliments de qualité moyenne ou dont les coûts sont élevés influencent directement le rendement ou la rentabilité piscicole. Les principaux intrants entrant dans la composition des aliments pour poissons sont la farine de poisson et l'huile de poisson. La farine de poisson représente la source principale de protéines dans l'aliment du poisson et l'huile de poisson, la source d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) indispensables à la santé humaine. La durabilité de ces ressources commence réellement à soulever des inquiétudes. Considérés comme les ingrédients les plus nutritifs et les plus digestes pour les poissons, une proportion importante (environ 10 à 12 % en 2016) de la production halieutique mondiale est destinée à leur production (FAO, 2020). Ils proviennent de la pêche industrielle de poissons fourrages pélagiques tels que les sardines ou les anchois (FAO, 2018). Les répercussions écologiques néfastes d'une telle surpêche sont indéniables et leur prévention a conduit à la recherche d'ingrédients alternatifs. Bien que l'exploitation massive de ces ressources

reste importante, une tendance à la baisse est observée dans l'utilisation de la farine et de l'huile de poisson dans les aliments pour poissons (Tacon et al., 2008; Oliva-Teles, 2012). Cependant, cette réduction, couplée avec la demande croissante des fermes aquacoles, a une incidence directe sur le coût du poisson qui s'en trouve élevé. Le défi majeur sera donc de rechercher et d'adopter une ressource alternative performante nutritionnellement et dépourvue des contraintes de disponibilité et d'accessibilité avec un coût réduit pour le producteur.

## **2. Ressources alternatives à la farine et à l'huile de poisson**

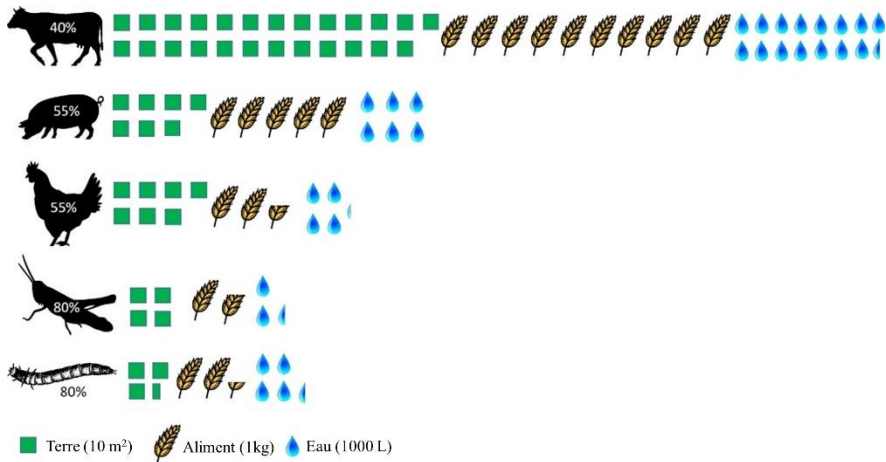
Afin de remédier aux contraintes imposées par l'utilisation de la farine et de l'huile de poisson, les scientifiques et les industriels ont réalisé des progrès notables dans la recherche de substituts protéiques et lipidiques adaptés à la nutrition des poissons.

### ***2.1. Alternatives à la farine de poisson***

Les premières investigations ont porté sur la substitution de la farine de poisson par des farines végétales (Espe et al., 2006; Gatlin et al., 2007; Naylor et al., 2009; Oliva-Teles, 2012). Les farines végétales telles que les tourteaux de soja, d'arachide, de palmiste ou les sons de blé constituent les sources principales d'acides aminés ou de protéines. Les effets de ces farines variaient en fonction du taux de substitution, de la durée d'élevage, de l'espèce de poisson ou de son stade de développement (Geay, 2011). Les baisses de croissance observées chez les poissons étaient en général dues au déséquilibre en acides aminés et en la présence de facteurs antinutritionnels (Francis et al., 2001). Ces déficits en acides aminés induisaient également une altération du système immunitaire des poissons et augmentaient les risques d'infections (Oliva-Teles, 2012). Par ailleurs, la montée des prix et la concurrence de ces farines avec d'autres secteurs tels que la consommation humaine, l'élevage ou la production du biodiesel limitent l'utilisation de ces ressources (Karapanagiotidis, 2014; Moutinho et al., 2017). De plus, les quantités industrielles indispensables à l'industrie aquacole imposeraient une culture intensive dont les inconvénients environnementaux sont certains. De telles productions engendreraient des déforestations, l'usage massif de pesticides et de grands volumes d'eau (Steinfeld et al., 2006).

L'utilisation des protéines d'origines animales (POM) comme les farines de sang, de viande et d'os ainsi que les coproduits de volaille constitue également une alternative déjà expérimentée (Bureau et al., 2000; Bureau, 2006; Campos et al., 2017; Moutinho et al., 2017). Les concentrations élevées en protéines et en lipides dans les POM et leur accessibilité à moindre coût, en font d'excellentes options de substituts. Les POM sont quasiment dépourvus de facteurs antinutritionnels et constituent d'excellents suppléments aux farines végétales (Bureau, 2006). Leur utilisation est toutefois limitée par un déficit en certains acides aminés essentiels, leur faible digestibilité et l'hétérogénéité nutritionnelle des matières qui les composent (Gasco et al., 2018). Par ailleurs, leur utilisation est proscrite dans certaines zones géographiques à l'instar de l'Union européenne.

Le potentiel de l'utilisation des insectes dans l'alimentation des poissons a été largement démontré (van Huis, 2013a; Barroso et al., 2014; Sánchez-Muros et al., 2014a; Nogales-Mérida et al., 2019a; Alfiko et al., 2022; Moyo et al., 2022). L'intérêt porté vers ces espèces se justifie premièrement par les habitudes alimentaires naturelles des poissons. En effet, les insectes font partie intégrante du réseau trophique des poissons dans les écosystèmes aquatiques (Howe et al., 2014; Whitley et al., 2014; Nogales-Mérida et al., 2019a). Ces invertébrés qui représentent le règne animal le plus diversifié sont dotés de caractéristiques biologiques intéressantes. Ils possèdent des taux de fécondité et de conversion alimentaire élevés et peuvent être facilement produits à partir d'aliments à faibles valeurs ajoutées (Schabel, 2010; van Huis, 2013a). Les insectes sont poïkilothermes, ce qui leur confère une grande aptitude à convertir de façon optimale les sous-produits ou résidus organiques de faible qualité nutritive en biomasses de protéine et de graisse de haute valeur (Sealey et al., 2011a; Cullere et al., 2016; Biasato et al., 2018). Ils utilisent peu d'aliments pour produire 1 kg de biomasse, utilisent efficacement l'eau dérivée de leur régime alimentaire et leur production ne nécessite ni un espace important, ni des installations de grandes envergures (Figure 4; Dobermann et al., 2017). De plus, certaines études ont rapporté des émissions assez faibles de gaz à effets de serre et d'ammoniac par rapport aux élevages conventionnels (Oonincx et al., 2010; Dobermann et al., 2017). La diversité des substrats nutritifs constitue également un atout majeur. Les insectes peuvent se nourrir de céréales, de matières organiques en décomposition, de fruits ou de légumes, de fientes de volaille, de lisiers de porc ou de bovin, de sous-produits de l'industrie ou les rejets néfastes pour l'environnement (Moyo et al., 2022).



**Figure 4 :** Proportion comestible de l'animal et comparaison des niveaux d'espace, d'aliment et d'eau entre différents animaux d'élevage pour produire 1 kg de biomasse (Dobermann et al., 2017).

## **2.2. Alternatives à l'huile de poisson**

Les lipides, dans l'aliment, constituent la source d'énergie la plus importante chez le poisson ainsi que la principale source d'acides gras essentiels. Contrairement à la farine de poisson pour laquelle les possibilités de substitutions sont nombreuses, peu d'alternatives existent pour l'huile de poisson, mais surtout, aucune d'elle ne constitue le substitut parfait (NRC, 2011). Les options potentielles de substitution décrites dans la littérature sont les huiles végétales issues des oléagineux tels que le soja, le palme, le colza, le tournesol ou le lin; les huiles d'origine animale issues de graisses de volailles, de porcs ou de bovins; les huiles issues de sous-produits aquatiques comme les abats de poisson et des ressources marines comme des algues unicellulaires ou des invertébrés benthiques (Turchini et al., 2009; NRC, 2011). Parmi ces différentes options, seules les huiles végétales ont été largement utilisées en raison de leur plus grande disponibilité et de leurs prix inférieurs à l'huile de poisson (Turchini et al., 2009). Ces huiles contiennent des niveaux élevés d'acides gras des voies n-6 et n-9 comme l'acide oléique (C18:1n-9) et l'acide linoléique (LA, C18:2n-6), mais sont déficients en AGPI-LC comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (C22:6n-3). Seul l'huile de lin fournit des proportions importantes d'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA, C18:3n-3). La plupart des études conduites sur les poissons d'eau douce et les salmonidés ont conclu que les huiles végétales pouvaient substituer intégralement l'huile de poisson sans affecter la croissance ni l'efficacité alimentaire (Turchini et al., 2009). Toutefois, ces études utilisaient principalement la farine de poisson, comme source de protéines, qui fournit une quantité non-négligeable d'acides gras n-3. En effet, une incorporation de 40% de farine de poisson dans l'aliment fournit généralement un apport d'au moins 4% de lipides et 1 à 1,5% d'AGPI-LC (n-3), suffisant pour satisfaire les besoins de ces poissons (NRC, 2011). Concernant les espèces marines dont les besoins en AGPI-LC sont plus importants, les taux de substitutions ne peuvent excéder 60 à 75% à condition que la farine de poisson soit la source de protéines dans l'aliment (NRC, 2011).

## **3. Choix d'un modèle entomologique**

Le choix de l'espèce d'insecte destinée à l'alimentation animale ne doit pas être pris à la légère. Van Huis et al. (2013) suggèrent de confronter les critères énumérés dans le tableau 2 afin d'opérer un choix réfléchi. Il est primordial que l'espèce soit locale ou ubiquiste, prolifique et peu exigeante des conditions d'élevage (Caparros Megido et al., 2015).

**Tableau 2** : Principaux critères de choix d'une espèce d'insecte pour l'élevage. Adaptation inspirée de van Huis et al. (2013).

<b>Structure de la population</b>	<b>Comportement parental</b>
Comportement grégaire	Protection des œufs
Usage d'un espace réduit	Larves facilement séparables des adultes
<b>Comportement sexuel</b>	<b>Ontogénie</b>
Signaux sexuels via le mouvement ou la posture	Cycle de développement court
Signaux sexuels induits par les phéromones	Taux de ponte et de survie élevés
Promiscuité	Potentiel de croissance journalière élevé
Facilité de reproduction	Faible vulnérabilité aux agents pathogènes
<b>Comportement alimentaire</b>	<b>Locomotion et Habitat</b>
Habitude polyphage	Espèce non migratrice
Se nourrit de régimes alimentaires communs	Agilité limitée
Espèce non encline au cannibalisme	Grande tolérance environnementale
Accepte les régimes artificiels	Polyvalence écologique

Plus de 1900 espèces d'insectes sont considérées comme comestibles dans le monde (Cortes Ortiz et al., 2016). Parmi les espèces candidates à une production industrielle pour l'alimentation animale, figurent le ver de farine *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 ; le ver à soie *Bombyx mori* Linnaeus, 1758; le grillon des champs méditerranéen *Gryllus bimaculatus* Thunberg, 1815; la mouche domestique *Musca domestica* Linnaeus, 1758; la mouche verte commune *Lucilia sericata* (Meigen, 1826); le hanneton des roses *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758); la cétoine marginée *Pachnoda marginata* (Drury, 1773) et la mouche-soldat noire *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758). Les sauterelles et les termites sont également recommandées mais dans une moindre mesure (van Huis et al., 2013). Trois espèces parmi elles ont davantage fait l'objet d'inclusion dans les tests alimentaires pour une diversité d'espèces de poissons. Dans une revue bibliographique récente, *H. illucens* représentait 49% des études, *T. molitor* représentait 27% des études et *M. domestica* était testé dans 14% des études (Hua, 2021). Ces trois espèces sont des convertisseurs efficaces de résidus organiques et remplissent la plupart des conditions décrites dans le tableau 2. Une préférence se démarque pour *H. illucens* à travers ces études. Si *M. domestica* a un cycle de développement plus rapide que celui de *H. illucens* (4-9 jours pour le premier contre 11-24 jours pour le second) et qu'il nécessite généralement moins d'expertise pour la reproduction des adultes, il est cependant de plus petite taille que *H. illucens* et susceptible d'être un vecteur de zoonoses (van Huis et al., 2020).

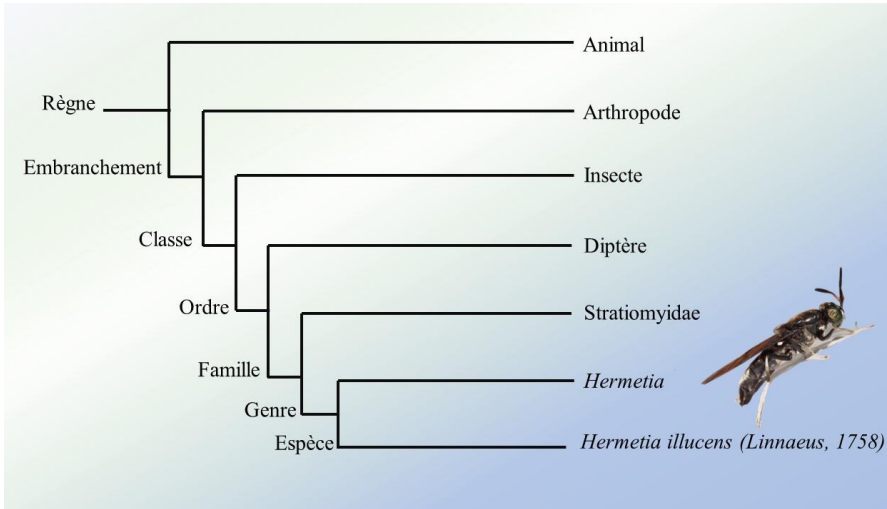


## 4. Présentation de la mouche-soldat noire

L'espèce d'insecte proposée comme une ressource alternative à la farine et à l'huile de poisson dans cette étude est la mouche-soldat noire. Elle a été choisie en raison de son statut cosmopolite, de son cycle de développement assez court, de son aptitude à se développer sur des résidus organiques, de son profil nutritionnel intéressant ( $\pm 40\%$  de protéines et  $\pm 20\%$  de lipides) pour les aliments piscicoles et qui peut être modulé, notamment en acides gras essentiels (Caruso et al., 2014; Henry et al., 2015; Barroso et al., 2017). Ces différents critères de sélection sont développés dans la présente section.

### 4.1. Systématique, morphologie et distribution géographique

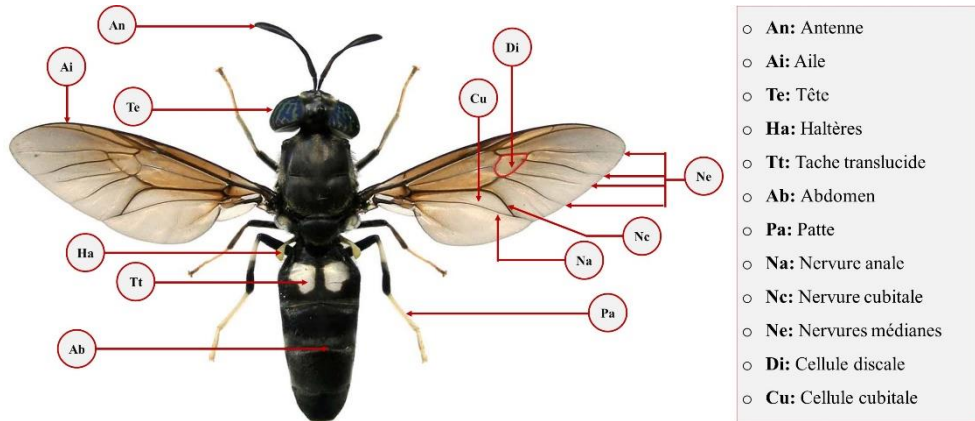
La mouche-soldat noire communément appelée, en anglais, "Black Soldier Fly" (BSF) doit son nom à la couleur noire des adultes. Elle serait dite "Soldate", car la mouche a tendance à s'aligner en ordre de bataille dans la même direction que ses congénères lorsqu'elle sort en bande (Philip, 2016). La classification taxonomique de l'espèce est présentée à la figure 5. *Hermetia illucens* (L., 1758) est une espèce d'insecte appartenant à la famille des Stratiomyidae et à l'ordre des Diptères. Cet ordre regroupe des insectes possédant une paire d'ailes fonctionnelles sur le mésothorax et une paire d'auréoles, les haltères, sur le métathorax qui contribuent à l'équilibre pendant le vol (Caruso et al., 2014).



**Figure 5** : Position systématique de *Hermetia illucens* dans le règne animal.

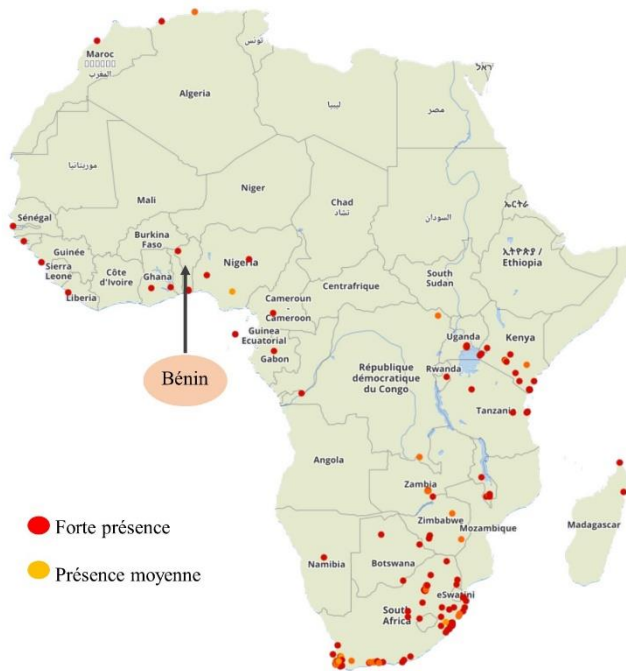
Les espèces de la famille des Stratiomyidae possèdent sur leurs ailes une nervation spécifique formant une cellule discale petite, grande ou moyenne selon les espèces (Figure 6). Les ailes présentent également une cellule cubitale longue et toujours fermée avant le bord de l'aile par la jonction des nervures anale et cubitale (Figure 6). Les pattes sont simples, sans fortes soies ou épines. Les spécimens de *H. illucens* peuvent être reconnus par des caractères morphologiques très distincts. Ils possèdent

des ailes nettement enfumées et des antennes très longues du fait de l'allongement exceptionnel du dernier article du flagellum. Leur abdomen présente sur son deuxième segment une paire de taches translucides. Les spécimens sont de grandes tailles avec des longueurs variant de 12 à 17 mm (Martinez, 1986).



**Figure 6 :** Morphologie de la mouche-soldat noire adulte. Cliché modifié de D. Martiré.

Certains auteurs ont retracé les origines de *H. illucens* par l'identification de cluster génétiques à base de marqueurs microsatellites (Kaya et al., 2021) ou la détection d'haplotypes à partir du gène CO1 (Guilliet et al., 2021). Les haplotypes représentent des combinaisons particulières d'allèles dans une population donnée. Lorsqu'une nouvelle mutation apparaît, elle se produit sur un haplotype chromosomique spécifique (Gabriel et al., 2002). L'association entre chaque allèle mutant et son haplotype ancestral n'est rompue que par mutation et recombinaison dans les générations suivantes. Ainsi, il est possible de suivre chaque allèle mutant dans la population en identifiant (grâce à l'utilisation de marqueurs génétiques) le segment originel particulier sur lequel il est apparu. Selon ces études, l'origine probable de *H. illucens* se trouve en Amérique du Sud dans la mesure où la plus grande diversité génétique enregistrée provient de cette zone. La localisation géographique précise reste encore nébuleuse. L'espèce a ensuite colonisé des régions de l'Amérique du Nord, de l'Europe, de l'Asie, de l'Océanie et de l'Afrique grâce à de multiples introductions, probablement favorisé par le transport maritime (Guilliet et al., 2021). En Afrique, l'espèce est principalement signalée dans le Sud-Est, une partie de l'Ouest dont le Bénin et une partie de l'Est (Figure 7). Par contre, elle n'a pas été rapportée dans l'Afrique centrale et dans l'Afrique du Nord.



**Figure 7 :** Distribution géographique de *Hermetia illucens* en Afrique. Modifié à partir de GBIF.

## 4.2. Ethologie et cycle de développement

Le cycle de développement de *H. illucens* est schématisé à la figure 8. Il est subdivisé en cinq stades nommés œufs, larves, prépuces, pupes et imago. La durée du cycle est déterminée par des facteurs biologiques comme la souche ou la population (sauvage ou domestique) et des facteurs abiotiques comme la température, l'humidité, la luminosité et la quantité ou la qualité de l'aliment (Holmes, 2010; Caruso et al., 2014). Il débute par un accouplement des imagos. Les mâles sont plus petits que les femelles (Tomberlin et al., 2002) et une différence anatomique sur le dernier segment abdominal permet de discriminer les sexes. Les femelles sont munies d'un oviducte rétractile alors que les mâles possèdent un aedeagus et une paire de crochets qui leur permettent de saisir l'organe génital femelle lors de la copulation (Caruso et al., 2014). Dans la nature, les œufs sont pondus dans des crevasses constituées par divers matériaux tels que des cartons, des pierres, des plastiques, des débris végétaux qui sont situées à proximité de sources de nourritures. Les femelles pondent en moyenne entre 320 et 620 œufs et meurent peu après (Tomberlin, Sheppard, et al., 2002). L'accouplement et l'oviposition s'opèrent en fonction du moment de la journée, de l'intensité de la lumière, de la température et de l'humidité relative (Tomberlin, 2016). Les températures optimales se situent entre 26 et 27°C (Booth et al., 1984; Sheppard et al., 1994; Tomberlin et al., 2009) et l'humidité relative optimale entre 60 et 70% (Tomberlin & Sheppard, 2002; Holmes et al., 2012a). Les larves issues des œufs éclos

après environ 3 à 4 jours d'incubation se nourrissent de la matière organique humide disponible pour amorcer leur développement. Le développement larvaire comprend 5 stades. Le passage d'un stade à un autre est marqué par une mue, ce qui suggère un total de 5 ecdysis (Kim et al., 2010). Des différenciations morphologiques comme l'augmentation de la largeur de la capsule céphalique et du poids corporel caractérisent chaque stade. La durée du stade larvaire varie en fonction de la disponibilité et de la qualité de la nourriture et peut atteindre 12 à 15 jours (Kim et al., 2010). D'autres auteurs ont atteint une moyenne de  $24,6 \pm 6,2$  jours de développement (Barragan-Fonseca et al., 2017). Les larves du stade 5 subissent progressivement un changement de couleur du beige au brun foncé ; ce sont les prépupes. Elles cessent de se nourrir et migrent du substrat humide pour un environnement sec (Diener et al., 2011). Les prépupes hors du substrat se durcissent progressivement et deviennent immobiles. Elles sont appelées "pupes" et leur cuticule rigide forme une enveloppe sombre. Une fois la métamorphose achevée, les adultes émergent environ une semaine après et l'accouplement survient 2 jours environ après l'émergence. Le cycle de développement reprend ainsi.

A l'instar des prépupes, les imagos ne se nourrissent guère, mais vivent des réserves énergétiques accumulées au cours de la phase larvaire (Newton et al., 2005).



Figure 8 : Cycle de développement de la mouche-soldat noire.

### **4.3. Alimentation et valeur nutritionnelle**

#### **4.3.1. Régime alimentaire**

Les larves de la mouche-soldat noire sont des polyphages voraces qui se développent sur un large éventail de matières organiques en décomposition composées de fruits et légumes, de résidus de cuisine, de restes d'animaux ou de déjections animales (Newton et al., 2005; van Huis et al., 2017). Bien qu'elles aient un régime alimentaire diversifié, les larves de la mouche-soldat noire ont une préférence pour les ressources alimentaires végétales (Caruso et al., 2014; Scala et al., 2020). Le caractère humide des substrats de développement favorise l'ingestion alimentaire et réduit fortement la déshydratation des larves (Caruso et al., 2014). L'activité alimentaire induit généralement une réduction du volume des substrats de l'ordre de 42 à 68 % (Diener et al., 2009, 2011) et une augmentation du pH des substrats qui vire de l'acide à l'alcalin (Bloukounon-Goubalan et al., 2020). L'augmentation du pH serait due à l'accumulation de composés azotés produits par les larves (Caruso et al., 2014). Ainsi, le milieu neutre ou alcalin à la fin du développement larvaire refléterait une importante production d'ions hydroxyle (OH<sup>-</sup>) par ammonification et minéralisation des composés azotés organiques (Bloukounon-Goubalan et al., 2020).

#### **4.3.2. Composition proximale**

Les teneurs en protéines et lipides des prépuces de la mouche-soldat noire varient en fonction de la composition nutritionnelle de leur régime alimentaire. Les taux de protéines de prépuces élevées sur des résidus végétaux et de cuisine étaient respectivement de 39,9% et 43,1% (Spranghers et al., 2017). Des valeurs plus faibles (31,1%) ont été obtenus chez des prépuces nourries avec des pommes (Scala et al., 2020) alors que des taux de protéines plus élevés (63%) ont été enregistrés chez des prépuces nourries avec des foies de porc (Nguyen et al., 2015). En fonction de ces substrats, les compositions en lipides totaux des insectes ont varié de 7 à 39%. Les teneurs en matière sèche (MS) des prépuces dépendent également du régime alimentaire. Les niveaux de MS peuvent varier de 28% pour des prépuces élevés sur des fruits et légumes à 47% pour des prépuces nourries avec des déchets de poisson (Nguyen et al., 2015; Oonincx et al., 2015; Spranghers et al., 2017).

Les variations de compositions nutritionnelles peuvent exister entre les différents stades de développement de la mouche-soldat noire. La teneur en protéines des larves de 1 jour nourries avec de la provende de poulet était de 56% et a chuté progressivement jusqu'à 38% au 12<sup>e</sup> jour (Liu, Chen, et al., 2017). Une augmentation graduelle puis une stabilisation du taux de protéines ont été observées dans les phases ultérieures de développement à partir du stade prépupe. Au niveau des taux de matières grasses, les larves effectuent une accumulation du 1<sup>er</sup> jour (4,8%) au 14<sup>e</sup> jour (28,4%) puis les proportions baissent drastiquement dans les pupes (7,2%). Les teneurs en lipides remontent (30%) ensuite dans les imagos (Liu, Chen, et al., 2017).

### 4.3.3. Composition en acides gras

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides. Ce sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe de 4 à 28 atomes de carbone (Cuvelier et al., 2004; Geay, 2011). Les acides gras à longues chaînes possèdent 4 à 22 atomes de carbones et les très longues chaînes plus de 22. La nomenclature chimique des acides gras s'écrit :

C : Xn-y où C représente le nombre d'atomes de carbone, X le nombre de doubles liaisons ou d'insaturations et n-y la position du premier carbone portant la première insaturation en partant du CH<sub>3</sub> terminal. Les acides gras sont subdivisés en acides gras saturés (AGS) et insaturés (AGI). Les AGS ne possèdent pas de double liaison au niveau de la chaîne aliphatique alors que les AGI présentent une ou plusieurs doubles liaisons. Les AGI sont subdivisés à leur tour en acides gras monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI). Les AGMI ne possèdent qu'une seule double liaison à l'instar de l'acide oléique (C18:1n-9) et les AGPI possèdent au moins deux doubles liaisons comme l'acide linoléique (LA, C18:2n-6) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA, C18:3n-3).

Les acides gras sont des composés très importants dans les processus biologiques de la plupart des organismes. Ils jouent un rôle déterminant dans le stockage de l'énergie métabolique, la structure des cellules et des biomembranes ainsi que la physiologie régulatrice (Stanley-Samuelson et al., 1988; Maier et al., 2010).

La mouche-soldat noire est caractérisée par des niveaux élevés d'acides gras saturés comme l'acide laurique, C12:0 ; l'acide myristique, C14:0 et l'acide palmitique, C16:0 (Oonincx et al., 2015, 2020; Giannetto et al., 2020; Hoc et al., 2020; Truzzi et al., 2020; Zarantoniello et al., 2020). Les acides gras les plus importants après ceux précédemment cités sont l'acide palmitoléique, C16:1n-9 et l'acide oléique, C18:1n-9 qui sont des AGMI. Les acides gras présents généralement en plus faibles proportions sont principalement les AGPI comme LA et ALA ou les AGPI-LC comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (C22:6n-3).

La biosynthèse des acides gras chez la mouche-soldat noire n'est pas encore bien connue, cependant, le profil en acides gras des larves et prépuces dépend en partie de leur régime alimentaire. Ainsi, lorsque les régimes alimentaires sont supplémentés en LA, ALA ou EPA, ces AGPI sont bioaccumulés par les larves ou prépuces (St-Hilaire, Cranfill, et al., 2007a; Liland et al., 2017; Ewald et al., 2020; Truzzi et al., 2020). Par contre certains acides gras comme la série de C12:0 à C18:0 sont synthétisés en majorité *de Novo* par l'insecte en mettant en jeu un processus complexe de réactions enzymatiques (Hoc et al., 2020).

#### 4.4. La mouche-soldat noire dans l'alimentation des poissons

Les effets de l'inclusion de la farine de la mouche-soldat noire dans le régime alimentaire sur les performances de croissance et les valeurs nutritionnelles ont été étudiés chez plusieurs espèces de poisson au cours de la dernière décennie. Des tests de nutrition ont été réalisés sur la truite arc en ciel, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (St-Hilaire, Sheppard, et al., 2007a; Sealey et al., 2011b; Borgogno et al., 2017; Renna et al., 2017a; Mancini et al., 2018; Cardinaletti et al., 2019a; Hoc et al., 2021); le saumon atlantique, *Salmo salar* Linnaeus, 1758 (Lock et al., 2016; Belghit et al., 2019a; Bruni et al., 2020; Fisher et al., 2020; Weththasinghe et al., 2021); le bar européen, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Magalhães et al., 2017; Abdel-Tawwab et al., 2020; Reyes et al., 2020); l'esturgeon sibérien, *Acipenser baerii* Brandt, 1869 (Józefiak, Nogales-Mérida, Rawski, et al., 2019; Caimi et al., 2020); la carpe commune, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Li et al., 2017a; Zhou et al., 2018; Xu et al., 2020); le poisson-chat africain, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Adeoye. et al., 2020; Fawole et al., 2020) ou le tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Devic et al., 2018b; Tippayadara et al., 2021). Les régimes témoins de ces études contenaient 100% de farine de poisson. La plupart des études ont réalisé des substitutions partielles de la farine de poisson par la farine de prépuces de mouche-soldat noire et les espèces de poisson réagissaient différemment à cette inclusion. Pour l'instant, aucun niveau d'inclusion n'a induit de meilleures performances de croissance que les poissons nourris avec des régimes témoins à base de farine de poisson (Henry et al., 2015). De plus, les tendances globales montraient que la croissance des poissons semble décliner avec des niveaux d'inclusion excédant 29 % (Hua, 2021). Certains auteurs ont montré que chez les salmonidés, il était possible d'inclure 60% de farine de de la mouche-soldat noire sans compromettre les performances de croissance et l'ingestion alimentaire (Weththasinghe et al., 2022). Dans certaines études, les farines d'insecte ont été dégraissées afin d'augmenter les teneurs en protéines et de diminuer les concentrations d'AGS (Renna et al., 2017a; Caimi et al., 2021). Ce traitement n'a pas induit une différence de croissance entre les salmonidés nourris aux aliments à base de farines dégraissées ou non.

L'exosquelette des prépuces de la mouche-soldat noire contient des proportions importantes de chitine qui est un polymère de glucosamine (Barroso et al., 2014). Ce composé généralement considéré comme antinutritionnel a eu pour effet d'affaiblir la digestibilité des protéines et la conversion alimentaire chez la plupart des espèces de poisson (Hua, 2021; Weththasinghe et al., 2022).

Les effets de l'alimentation à base de la mouche-soldat noire sur la physiologie, la santé et la qualité du poisson ont également été évalués dans plusieurs études. La morphologie des intestins est l'un des principaux indicateurs de la santé des poissons en réponse à une modification du régime alimentaire. L'altération de la structure intestinale peu influencer l'absorption des nutriments et par conséquent le bien-être et la croissance du poisson (Zhang et al., 2013; Voorhees et al., 2019). Chez le saumon atlantique, une substitution totale ou partielle (40%) de la farine de poisson par la farine de mouche-soldat noire dégraissée ou non n'a pas eu d'effets négatifs sur la morphologie de l'intestin (Lock et al., 2016). Au contraire, certains auteurs ont relevé

des effets bénéfiques sur l'intestin, notamment la réduction de la vacuolisation des entérocytes relevée chez les poissons nourris avec des régimes contenant des niveaux élevés de farine de soja (Li et al., 2019). De même, chez la truite arc-en-ciel, une substitution de 50% de la farine de poisson par la farine de mouche-soldat noire partiellement dégraissée n'a pas affecté la morphologie du tube digestif (Renna et al., 2017). En revanche, certains auteurs ont noté une légère diminution de la hauteur des villosités dans l'intestin des truites nourris avec des régimes contenant de la farine de mouche-soldat noire (50% de substitution) non dégraissée (Józefiak et al., 2019a). Selon les analyses de (Zarantonello et al., 2021), les réponses des poissons à l'inclusion de la farine de mouche-soldat noire dans leur alimentation dépend de l'espèce, du stade de développement et de la forme dégraissée ou complète de la farine de mouche.

Plusieurs études ont démontrés les effets positifs de l'utilisation de la farine de mouche-soldat noire sur la diversité du microbiote intestinal des poissons (Huyben et al., 2019; Józefiak et al., 2019a,b; Rimoldi et al., 2019; Li et al., 2021). En effet, il a été mis en évidence, chez la truite arc-en-ciel, une augmentation de la diversité bactérienne intestinale chez les poissons nourris avec des régimes à base de mouche-soldat noire (Bruni et al., 2018; Józefiak, et al., 2019a). Une forte diversité du microbiome constitue en général un indicateur d'une bonne santé intestinale, contrairement à une faible diversité qui est souvent associée à la présence d'agents pathogènes dans le tractus digestif (Apper et al., 2016). La croissance des communautés microbiennes observée a été justifiée par la présence de la chitine dans la mouche-soldat noire qui est utilisée par les bactéries comme une substance prébiotique (Beier et al., 2013).

Une évaluation sensorielle des filets de la truite arc-en-ciel nourrie à partir d'aliments contenant de la farine de mouche-soldat noire (25 et 50% de substitution) en comparaison aux témoins contenant uniquement de la farine de poisson a été réalisée par 30 panélistes non formés (Sealey et al., 2011). Les résultats ont montré que les évaluateurs étaient incapables de faire la différence entre les différents types de filets. Les caractéristiques sensorielles (odeur, couleur, texture, goût) de la même espèce ont été évaluées par d'autres panélistes non formés (Stadtlander et al., 2017) et des panélistes confirmés pour le saumon de l'atlantique (Belghit et al., 2019). La seule variation détectée dans ces études était une différence de couleur entre les filets, même si Stadtlander et al. (2017) ont relevé une chair plus foncée dans les filets de truites, tandis que les saumons nourris avec 66 % de farine d'insecte avaient des filets significativement moins colorés que ceux du groupe nourri avec le régime témoin.

#### ***4.5. Autres champs d'utilisation de la mouche-soldat noire***

En-dehors du secteur animal où elle a été testée sur les poissons, les porcs et les volailles, la mouche-soldat noire trouve son utilité dans d'autres domaines où les défis sont aussi vivaces. Elle intervient principalement dans le traitement et dans la gestion des rejets organiques industriels, mais également dans le compostage et la fertilisation en agriculture biologique. Les larves de la mouche-soldat noire se développent aisément sur les déjections animales (fumiers, lisiers, fientes, etc.) en absorbant les matières nutritives. Une diminution significative de la teneur en matière organique a

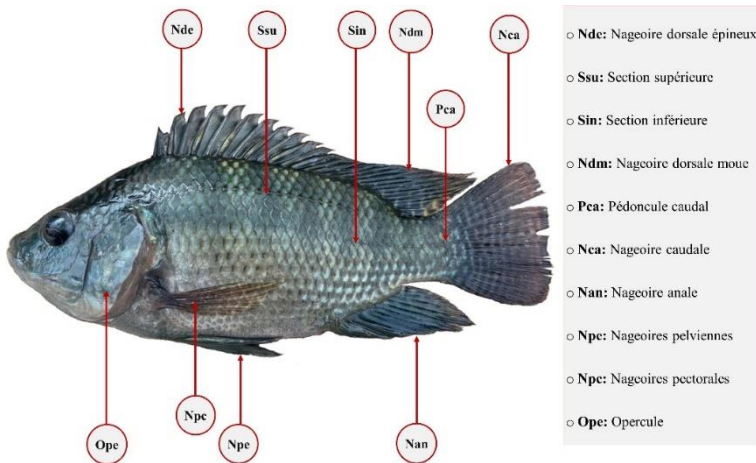


été observée dans le résidu final d'une mixture de fumier de porc et de fèces humains décomposée par les larves de la mouche-soldat noire (Lalander et al., 2015). Ce processus mécanique d'alimentation favorise l'aération du substrat et améliore la texture grâce à une action combinée avec la microflore existante (Čičková et al., 2015). Lors de la biodégradation, la température des substrats augmente progressivement et la matière s'assèche, le pH augmente en passant de neutre à alcalin et le dégagement d'ammoniac augmente considérablement. A la fin de la dégradation, les substrats présentent généralement des teneurs élevées en azote (N), phosphore (P) et Potassium (K). Les valeurs moyennes enregistrées dans les études étaient de 3,4%, 2,9% et 3,5% respectivement pour N, P et K (Gärtling et al., 2019). Ces substrats résiduels riches en N, P et K et chitine constituent d'excellents engrais organiques en agriculture (Debode et al., 2016; Quilliam et al., 2020b).

## 5. Présentation du tilapia du Nil

### 5.1. Systématique, morphologie et distribution géographique

Le tilapia du Nil, *O. niloticus* (Figure 9) est une espèce appartenant à la famille des Cichlidae et à l'ordre des Perciformes. Les poissons de cette famille possèdent une seule paire de narines ; le corps présente sur le flanc une ligne latérale divisée en une section supérieure longue et une section inférieure courte qui s'étend sur le pédoncule caudal. Les nageoires pelviennes ou ventrales sont situées en dessous des nageoires pectorales. Le corps de *O. niloticus* est comprimé et recouvert d'écailles cycloïdes. La coloration générale est grisâtre avec un ventre blanchâtre. Il existe 6 à 7 bandes noires transversales peu apparentes sur les flancs. Cette espèce est facilement reconnaissable grâce aux bandes verticales régulières disposées sur la nageoire caudale. Les rayons mous des nageoires dorsales et anales présentent des rayures visibles.



**Figure 9 :** Un spécimen du tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*.

Le tilapia du Nil est une espèce d'eau douce mondialement distribuée et a même été rapporté comme envahissante dans 79 pays et îles (GBIF, 2022). En Afrique de l'Ouest, sa distribution naturelle couvre les bassins du Sénégal, de la Gambie, de la Volta, du Niger, de la Bénoué et du Tchad, avec des spécimens introduits signalés dans divers bassins côtiers (Teugels et al., 2003). Au Bénin, l'espèce a été introduite en 1979 par le biais d'un centre piscicole installé à Godomey dans la ville de d'Abomey-Calavi (Lederoun, 2015). Les spécimens provenaient d'une station basée à Bouaké en Côte d'Ivoire. De multiples introductions ont ensuite été effectuées au fil des années, entraînant ainsi une diversité des souches dans les écosystèmes continentaux du Bénin.

## **5.2. Alimentation et besoins nutritionnels**

En milieu naturel, le tilapia du Nil fait partie des consommateurs primaires à dominance phytoplanctonivore (Lévêque et al., 2006). Ce sont des filtreurs qui ingèrent le plancton en filtrant de grands volumes d'eau et qui collectent la nourriture au moyen des branchies (NRC, 2011). En-dehors du phytoplancton, ils se nourrissent également de zooplanctons, d'insectes, de nématodes et de détritus (Temesgen et al., 2022; Wagaw et al., 2022). L'espèce *O. niloticus* est ainsi souvent considérée comme un omnivore à tendance herbivore.

La couverture des besoins nutritionnels en protéines et AAE, lipides et AG essentiels, minéraux et vitamines chez *O. niloticus* est déterminante en alimentation. Les besoins nutritionnels des poissons (exprimés ici en pourcentage de matière sèche de l'aliment) dépendent de plusieurs facteurs tels que l'espèce, le stade physiologique ou les facteurs environnementaux.

Les besoins en protéines alimentaires recommandés pour *O. niloticus* suivant le stade de développement sont de 40% pour des poissons de poids inférieurs à 20g ; 34% pour des poissons de poids entre 20-200g ; 30% pour des poissons de poids entre 200-600g ; 28% pour des poissons de poids entre 600-1500g et 26% pour des poissons de poids supérieurs à 1500g (NRC, 2011). En ce qui concerne les acides aminés, 10 d'entre eux ne peuvent être synthétisés par *O. niloticus* et sont donc essentiels. Il s'agit de l'Arginine (1,2%), de l'Histidine (1%), de l'Isoleucine (1%), de la Leucine (1,9%), de la Lysine (1,4%), de la Méthionine (0,8-1,1%), de la Phénylalanine (1,1%), de la Thréonine (1,1%), de la Tryptophane (0,28%) et de la Valine (1,6%).

Les lipides constituent la source d'énergie la plus efficace pour les différents stades de développement du poisson. Les teneurs en lipides des aliments doivent être correctement ajustées dans la mesure où des carences ou excès peuvent affecter la croissance ou produire des poissons trop gras. Les niveaux d'inclusion recommandés chez *O. niloticus* se situent entre 5 et 10% (NRC, 1994; Ng et al., 2013). Le tilapia du Nil n'est pas en mesure de biosynthétiser les AG essentiels LA et ALA, ils doivent être apportés par l'alimentation dans les proportions requises (0,5% pour LA). Une fois ingérés, LA et ALA peuvent être simultanément bioconvertis en AGPI-LC des voies n-6 comme l'acide arachidonique (ARA, C20:4n-6) et des voies n-3 comme EPA et DHA. Cette biosynthèse met en jeu des réactions enzymatiques impliquant des élongases et désaturases.

## 6. Questions de recherche

Il a été précédemment démontré que le secteur piscicole au Bénin connaît de fortes contraintes qui réfrènent l'atteinte des objectifs de production nationale. Le défi de la production locale d'un aliment performant et compétitif pour soutenir les pisciculteurs reste une préoccupation majeure. Il a également été montré que la mouche-soldat noire pourrait devenir la source de protéines principale dans cet aliment afin de réduire l'utilisation de la farine de poisson voire de l'éliminer. Ainsi, ce projet de recherche a été conçu afin de répondre aux questions suivantes :

- (1) Le Bénin, dispose-t-il de suffisamment de ressources locales de faibles valeurs ajoutées pouvant permettre une production de masse de la mouche-soldat noire de façon pérenne ?
- (2) Peut-on développer aisément au Bénin des élevages productifs de la mouche-soldat noire en accord avec les conditions locales ?
- (3) Peut-on produire à partir des ressources locales, des farines de mouche-soldat noire nutritionnellement compétitives avec la farine de poisson ?
- (4) Quel effet peut avoir l'inclusion de la farine de mouche-soldat noire, dans l'alimentation, sur les performances de croissance et la qualité nutritionnelle du tilapia du Nil ?

## 7. Références

Abdel-Tawwab M., Khalil R.H., Metwally A.A., Shakweer M.S., Khallaf M.A. & Abdel-Latif H.M., 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 522, 735136.

Adeoye. A.A., Akegbejo Samsons Y., Fawole F.J. & Davies S.J., 2020. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *J. World Aquac. Soc.* 51(4), 1024–1033.

Adéyèmi A.D., Kayodé A.P.P., Chabi I.B., Odouaro O.B.O., Nout M.J.R. & Linnemann A.R., 2020. Screening local feed ingredients of Benin, West Africa, for fish feed formulation. *Aquac. Reports* 17(January), 100386.

Aizonou R., 2022. Optimisation de la production piscicole en cages dans les écosystèmes aquatiques du Sud-Bénin : cas du Complexe lagunaire Toho-Todougba. Thèse de Doctorat, Université Nationale d'Agriculture, Bénin, 167 p

Alfiko Y., Xie D., Astuti R.T., Wong J. & Wang L., 2022. Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. *Aquac. Fish.* 7(2), 166–178.

Apper E., Weissman D., Respondek F., Guyonvarch A., Baron F., Boisot P., Rodiles A. & Merrifield D.L., 2016. Hydrolysed wheat gluten as part of a diet based on animal and plant proteins supports good growth performance of Asian seabass (*Lates calcarifer*), without impairing intestinal morphology or microbiota. *Aquaculture* 453, 40–48.

Arnold van Huis, Joost Van Itterbeeck, Harmke Klunder, Esther Mertens, Afton Halloran, Giulia Muir P.V., 2013. *Edible insects. Future prospects for food and feed security*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1–201.

Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.; van Loon J.J.A., 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review. *J. Insects as Food Feed* 3(2), 105–120.

Barroso F.G., Haro C. De, Sánchez-muros M., Venegas E., Martínez-sánchez A. & Pérez-bañón C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201.

Barroso F.G., Sánchez-Muros M.J., Segura M., Morote E., Torres A., Ramos R. & Guil J.L., 2017. Insects as food: Enrichment of larvae of *Hermetia illucens* with omega 3 fatty acids by means of dietary modifications. *J. Food Compos. Anal.* 62, 8–13.

BBIA, 2017. Projet de vulgarisation de l'aquaculture continentale en république du Bénin (provac-2). Rapport d'activité, 260p.

Beier S. & Bertilsson S., 2013. Bacterial chitin degradation—mechanisms and ecophysiological strategies. *Front. Microbiol.*, 1–12.

Belghit I., Liland N.S., Gjesdal P., Biancarosa I., Menchetti E., Li Y., Waagbø R., Krogdahl Å. & Lock E.-J., 2019a. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 609–619.

Biasato I., Gasco L., De Marco M., Renna M., Rotolo L., Dabbou S., Capucchio M.T., Biasibetti E., Tarantola M., Sterpone L., Cavallarini L., Gai F., Pozzo L., Bergagna S., Dezzutto D., Zoccarato I. & Schiavone A., 2018. Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) inclusion in diets for male broiler chickens: effects on growth performance, gut morphology, and histological findings. *Poult. Sci.* 97(2), 540–548.

Bloukounon-Goubalan A.Y., Saïdou A., Chrysostome C.A.A.M., Kenis M., Amadji G.L., Igué A.M. & Mensah G.A., 2020. Physical and Chemical Properties of the Agro-processing By-products Decomposed by Larvae of *Musca domestica* and *Hermetia illucens*. *Waste and Biomass Valorization* 11(6), 2735–2743.

Booth D.C. & Sheppard C., 1984. Oviposition of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): Eggs, Masses, Timing, and Site Characteristics. *Environ. Entomol.* 13(2), 421–423.

Borgogno M., Dinnella C., Iaconisi V., Fusi R., Scarpaleggia C., Schiavone A., Monteleone E., Gasco L. & Parisi G., 2017. Inclusion of *Hermetia illucens* larvae meal on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed: effect on sensory profile according to static and dynamic evaluations. *J. Sci. Food Agric.* 97(10), 3402–3411.

Bruni L., Belghit I., Lock E., Secci G., Taiti C. & Parisi G., 2020. Total replacement of dietary fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae does not impair physical, chemical or volatile composition of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Sci. Food Agric.* 100(3), 1038–1047.

Bruni L., Pastorelli R., Viti C., Gasco L. & Parisi G., 2018. Characterisation of the

intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. *Aquaculture* 487 (July 2017), 56–63.

Bureau D., Harris A., Bevan D., Simmons L., Azevedo P. & Cho C., 2000. Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture* 181(3–4), 281–291.

Bureau D., 2006. Rendered products in shrimp aquaculture feeds, Essential Rendering, All About The Animal By-Products Industry, 179–184.

Caimi C., Biasato I., Chemello G., Oddon S.B., Lussiana C., Malfatto V.M., Capucchio M.T., Colombino E., Schiavone A., Gai F., Trocino A., Brugiapaglia A., Renna M. & Gasco L., 2021. Dietary inclusion of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva meal in low fishmeal-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 1, 1–15.

Caimi C., Renna M., Lussiana C., Bonaldo A., Gariglio M., Meneguz M., Dabbou S., Schiavone A., Gai F., Elia A.C., Prearo M. & Gasco L., 2020. First insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. *Aquaculture* 515, 734539.

Campos I., Matos E., Marques A. & Valente L.M.P., 2017. Hydrolyzed feather meal as a partial fishmeal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 476(March), 152–159.

Caparros Megido R., Alabi T., Larreché S., Alexandra L., Haubruge É. & Francis F., 2015. Risques et valorisation des insectes dans l'alimentation humaine et animale. *Ann. la Société Entomol. Fr.* 51(3), 215–258.

Cardinaletti G., Randazzo B., Messina M., Zarantoniello M., Giorgini E., Zimbelli A., Bruni L., Parisi G., Olivotto I. & Tulli F., 2019. Effects of Graded Dietary Inclusion Level of Full-Fat *Hermetia illucens* Prepupae Meal in Practical Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Anim.* (5), 251–.

Caruso D., Devic E., Subamia I.W., Talamond P. & Baras E., 2014. *Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (BSF)*, IPB Press, Bogor, Indonesia, 141.

Čičková H., Newton G.L., Lacy R.C. & Kozánek M., 2015. The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Manag.* 35, 68–80.

Cortes Ortiz J.A., Ruiz A.T., Morales-Ramos J.A., Thomas M., Rojas M.G., Tomberlin J.K., Yi L., Han R., Giroud L. & Jullien R.L., 2016. *Insect Mass Production Technologies*, Insects as Sustainable Food Ingredients, 153–201.

Craig Sheppard D., Larry Newton G., Thompson S.A. & Savage S., 1994. A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresour. Technol.* 50(3), 275–279.

Cullere M., Tasoniero G., Giaccone V., Miotti-Scapin R., Claeys E., De Smet S. & Dalle Zotte A., 2016. Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: apparent digestibility, excreta microbial load, feed choice, performance, carcass and meat traits. *Anim. (Cambridge, England)* (12), 1923–1930.

Cuvelier C., Cabaraux J., Dufrasne I., Hornick J. & Istasse L., 2004. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Médecine Vétérinaire* 133–140.

Debode J., De Tender C., Soltaninejad S., Van Malderghem C., Haegeman A., Van der Linden I., Cottyn B., Heyndrickx M. & Maes M., 2016. Chitin mixed in potting soil alters lettuce growth, the survival of zoonotic bacteria on the leaves and associated rhizosphere microbiology. *Front. Microbiol.* 7(APR), 1–15.

Devic E., Leschen W., Murray F. & Little D.C., 2018. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia ( *Oreochromis niloticus* ) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquac. Nutr.* 24(1), 416–423.

Diener S., Zurbrugg C., Roa Gutiérrez F., Nguyen H.D., Morel A., Koottatep T. & Tockner K., 2011. Black soldier fly larvae for organic waste treatment - prospects and constraints. In: *WasteSafe 2011 2nd International Conference on Solid Waste Management in Developing Countries 1315 February 2011 Khulna Bangladesh.* 978–984.

Diener S., Zurbrugg C. & Tockner K., 2009. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Manag. Res.* 27(6), 603–610.

Dobermann D., Swift J.A. & Field L.M., 2017. Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutr. Bull.* 42(4), 293–308.

DPH, 2021. Etat des lieux sur sur l'exploitation des eaux continentales en République du Bénin, 34p.

DSID, 2019. Etude de faisabilité du programme national de développement de la filière aquaculture continentale en république du Bénin, Rapport final, 310p.

Espe M., Lemme A., Petri A. & El-Mowafi A., 2006. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture* 255(1–4), 255–262.

Ewald N., Vidakovic A., Langeland M., Kiessling A., Sampels S. & Lalander C., 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manag.* 102, 40–47.

FAO, 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, Italy, ISBN 978-92-5-130692-5

FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, Italy, ISBN 978-92-5-132692-3 224p.

Fawole F.J., Adeoye A.A., Tiamiyu L.O., Ajala K.I., Obadara S.O. & Ganiyu I.O., 2020. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. *Aquaculture* 734849-.

Fisher H., Collins S., Hanson C., Mason B., Colombo S. & Anderson D., 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 734978-.

Francis G., Makkar H.P.S. & Becker K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*

199(3–4), 197–227.

Gabriel S.B., Schaffner S.F., Nguyen H., Moore J.M., Roy J., Blumenstiel B., Higgins J., DeFelice M., Lochner A., Faggart M., Liu-Cordero S.N., Rotimi C., Adeyemo A., Cooper R., Ward R., Lander E.S., Daly M.J. & Altshuler D., 2002. The Structure of Haplotype Blocks in the Human Genome. *Science* (80-. ). 296(5576), 2225–2229.

Gärtling D. & Schulz H., 2019. Compilation of black soldier fly frass analyses. In: *INSECTA 2019 International Conference*. Germany, 126.

Gasco L., Gai F., Maricchiolo G., Genovese L., Ragonese S., Bottari T. & Caruso G., 2018. Fishmeal Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds. Springer, Cham, 1–28.

Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Krogdahl Å., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., J Souza E., Stone D., Wilson R. & Wurtele E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38(6), 551–579.

GBIF, 2022. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). <https://www.gbif.org/fr/species/4285694>, (08/07/2022).

Geay F., 2011. Effets d'une alimentation végétale sur la biosynthèse des acides gras et le métabolisme du bar européen (*Dicentrarchus labrax*).

Giannetto A., Oliva S., Ceccon Lanes C.F., de Araújo Pedron F., Savastano D., Baviera C., Parrino V., Lo Paro G., Spanò N.C., Cappello T., Maisano M., Mauceri A. & Fasulo S., 2020. *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *J. Biotechnol.* 307(October 2019), 44–54.

Guilliet J., Baudouin G., Pollet N. & Filée J., 2021. The natural history of the black soldier fly, *Hermetia illucens*: insights from complete mitochondrial genome sequences. *bioRxiv* 2021.10.21.465311.

Henry M., Gasco L., Piccolo G. & Fountoulaki E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203(1), 1–22.

Hoc B., Genva M., Fauconnier M.-L., Lognay G., Francis F. & Caparros Megido R., 2020. About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Sci. Rep.* 10(1), 11916.

Hoc B., Tomson T., Malumba P., Blecker C., Jijakli M.H., Purcaro G., Francis F. & Caparros Megido R., 2021. Production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae-based formulations with differentiated fatty acid profiles. *Sci. Total Environ.* 794, 148647.

Holmes L., 2010. Role of Abiotic Factors on the Development and Life History of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*(L.)(Diptera: Stratiomyidae). *Masters Abstr. Int.*

Holmes L.A., Vanlaerhoven S.L. & Tomberlin J.K., 2012. Relative Humidity

Effects on the Life History of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Environ. Entomol.* 41(4), 971–978.

Howe E.R., Simenstad C.A., Toft J.D., Cordell J.R. & Bollens S.M., 2014. Macroinvertebrate Prey Availability and Fish Diet Selectivity in Relation to Environmental Variables in Natural and Restoring North San Francisco Bay Tidal Marsh Channels. *San Fr. Estuary Watershed Sci.* 12(1).

Hua K., 2021. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture* 530(July 2020), 735732.

Huyben D., Vidaković A., Werner Hallgren S. & Langeland M., 2019. High-throughput sequencing of gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed larval and pre-pupae stages of black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Aquaculture* 500, 485–491.

Józefiak A., Nogales-Mérida S., Mikołajczak Z., Rawski M., Kierończyk B. & Mazurkiewicz J., 2019a. The Utilization of Full-Fat Insect Meal in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Nutrition: The Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota and Gastrointestinal Tract Histomorphology. *Ann. Anim. Sci.* 19(3), 747–765.

Józefiak A., Nogales-Mérida S., Rawski M., Kierończyk B. & Mazurkiewicz J., 2019. Effects of insect diets on the gastrointestinal tract health and growth performance of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *BMC Vet. Res.* 15(1), 348.

Karapanagiotidis I.T., 2014. The Re-Authorization of Non-Ruminant Processed Animal Proteins in European Aqua feeds. *Fish. Aquac. J.* 05(04), 7–9.

Kaya C., Generalovic T.N., Ståhls G., Hauser M., Samayoa A.C., Nunes-Silva C.G., Roxburgh H., Wohlfahrt J., Ewusie E.A., Kenis M., Hanboonsong Y., Orozco J., Carrejo N., Nakamura S., Gasco L., Rojo S., Tanga C.M., Meier R., Rhode C., Picard C.J., Jiggins C.D., Leiber F., Tomberlin J.K., Hasselmann M., Blanckenhorn W.U., Kapun M. & Sandrock C., 2021. Global population genetic structure and demographic trajectories of the black soldier fly, *Hermetia illucens*. *BMC Biol.* 19(1), 94.

Kim W., Bae S., Park H., Park K., Lee S., Choi Y., Han S. & Koh Y., 2010. The Larval Age and Mouth Morphology of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Int. J. Ind. Entomol.* 21(2), 185–187.

Lalander C.H., Fidjeland J., Diener S., Eriksson S. & Vinnerås B., 2015. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling. *Agron. Sustain. Dev* 261–271.

Lederoun D., 2015. Ichtyofaune du bassin du fleuve mono (Bénin et Togo): diversité, écologie et impacts anthropiques. Thèse de doctorat, Université de Liège, Belgique. 396p.

Lévêque C. & Paugy D., 2006. *Les poissons des eaux continentales africaines: Diversité, écologie, utilisation par l'homme*, 59–74.

Li Q., Zheng L., Cai H., Garza E., Yu Z. & Zhou S., 2011. From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. *Fuel* 90(4), 1545–



1548.

Li S., Ji H., Zhang B., Zhou J. & Yu H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477(April), 62–70.

Li Y., Bruni L., Jaramillo-Torres A., Gajardo K., Kortner T.M. & Krogdahl Å., 2021. Differential response of digesta- and mucosa-associated intestinal microbiota to dietary insect meal during the seawater phase of Atlantic salmon. *Anim. Microbiome* 3(1), 8.

Li Y., Kortner T.M., Chikwati E.M., Munang'andu H.M., Lock E.-J. & Krogdahl Å., 2019. Gut health and vaccination response in pre-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Fish Shellfish Immunol.* 86(September 2018), 1106–1113.

Liland N.S., Biancarosa I., Araujo P., Biemans D., Bruckner C.G., Waagbø R., Torstensen B.E. & Lock E.-J., 2017. Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed-enriched media. *PLoS One* 12(8), e0183188.

Liu X., Chen X., Wang H., Yang Q., ur Rehman K., Li W., Cai M., Li Q., Mazza L., Zhang J., Yu Z. & Zheng L., 2017. Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. *PLoS One* 12(8), e0182601.

Lock E.R., Arsiwalla T. & Waagbø R., 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac. Nutr.* 22(6), 1202–1213.

MAEP, 2013. Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale, Bénin, Rapport d'activité. 30p.

MAEP, 2017. Plan Stratégique de Développement du Secteur Agricole (PSDSA) 2025 et Plan National d' Investissements Agricoles et de Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle PNIASAN 2017 - 2021. Rapport d'activité version finale, 139p.

Magalhães R., Sánchez-López A., Leal R.S., Martínez-Llorens S., Oliva-Teles A. & Peres H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85.

Maier T., Leibundgut M., Boehringer D. & Ban N., 2010. Structure and function of eukaryotic fatty acid synthases. *Q. Rev. Biophys.* 43(3), 373–422.

Mancini S., Medina I., Iaconisi V., Gai F., Basto A. & Parisi G., 2018. Impact of black soldier fly larvae meal on the chemical and nutritional characteristics of rainbow trout filets. *animal* 12(8), 1672–1681.

Martinez M., 1986. Les diptères Stratiomyidae. *Cah. Liaison O.P.I.E.* 20(62), 5–16.

Moutinho S., Martínez-Llorens S., Tomás-Vidal A., Jover-Cerdá M., Oliva-Teles A. & Peres H., 2017. Meat and bone meal as partial replacement for fish meal in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles: Growth, feed efficiency, amino acid utilization, and economic efficiency. *Aquaculture* 468(999), 271–277.

- Moyo S. & Moyo B., 2022. Potential Utilization of Insect Meal as Livestock Feed. *In: Intech*. 13.
- Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldberg R.J., Hua K. & Nichols P.D., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources 106(36).
- Newton L., Sheppard C., Watson W.D., Burtle G. & Dove R., 2005. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. *J. Korean Entomol. Appl. Sci.* 36(12), 17 pp.
- Ng W. & Romano N., 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Rev. Aquac.* 5(4), 220–254.
- Nguyen T.T.X., Tomberlin J.K. & Vanlaerhoven S., 2015. Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste. *Environ. Entomol.* 44(2), 406–410.
- Nogales-Mérida S., Gobbi P., Józefiak D., Mazurkiewicz J., Dudek K., Rawski M., Kierończyk B. & Józefiak A., 2019. Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.* 11(4), 1080–1103.
- NRC, 1994. Nutrient requirements of fish 1993. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 183(2), 299–300.
- NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp, Washington, DC, 376.
- Oliva-Teles A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 35(2), 83–108.
- Oonincx D.G.A., Laurent S., Veenenbos M.E. & van Loon J.J.A., 2020. Dietary enrichment of edible insects with omega 3 fatty acids. *Insect Sci.* 27(3), 500–509.
- Oonincx D.G.A.B., van Broekhoven S., van Huis A. & van Loon J.J.A., 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLoS One* 10(12), e0144601.
- Oonincx D.G.A.B., van Itterbeeck J., Heetkamp M.J.W., van den Brand H., van Loon J.J.A. & van Huis A., 2010. An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *PLoS One* 5(12), e14445.
- Philip B., 2016. En Malaisie , une ferme de mouches pour nourrir l ' aquaculture 11–14.
- PRD, 2016. Optimisation de la filière de production de Tilapia au Bénin par amélioration génétique et Stratégie alimentaire innovante. Document de Projet, 40p.
- PROAGRO, 2021. Formation des gestionnaires d'écloseries et des techniciens spécialisés sur les bonnes pratiques de gestion des géniteurs de poissons (cas du tilapia et du poisson chat). Rapport final, 17p.
- Quilliam R.S., Nuku-Adeku C., Maquart P., Little D., Newton R. & Murray F., 2020. Integrating insect frass biofertilisers into sustainable peri-urban agro-food systems. *J. Insects as Food Feed* 6(3), 315–322.
- Rana K.J., Siriwardena S. & Hasan M.R., 2009. *Impact of rising feed ingredient*

*prices on aquafeeds and aquaculture production*, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 63.

Renna M., Schiavone A., Gai F., Dabbou S., Lussiana C., Malfatto V., Prearo M., Capucchio M.T., Biasato I., Biasibetti E., De Marco M., Brugiapaglia A., Zoccarato I. & Gasco L., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8(1), 57.

Reyes M., Rodríguez M., Montes J., Barroso F.G., Fabrikov D., Morote E. & Sánchez-Muros M.J., 2020. Nutritional and Growth Effect of Insect Meal Inclusion on Seabass (*Dicentrarchus labrax*) Feeds. *Fishes* (2), 16–0.

Rimoldi S., Gini E., Iannini F., Gasco L. & Terova G., 2019. The Effects of Dietary Insect Meal from *Hermetia illucens* Prepupae on Autochthonous Gut Microbiota of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Anim.* (4), 143-.

Rurangwa E., van den Berg J., Laleye P., van Duijn A. & Rothuis A., 2014. Mission exploratoire : Pêche, Pisciculture et Aquaculture au Bénin, un quick scan du secteur pour des possibilités d'interventions, 27.

Sánchez-Muros M.J., Barroso F.G. & Manzano-Agugliaro F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. *J. Clean. Prod.*

Scala A., Cammack J.A., Salvia R., Scieuzo C., Franco A., Bufo S.A., Tomberlin J.K. & Falabella P., 2020. Rearing substrate impacts growth and macronutrient composition of *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) larvae produced at an industrial scale. *Sci. Rep.* 10(1), 19448.

Schabel H., 2010. Forest insects as food: A global review. In: Taylor and Francis group ed. *Resources and Their Potential for Development*. United Kingdom, 37–64.

Sealey W.M., Gaylord T.G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C. & St-Hilaire S., 2011a. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *J. World Aquac. Soc.* 42(1), 34–45.

Sealey W.M., Gaylord T.G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C. & St-Hilaire S., 2011b. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *J. World Aquac. Soc.* 42(1), 34–45.

Spranghers T., Ottoboni M., Klootwijk C., Obyn A., Deboosere S., De Meulenaer B., Michiels J., Eeckhout M., De Clercq P. & De Smet S., 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J. Sci. Food Agric.* (8), 2594–2600.

St-Hilaire S., Cranfill K., McGuire M.A., Mosley E.E., Tomberlin J.K., Newton L., Sealey W., Sheppard C. & Irving S., 2007. Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *J. World Aquac. Soc.* 38(2), 309–313.

St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R.W. & Sealey W., 2007. Fly Prepupae as a Feedstuff for

Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* 38(1), 59–67.

Stadtlander T., Stamer A., Buser A., Wohlfahrt J., Leiber F. & Sandrock C., 2017. *Hermetia illucens* meal as fish meal replacement for rainbow trout on farm. *J. Insects as Food Feed* 3(3), 165–175.

Stanley-Samuels D.W., Jurenka R.A., Cripps C., Blomquist G.J. & de Renobales M., 1988. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 9(1), 1–33.

Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M. & De Haan C. p. R.F., 2006. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*, Romé, 416.

Tacon A.G.J. & Metian M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285(1–4), 146–158.

Temesgen M., Getahun A., Lemma B. & Janssens G.P.J., 2022. Food and Feeding Biology of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Lake Langeno, Ethiopia. *Sustainability* 14(2), 974.

Teugels G.G. & Thys van den Audenaerde D.F.E., 2003. Cichlidae. In: *The Fresh and Brackish Water Fishes of West Africa*. Paris, 521–600.

Tipayadara N., Dawood M.A.O., Krutmuang P., Hoseinifar S.H., Doan H. Van & Paolucci M., 2021. Replacement of Fish Meal by Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal: Effects on Growth, Haematology, and Skin Mucus Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Anim.* 11(1), 193.

Tomberlin J.K., 2016. *Hermetia illucens*. In: *Encyclopedia of Parasitology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1245–1245.

Tomberlin J.K., Adler P.H. & Myers H.M., 2009. Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature. *Environ. Entomol.* 38(Hogsette 1992), 930–934.

Tomberlin J.K., Sheppard D.C. & Joyce J.A., 2002. Selected Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) Reared on Three Artificial Diets. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95(3), 379–386.

Tomberlin K.J. & Sheppard C.D., 2002. Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *J. Entomol. Sci.* 37(4), 345–352.

Truzzi C., Giorgini E., Annibaldi A., Antonucci M., Illuminati S., Scarponi G., Riolo P., Isidoro N., Conti C., Zarantonello M., Cipriani R. & Olivotto I., 2020. Fatty acids profile of black soldier fly (*Hermetia illucens*): Influence of feeding substrate based on coffee-waste silverskin enriched with microalgae. *Anim. Feed Sci. Technol.* 259(October 2019), 114309.

Turchini G.M., Torstensen B.E. & Ng W., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquac.* 1(1), 10–57.

van Huis A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.* 58(1), 563–583.

van Huis A., Oonincx D.G.A., Rojo S. & Tomberlin J., 2020. Insects as feed: house

fly or black soldier fly? *J. Insects as Food Feed* 6(3), 221–229.

van Huis A. & Tomberlin J.K., 2017. *Insects as food and feed: from production to consumption*. van Huis, A., Tomberlin, J.K. eds., Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 448.

Voorhees J.M., Barnes M.E., Chipps S.R. & Brown M.L., 2019. Bioprocessed soybean meal replacement of fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Cogent Food Agric.* 5(1), 1579482.

Wagaw S., Mengistou S. & Getahun A., 2022. Diet composition and feeding habits of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in Lake Shala, Ethiopia. *Fish. Aquat. Sci.* 25(1), 20–30.

Weththasinghe P., Hansen J., Nøklund D., Lagos L., Rawski M. & Øverland M., 2021. Full-fat black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) meal and paste in extruded diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect on physical pellet quality, nutrient digestibility, nutrient utilization and growth performances. *Aquaculture* 530, 735785.

Weththasinghe P., Hansen J.Ø., Mydland L.T. & Øverland M., 2022. A systematic meta-analysis based review on black soldier fly (*Hermetia illucens*) as a novel protein source for salmonids. *Rev. Aquac.* 14(2), 938–956.

Whitley S.N. & Bollens S.M., 2014. Fish assemblages across a vegetation gradient in a restoring tidal freshwater wetland: diets and potential for resource competition. *Environ. Biol. Fishes* 97(6), 659–674.

Xu X., Ji H., Yu H. & Zhou J., 2020. Influence of dietary black soldier fly (*Hermetia illucens* L. 1758) pulp on growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquac. Nutr.* (2), 432–443.

Yang S., Li Q., Zeng Q., Zhang J., Yu Z. & Liu Z., 2012. Conversion of Solid Organic Wastes into Oil via *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) Larvae and Optimization of Parameters for Biodiesel Production. *PLoS One* 7(9), e45940.

Yang S. & Liu Z., 2014. Pilot-scale biodegradation of swine manure via *Chrysomya megacephala* (Fabricius) for biodiesel production. *Appl. Energy* 113, 385–391.

Zarantoniello M., Randazzo B., Secci G., Notarstefano V., Giorgini E., Lock E.J., Parisi G. & Olivotto I., 2021. Application of laboratory methods for understanding fish responses to black soldier fly (*Hermetia illucens*) based diets. *J. Insects as Food Feed* 1–24.

Zarantoniello M., Zimbelli A., Randazzo B., Compagni M.D., Truzzi C., Antonucci M., Riolo P., Loreto N., Osimani A., Milanović V., Giorgini E., Cardinaletti G., Tulli F., Cipriani R., Gioacchini G. & Olivotto I., 2020. Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) reared on roasted coffee by-product and *Schizochytrium* sp. as a sustainable terrestrial ingredient for aquafeeds production. *Aquaculture* 518, 734659.

Zhang J.-X., Guo L.-Y., Feng L., Jiang W.-D., Kuang S.-Y., Liu Y., Hu K., Jiang J., Li S.-H., Tang L. & Zhou X.-Q., 2013. Soybean  $\beta$ -Conglycinin Induces Inflammation and Oxidation and Causes Dysfunction of Intestinal Digestion and Absorption in Fish. *PLoS One* 8 (3), e58115.

Zhou J.S., Liu S.S., Ji H. & Yu H.B., 2018. Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var . Jian). *Aquac. Nutr.* 24(1), 424–433.



# 2

---

## **Objectifs et Structure de la thèse**





## 1. Objectifs de recherche

L'objectif global de cette recherche est d'optimiser la production de *H. illucens* sur la base de coproduits agricoles afin de substituer efficacement la farine et l'huile de poisson dans l'aliment du tilapia *O. niloticus*.

L'étude se concentre sur quatre objectifs spécifiques :

- (1) Inventorier les coproduits agricoles locaux potentiellement utilisables pour l'élevage de la mouche-soldat noire au Bénin.
- (2) Développer une méthode d'élevage de la mouche-soldat noire en relation avec l'environnement local.
- (3) Optimiser la qualité lipidique des prépuces de mouche-soldat noire notamment en acides gras essentiels pour le tilapia du Nil.
- (4) Evaluer les performances de croissance et la qualité nutritionnelle du tilapia du Nil en réponse à l'incorporation de la farine de mouche-soldat noire dans son alimentation.

Cette thèse constitue l'un des volets d'un vaste programme de développement du secteur piscicole intitulé « Optimisation de la filière de production du tilapia au Bénin par amélioration génétique et stratégie alimentaire innovante » (OpTil-Bénin). Ce programme, financé par l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES) a été conçu et conduit de concert par les universités d'Abomey-Calavi (UAC, Bénin), de Liège (ULiège, Belgique) et de Namur (UNamur, Belgique). Les unités ou laboratoires impliqués étaient le Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture (LHA, UAC), l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Évolutive (Gembloux Ago-Bio Tech, ULiège), l'Unité de Recherche en Biologie Environnementale et Évolutive (URBE, UNamur) et l'Unité de Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture (ULiège). En dehors de la présente recherche, deux autres thèses de doctorat ont été réalisées dans le cadre de ce programme.

La première, intitulée « Caractérisation génétique, performances zootechniques et étude des mécanismes de la thermosensibilité du déterminisme environnemental du sexe des populations béninoises de Tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus* » visait à identifier une souche locale béninoise de *O. niloticus* présentant de bonnes performances de croissance et de reproduction ainsi qu'une thermosensibilité sexuelle suffisante pour pratiquer le monosexage mâle suivant une méthode plus respectueuse de l'environnement.

La seconde, intitulée « Les farines de larves de mouches enrichies en acides gras essentiels comme ingrédients alimentaires pour le tilapia du Nil, *oreochromis niloticus* » avait pour objectif de mettre au point des stratégies alimentaires permettant de remplacer efficacement la farine et l'huile de poisson dans le régime alimentaire de *O. niloticus* par des farines de larves de mouches, nutritionnellement enrichies en AGPI et AGPI-LC.

## 2. Structure de la thèse

Cette thèse comprend une introduction générale, quatre chapitres de résultats sous forme d'articles, une discussion générale avec des perspectives et une conclusion.

Le **chapitre 1** est introductif. Il présente le contexte actuel du secteur piscicole au Bénin en mettant en exergue les défis auxquels il est confronté. Il fournit les informations générales sur les ressources alternatives à la farine et à l'huile de poisson. Il démontre l'intérêt du choix de la mouche-soldat noire comme un substitut d'avenir et pose les questions pertinentes à la résolution de cette problématique.

Le **chapitre 2** définit les objectifs de la présente recherche et décrit l'ossature du document de thèse.

Le **chapitre 3** présente un inventaire de coproduits agricoles susceptibles d'être utilisés, isolément ou en combinaison, comme des substrats d'élevage de la mouche-soldat noire. Un premier test d'élevage a été réalisé à partir de l'association de certains des coproduits identifiés.

Le **chapitre 4** présente une méthode complète d'élevage de la mouche-soldat noire dans le contexte béninois. Dans ce chapitre, l'aptitude des larves et pré-pupes de la mouche-soldat noire à accumuler les AGPI (LA, ALA, EPA, DHA) à partir de substrats enrichis a été évaluée.

Le **chapitre 5** est une synthèse de deux articles publiés en co-auteurs. Il traite de l'effet de la substitution totale de la farine de poisson par la farine de la mouche-soldat noire enrichie sur les performances de croissance du tilapia du Nil de même que la qualité nutritionnelle de la chair du poisson. La production des insectes ainsi que l'enrichissement des larves à partir de coproduits agricoles ont été réalisés dans le cadre de la présente recherche, tandis que les effets des farines produites ont été évalués sur les performances de croissance, l'efficacité alimentaire, la qualité nutritionnelle et le statut immunitaire des poissons dans la seconde thèse du programme OpTil-Bénin. Afin d'être cohérent avec les objectifs de ce travail, les résultats relatifs aux performances de croissance, à l'utilisation alimentaire et à la qualité nutritionnelle des poissons ont été synthétisés dans ce chapitre.

Le **chapitre 6** essaie de répondre à la question de la viabilité de la farine de la mouche-soldat noire comme substitut à long-terme. Une analyse quantitative des études concernant l'incorporation de la mouche-soldat noire dans le régime alimentaire des poissons a été effectuée.

Le **chapitre 7** présente une analyse globale des résultats de cette thèse ainsi que les perspectives.



# 3

---

## **Inventaire de coproduits agricoles et test de nutrition de la mouche-soldat noire au Bénin**



## Inventaire des coproduits agricoles potentiellement utilisables pour la production de pré-pupes d'*Hermetia illucens* (L. 1758) pour l'alimentation piscicole au Bénin

**Gougbedji A.**, Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Megido R.C., 2020. Inventaire des coproduits agricoles potentiellement utilisables pour la production de pupes de mouche *Hermetia illucens* (L. 1758) pour l'alimentation piscicole au Bénin. *Tropicultura* 38 (3–4), 1–18.

### Résumé

Cette recherche vise l'inventaire et la sélection de coproduits agricoles d'intérêt pour l'élevage d'*Hermetia illucens* (L. 1758) au Bénin. Les données relatives à la nature, la disponibilité et la valeur marchande des coproduits agricoles ont été collectées à travers une enquête dans 8 départements du Bénin. Deux régimes expérimentaux isoprotéiques et isolipidiques ont été formulés à partir de trois coproduits principaux (tourteau de coton, son de maïs et abats de poisson) et testés sur la croissance larvaire et la qualité nutritionnelle des pré-pupes d'*H. illucens*. 28 coproduits agricoles ont été recensés et répartis en 3 groupes : les tourteaux, les résidus et les sons. Le substrat à base de son de maïs et d'abats de poisson favorise une croissance optimale des larves. Les teneurs en protéines ( $47,9 \pm 0,1$  %) et en lipides ( $26,8 \pm 0,3$  %) des pré-pupes issues de ce régime permettent de répondre aux besoins nutritionnels du tilapia du Nil. Le régime à base de tourteau de coton a induit une forte mortalité ( $67,3 \pm 3,4$  %) chez les larves d'*H. illucens*. Sur la base des facteurs de disponibilité, de compétition et des résultats de l'expérimentation, 22 coproduits agricoles sont retenus pour de futurs essais.

**Mots clés :** coproduits agricoles, mouche-soldat noire, production des insectes, Afrique de l'ouest

## 1. Introduction

La production halieutique au Bénin repose essentiellement sur la pêche continentale (80 % des captures) et ne permet de couvrir que 35 % des besoins d'une population en constante croissance (El Ayoubi et Failler, 2013). Le poisson, bien qu'étant une source d'apport protéique majeure ne contribue qu'à 28,5 % des besoins de la population béninoise. Au regard des derniers travaux d'estimation des stocks réalisés, il est indéniable que les ressources ichtyques des écosystèmes continentaux connaissent une baisse alarmante (Chikou, 2006; Lederoun et al., 2015; Lederoun et al., 2016). Dans un souci de sécurité alimentaire et de sauvegarde des stocks naturels, les perspectives se concentrent désormais sur l'aquaculture. Ainsi plusieurs projets, à l'instar du Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale en République du Bénin (PROVAC) sont venus soutenir les initiatives de pisciculture (PROVAC, 2012). A travers ces programmes, les élevages du poisson, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) et du tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus* (L. 1758) ont connu une forte expansion. En raison des préférences alimentaires, le tilapia du Nil est devenu l'espèce principalement élevée pour le marché local. L'essor de cette filière reste cependant contraint à plusieurs facteurs dont la disponibilité d'aliments locaux performants pour le poisson et peu onéreux (Rurangwa et al., 2014). En effet, les aliments utilisés en pisciculture au Bénin tels que le Coppins, le Skretting, le Raanan sont importés et s'avèrent très coûteux (Sodjinou et al., 2016). De plus, les efforts de formulation d'aliment à partir d'ingrédients locaux ont connu des résultats mitigés, principalement en terme de croissance des poissons (Fiogbe et al., 2009; Rurangwa et al., 2014). L'un des enjeux majeurs dans la composition d'aliments pour poisson est la disponibilité de ressources présentant des taux de protéines élevés et des profils lipidiques adéquats. Le coût de la farine de poisson habituellement utilisé comme source protéique dans les formules alimentaires influence fortement le développement de la pisciculture. Par ailleurs, la surpêche d'espèce de poissons sauvages à l'instar de la sardine commune ou des anchois qui sont ensuite transformés en farine protéique représente un impact négatif important sur les écosystèmes vu le rôle important de ces espèces dans les réseaux trophiques aquatiques (FAO, 2018a). En quête de solutions alternatives, plusieurs expérimentations ont testé l'incorporation des insectes dans les régimes alimentaires des poissons d'élevage (Henry et al., 2015). Les insectes, capables de convertir efficacement les matières organiques en biomasses de haute valeur protéique, représentent de parfaits candidats à la substitution de la farine de poisson. Les espèces telles que *Tenebrio molitor* Linné, 1758, *Oryctes rhinoceros* (L. 1758), *Bombyx mori* L. 1758, *Musca domestica* L. 1758 et *Hermetia illucens* (L. 1758) ont déjà été testés dans l'alimentation de différentes espèces de poissons (Makkar et al., 2014; Henry et al., 2015).

Une tendance se dégage de plus en plus pour le choix de la mouche-soldat noire, *Hermetia illucens* (Diptère, Stratiomyidae). Outre leurs aptitudes reconnues pour la gestion de grands volumes de déchets (Diener et al., 2011; Newton et al., 2015), cette espèce détritivore possède un large spectre alimentaire et se nourrit préférentiellement de résidus organiques humides (Caruso et al., 2014). Ainsi, la mouche est souvent élevée sur des substrats composés de coproduits agricoles ou résidus de transformations agroalimentaires (Oonincx et al., 2015; Parra Paz et al., 2015). Les



expériences antérieures de nutrition ont utilisé les aliments pour poulet « Chicken feed » (Nguyen et Tomberlin, 2013), des déchets végétaux et de restaurant (Parra Paz et al., 2015; Spranghers et al., 2017b), des mélasses de betterave, des épiluchures de pomme de terre, des céréales, de la levure de bière, des restes de pain et de biscuits (Ooninx et al., 2015), de la farine de luzerne, du son de blé, de la farine de maïs, de la drêche de brasserie (Tomberlin et al., 2006) et des abats de poissons (St-Hilaire, Cranfill, et al., 2007a). Dès lors, l'élevage de *H. illucens* exige une connaissance des matières disponibles pour constituer son substrat de vie. C'est à cette fin que le présent travail a été effectué et dont l'objectif est de recenser les coproduits agricoles hypothétiquement utilisables pour produire les larves de la mouche-soldat noire. Au-delà d'un inventaire brut, la finalité est de sélectionner les ressources sur la base de leur disponibilité et de leur potentiel nutritif.

## **2. Matériel et Méthodes**

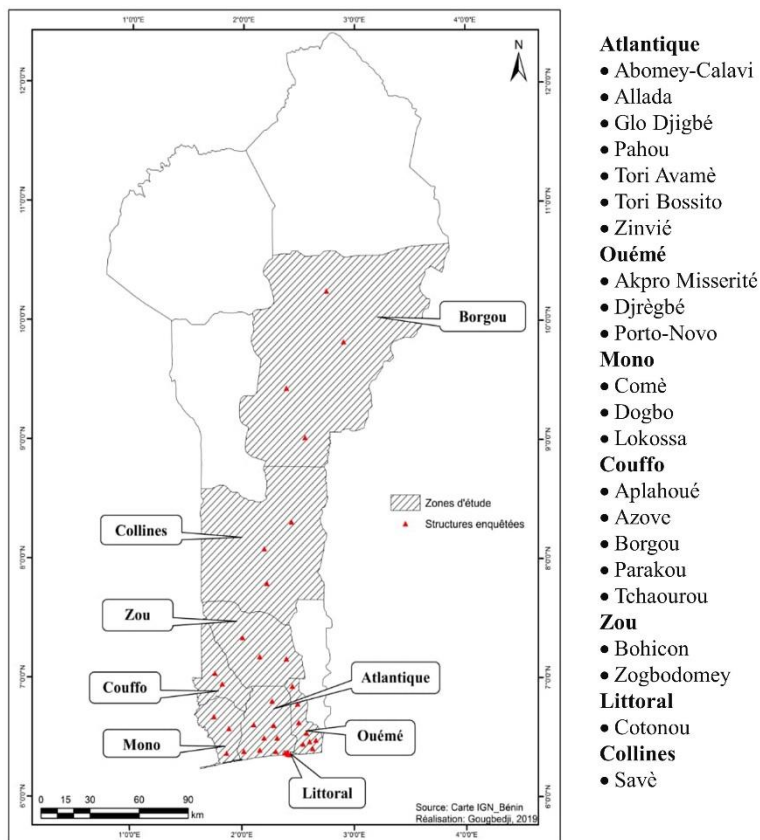
### ***2.1. Zone d'étude***

La présente étude a été conduite sur la base d'une enquête systématique auprès de deux types de structures alimentaires : les provenderies et les établissements de transformation agroalimentaire. En prenant comme critère la représentativité de ces deux pôles, l'enquête a été réalisée dans 8 départements du Bénin (Figure 10) : Atlantique, Littoral, Mono, Couffo, Zou, Collines, Ouémé et Borgou. Les données ont été collectées dans 48 structures réparties dans les différentes communes de chaque département (Figure 10).

### ***2.2. Inventaire et sélection des coproduits agricoles pour l'élevage d'*Hermetia illucens****

Une recherche préliminaire a permis d'obtenir auprès de la Chambre de Commerce et d'industrie du Bénin (CCIB) et de la Direction de l'Alimentation et de la Nutrition Appliquée (DANA), une liste des acteurs des deux secteurs enquêtés. Un guide d'entretien a été conçu puis testé au préalable avant l'enquête définitive. Les entretiens semi-directifs effectués ont abordé la nature, la disponibilité, l'abondance et le coût d'approvisionnement des coproduits identifiés. La nature reprend les différentes catégories de coproduits agricoles notamment les tourteaux, les sons et les résidus de transformation agro-alimentaire. La disponibilité des matières a été évaluée suivant les possibilités d'approvisionnement sur un cycle annuel. L'abondance des produits a été estimée sur la base des quantités mobilisables par mois. Les prix de vente minimum et maximum sur chaque produit ont été enregistrés afin d'en déterminer les coûts moyens.

Les coproduits pouvant servir de substrats nourriciers aux larves d'insectes ont été choisis sur la base de leur disponibilité dans le temps. Seul les coproduits disponibles toute l'année ont été sélectionnés.



**Figure 10 :** Cartographie des structures enquêtées par département. Les communes de chaque département sont présentées à droite de la figure.

### ***2.3. Croissance des larves d'*Hermetia illucens* nourries avec des coproduits agricoles***

Des larves de poids moyens 0,01 g ont été utilisées pour cette expérience. Elles proviennent d'une reproduction des adultes de mouche-soldat noire effectuée à l'insectarium du Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture de l'Université d'Abomey-Calavi. Le dispositif expérimental était constitué de 9 bacs plastiques (42 x 29 x 25 cm) obtenu dans le marché local « Dantokpa ». Chaque bac est muni d'une pente pour faciliter la sortie et la récolte des prépuces à la fin de l'expérience (Figure 11).



**Figure 11** : Dispositif d'élevage larvaire.

Afin de composer les substrats expérimentaux, un coproduit a été choisi par catégorie. Ainsi deux régimes isoprotéiques et isolipidiques ont été formulés et testés en triplicat à partir du son de maïs, du tourteau de coton et d'abats de poisson (Tableau 3). Le régime témoin était de la provende pour poulet obtenu chez le groupe Vêto Service au Bénin. Cet aliment est classiquement utilisé comme contrôle dans la littérature (Nguyen et al., 2013; Sprangers et al., 2017). Chaque coproduit a été broyé en poudre dans un moulin électrique (David 4V, Italie). Dans chaque bac, 2 kg de matière sèche de chaque régime a été introduit et humidifié à 70 %. La densité de charge larvaire a été de 2 larves/g de substrat.

**Tableau 3**: Composition des différents substrats nourriciers.

Régimes	Coproduits	Proportion (%)	Protéine (%)	Lipide (%)
R0	Provende	100	21	5,6
R1	Son de maïs	77	22,5	5,4
	Abats de poisson	23		
R2	Son de maïs	60	22,5	5,4
	Tourteau de coton	40		

Tous les 2 jours, 30 larves ont été échantillonnées dans chaque bac et pesées avec une balance électronique (Sartorius, FB423, Allemagne). Les mortalités ont été également relevées dans les différentes structures d'élevage. L'expérience de croissance a pris fin lorsque les premières pré-pupes ont émergé du substrat. Les substrats résiduels ont été séchés dans une étuve électrique (Heraeus, Lille, France) à 105°C pendant 3h puis pesés avec une balance électronique (Ohaus Scout Pro, SPU20001, USA).

## **2.4. Composition nutritionnelle des prépuces d'*Hermetia illucens***

Toutes les prépuces ont été récoltées des différents bacs, nettoyées à l'eau puis congelés pendant 24h. Elles ont ensuite été séchées dans une étuve électrique à 60°C pendant 6 heures puis broyées. Des analyses de la matière sèche, des cendres, des protéines brutes et des lipides totaux ont été réalisées sur les différentes farines d'insecte. Les teneurs en matière sèche ont été déterminées par déshydratation des échantillons à l'aide d'une étuve à 105°C pendant 1 h. Les teneurs en cendres ont été déterminées en incinérant les échantillons dans un four à 550°C à une vitesse constante de 50°C toutes les 30 min pendant 4 h, puis refroidis dans un dessiccateur. Les teneurs en protéines brutes ont été déterminées par la méthode « Dumas » en utilisant un facteur de conversion des protéines en azote de 4,76 chez les insectes (Janssen et al., 2017). Les teneurs en matières grasses ont été déterminées par la méthode d'extraction de « Folch » telle que décrite par Paul et al. (2015).

## **2.5. Analyse des données**

Afin d'appréhender la diversité des coproduits agricoles par département ainsi que leur spécificité, les indices de diversité de Shannon  $H'$  (Eq.1) et d'équitabilité de Pielou  $E$  (Eq.2) ont été calculés.

(1)  $H' = -\sum_{i=1}^s P_i \log_2 P_i$ . Avec  $P_i = N_i/N$  où  $N_i$  représente l'effectif du coproduit agricole  $i$  et  $N$  l'effectif total des coproduits.

(2)  $E = H'/\log_2 S$ .

Le taux de décomposition des substrats (DS) par les larves a été calculé pour chaque régime (Eq.3).

(3)  $DS = (SI - SF) \times 100 / SI$ . Avec  $SI$  la quantité de substrat initiale et  $SF$  la quantité de substrat final après décomposition.

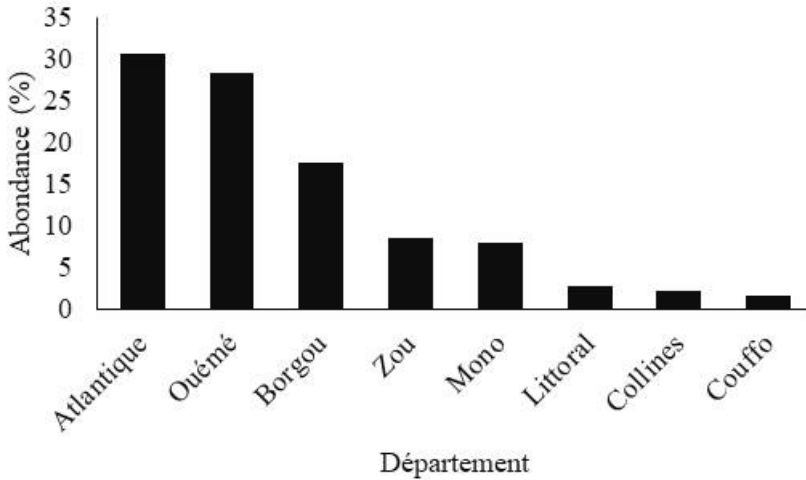
L'analyse de variance à 1 critère ( $F$ ) et la somme des rangs de Kruskal-Wallis ( $H$ ) ont été effectuées pour comparer les variables entre elles. Ces tests ont été réalisés après vérification des conditions d'application d'une analyse de la variance. Lorsque les différences étaient significatives, le test de Mann-Whitney était réalisé pour comparer les variables deux à deux. Toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel R 3.03.

# **3. Résultats**

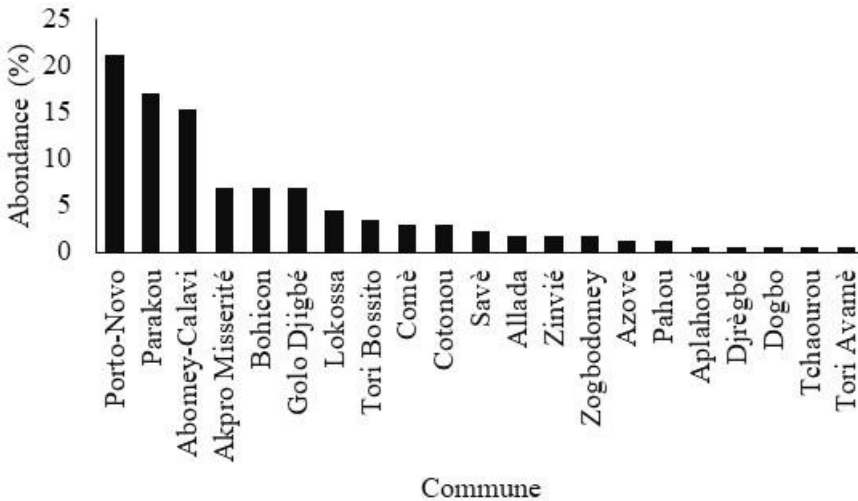
## **3.1. Description de la population étudiée**

La population ciblée dans le cadre de cette étude est composée de structures réparties majoritairement dans le sud et le centre du Bénin. L'effectif total des coproduits agricoles identifiés est constitué de 176 observations. La figure 12 présente l'importance par ordre décroissant d'observation des coproduits agricoles par département. Les départements de l'Ouémé, de l'Atlantique et du Borgou concentrent l'essentiel des coproduits en matière d'abondance (76,7 %). Parmi les communes,

celle de Porto-Novo possède le plus grand nombre d'observation suivit de celles de Parakou et d'Abomey-Calavi (Figure 13).

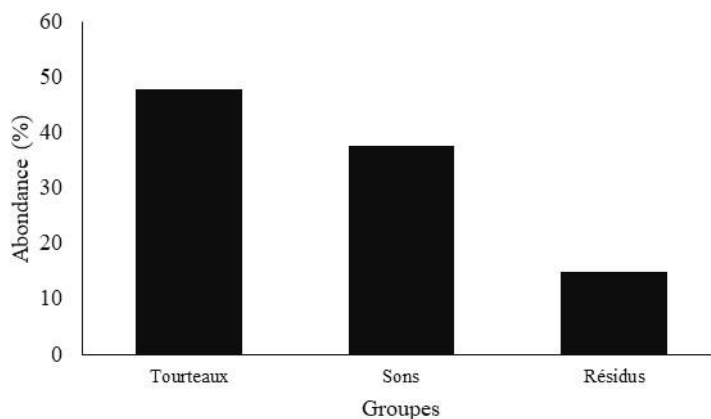


**Figure 12 :** Histogramme d'abondance des coproduits agricoles par département au Bénin.



**Figure 13 :** Histogramme d'abondance des coproduits agricoles par commune au Bénin.

La figure 14 présente la répartition des observations au sein des 3 groupes de coproduits identifiés. Les tourteaux sont les plus représentés suivis des sons et des résidus de transformation agroalimentaire.



**Figure 14** : Représentation de l'abondance des coproduits agricoles par groupe Bénin.

### ***3.2. Diversité et distribution géographique des coproduits agricoles***

Le tableau 4 présente le répertoire des coproduits agricoles inventoriés. Au total, 28 coproduits agricoles ont été identifiés sur l'ensemble de la zone d'étude. Certains départements ont le monopole de production de certains coproduits agricoles. Les tourteaux de tournesol, de moringa, de baobab, le son de sorgho, la farine de néré et la farine de baobab se retrouvent essentiellement dans le département du Borgou. Les épiluchures de manioc, les épiluchures d'igname et la farine de blé avariée sont uniquement représentés dans le département de l'Atlantique. Les résidus de fromage et de mangue sont essentiellement produits dans les collines. Le Zou garde l'exclusivité du tourteau d'acajou et de la farine d'acajou. Les abats de poisson et les résidus de gingembre sont retrouvés dans le département du littoral. Les brisures de pain et les peaux de banane sont recensées dans l'Ouémé.

Les valeurs des indices de diversité (Tableau 5) de Shannon-Wiener ( $H' = 0,7$ ) et d'équitabilité de Pielou ( $E = 0,8$ ) dénotent d'une forte diversité et d'une équirépartition des coproduits de façon globale à travers les départements.

**Tableau 4 :** Profil général de la diversité des coproduits agricoles inventoriés. Les chiffres du tableau représentent les structures dans lesquelles les coproduits sont retrouvés.

<b>Coproduits agricoles</b>	<b>Atlantique</b>	<b>Borgou</b>	<b>Collines</b>	<b>Couffo</b>	<b>Littoral</b>	<b>Mono</b>	<b>Ouémé</b>	<b>Zou</b>	<b>Total</b>
Abats de poisson	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Cossette de manioc	0	1	0	0	0	0	1	1	3
Drêche de brasserie	2	1	0	0	0	0	0	0	3
Drêche de soja	1	0	0	0	0	0	0	1	2
Epluchures de manioc	2	0	0	0	0	0	0	0	2
Epluchures d'igname	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Farine d'acajou	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Farine de baobab	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Farine de blé avariée	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Farine de néré	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Résidus d'acajou	0	2	1	0	1	0	0	0	4
Résidus d'ananas	0	0	1	0	1	0	1	0	3
Résidus de fromage	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Résidus de gingembre	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Résidus de mangue	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Son de blé	10	4	0	0	0	3	8	1	26
Son de maïs	6	2	0	0	1	0	7	2	18
Son de riz	6	2	0	0	0	5	7	1	21
Son de sorgho	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Tourteau d'acajou	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Tourteau d'arachide	0	1	0	1	0	0	0	0	2
Tourteau de baobab	0	2	0	0	0	0	0	0	2
Tourteau de coton	8	4	0	0	0	2	9	3	26
Tourteau de moringa	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Tourteau de palmiste	9	4	0	2	0	3	8	1	27
Tourteau de soja	8	2	0	0	0	1	9	3	23
Tourteau de souchet	0	1	0	0	0	0	0	0	1

Tourteau de tournesol	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Total global	54	31	4	3	5	14	50	15	176
Abondance proportionnelle (Pi)	0,31	0,18	0,02	0,02	0,03	0,08	0,28	0,09	1
Indice de Shannon (H')									0,74
Indice d'équitabilité de Pielou (E)									0,81
H'max									0,90



### ***3.3. Disponibilité temporelle, quantitative et valeur marchande des coproduits agricoles identifiés***

La plupart des coproduits inventoriés ont une disponibilité annuelle, à la fois en saison sèche et en saison pluvieuse (Tableau 5). A l'exception de la farine de baobab, des épiluchures d'igname, des résidus de mangue, de la farine de blé avariée et du son de sorgho qui ne peuvent être obtenues qu'à des périodes précises de l'année, les autres ne sont contraints à aucune limite temporelle.

Le tableau 5 présente également les quantités et les coûts des coproduits. Les coproduits du groupe des tourteaux sont les plus produits ( $120,2 \pm 659,7$  t/mois) suivis de ceux des résidus ( $32,7 \pm 77,9$  t/mois) et des sons ( $19,1 \pm 34,2$  t/mois) ( $H_2 = 6,3$  ;  $p = 0,04$ ). La dispersion des quantités entre les structures est très élevée pour la plupart des coproduits agricoles. Parmi les tourteaux, ceux du soja et du coton présentent les quantités les plus élevées, à savoir 95,6 % des quantités cumulées. Au sein des résidus, la drêche de brasserie et les résidus d'ananas sont les plus abondants (92,5 % des quantités cumulées) et seul le son de sorgho se retrouve en faible quantité dans le groupe des sons (0,04 %).

Des trois catégories de coproduits, les tourteaux coutent le plus cher et les résidus sont les moins cher de tous ( $H_2 = 59,9$  ;  $p < 0,001$ ). Parmi les résidus, les abats de poisson, les épiluchures d'igname et de manioc sont obtenues gratuitement. Le coproduit le plus couteux est le tourteau de moringa (1000 FCFA/Kg). Les autres coproduits varient de 25 FCFA/Kg à 425 FCFA/Kg.

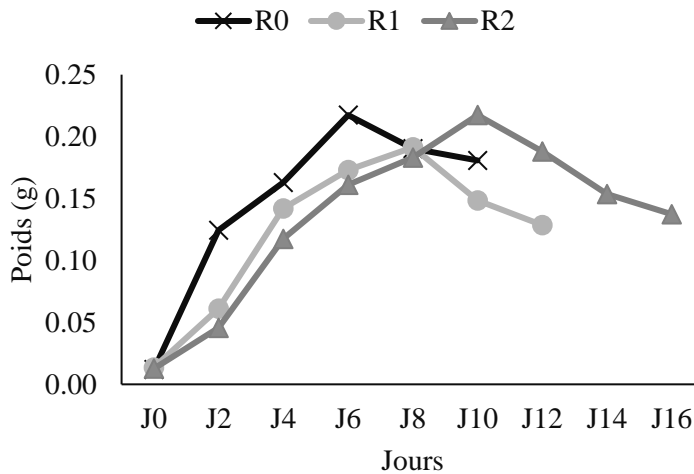
**Tableau 5 :** Disponibilité temporelle, quantité et coût des coproduits agricoles.

Groupe	Coproduits	Disponibilité	N	Quantités (t/mois)		Coûts (FCFA)	
				Min-Max	Moyenne $\pm$ écart-type	Min-Max	Moyenne $\pm$ écart-type
Tourteaux	Tourteau de palmiste	Annuelle	27	0,2-20		100-190	
	Tourteau de coton	Annuelle	26	1-100		110-240	
	Tourteau de soja	Annuelle	23	0,15-5000		310-460	
	Tourteau d'arachide	Annuelle	2	2,4-30		400-450	
	Tourteau de baobab	Annuelle	2	15-30	120,2 $\pm$ 659,7 <sup>a</sup>	100-150	231,9 $\pm$ 142,4 <sup>a</sup>
	Tourteau d'acajou	Annuelle	1	100		80-80	
	Tourteau de tournesol	Annuelle	1	60		100	
	Tourteau de moringa	Annuelle	1	5		1000	
	Tourteau de souchet	Annuelle	1	2		100	
Résidus	Résidus d'acajou	Annuelle	4	1,5-2,5		85-160	
	Drêche de brasserie	Annuelle	3	75-315		40-45	
	Résidus d'ananas	Annuelle	3	10-100		150-300	
	Cossette de manioc	Annuelle	3	1-20		100-155	
	Epluchure de manioc	Annuelle	2	2,5-5	32,66 $\pm$ 77,9 <sup>b</sup>	0	95,2 $\pm$ 72,7 <sup>b</sup>
	Drêche de soja	Annuelle	2	0,7-1,2		50-70	
	Epluchure d'igname	Saison pluvieuse	1	5		0	
	Farine de baobab	Saison sèche	1	5		110	
	Farine de néré	Annuelle	1	5		110	
	Résidus de gingembre	Annuelle	1	5		150	

	Abats de poisson	Annuelle	1	2		0	
	Farine d'acajou	Annuelle	1	1,5		75	
	Farine de blé avariée	Rare	1	0,25		85	
	Résidus de mangue	Saison pluvieuse	1	0,25		200	
	Résidus de fromage	Annuelle	1	0,15		25	
	Son de blé	Annuelle	26	0,5-100		100-190	
Sons	Son de riz	Annuelle	21	1-85	$19,1 \pm 34,2^c$	40-110	$113,1 \pm 31,6^c$
	Son de maïs	Annuelle	18	0,05-208		100-150	
	Son de sorgho	Rare	1	0,5		100	
Test statistique			H2 = 6,3		H2 = 59,9		
p			p = 0,04		p < 0,001		
Les différentes lettres présentent des résultats significativement différents. N représente l'occurrence d'un coproduit							

### 3.4. Paramètres d'élevage et composition nutritionnelle des prépuces

Le poids moyen final des prépuces produites (Tableau 6) sur des résidus sont significativement inférieurs ( $0,13 \pm 0,00$  g) pour R1 (son de maïs + abats de poisson) et  $0,14 \pm 0,01$  g pour R2 (son de maïs + tourteau de coton) à celui du témoin R0 (provende) ( $0,18 \pm 0,00$  g). Les larves ont atteint un pic de croissance avant de connaître une perte de poids progressive jusqu'au stade prépupal. Les larves du régime contrôle ont mis 10 jours pour atteindre la phase de prépupe alors que celles des régimes R1 et R2 ont mis respectivement 12 et 16 jours (Figure 15).



**Figure 15 :** Évolution journalière du poids moyen des larves en fonction des régimes alimentaires. R0 = Témoin, R1 = son de maïs + abats de poisson, R2 = son de maïs + tourteaux de coton

Des trois régimes testés, seules les populations nourries avec le son de maïs et le tourteau de coton ont enregistré une forte mortalité ( $67,3 \pm 3,4$  %) (Tableau 6). De même, le plus faible taux de décomposition du substrat a été enregistré avec ce régime ( $37,9 \% \pm 0,9$  %) ( $F_{2,6} = 5271$  ;  $p < 0,001$ ).

Le taux de matière sèche le plus élevé est obtenu avec le régime R1 ( $34,6 \pm 0,3\%$   $0,50$  %) alors que le plus faible est enregistré chez les prépuces du régime témoin ( $30,4 \pm 0,5$  % ; Tableau 6). De même, les prépuces du contrôle ont les teneurs les plus élevées en cendre ( $10,9 \pm 0,07$  %). Les prépuces nourries avec le son de maïs et les abats de poisson ont les teneurs les plus élevées en protéines ( $47,9 \pm 0,11$  %) tandis que les prépuces du régime témoin présente les plus faibles valeurs ( $43,4 \pm 0,10$  %). En ce qui concerne les lipides, les taux les plus élevés sont extraits des prépuces nourries avec le son de maïs et le tourteau de coton ( $27,7 \pm 0,1$  %) et les plus faibles chez celles du témoin ( $22,7 \pm 0,2\%$ ).

**Tableau 6:** Paramètres biologiques et nutritionnels de larves et prépuces d'*Hermetia illucens*. R0 = Témoin, R1 = son de maïs + abats de poisson, R2 = son de maïs + tourteaux de coton, DS = Décomposition du substrat

		<b>R0</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>Test statistique</b>	<b>P</b>
<b>Paramètres biologiques</b>	Poids prépuces (mg)	180 ± 0,0 <sup>a</sup>	130 ± 0,0 <sup>b</sup>	140 ± 0,0 <sup>b</sup>	F <sub>2,6</sub> = 102,73	< 0,001
	Mortalité (%)	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	67,3 ± 4 <sup>b</sup>	F <sub>2,6</sub> = 865,73	< 0,001
	DS	81,7 ± 0,31 <sup>a</sup>	74,8 ± 0,30 <sup>b</sup>	37,9 ± 0,9 <sup>c</sup>	F <sub>2,6</sub> = 5271	< 0,001
<b>Paramètres nutritionnels</b>	Matière sèche (%)	30,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	34,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	32,5 ± 0,15 <sup>c</sup>	F <sub>2,6</sub> = 211,5	< 0,001
	Cendres (%)	10,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	6 ± 0,0 <sup>b</sup>	5,3 ± 0,0 <sup>c</sup>	F <sub>2,6</sub> = 33,7	< 0,001
	Protéines (%)	43,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	47,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	47,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	F <sub>2,6</sub> = 3189	< 0,001
	Lipides (%)	22,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	26,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	27,7 ± 0,1 <sup>c</sup>	F <sub>2,6</sub> = 1031	< 0,001
Les différentes lettres présentent des résultats significativement différents						

## 4. Discussion

Cette étude prospective a permis d'identifier une diversité de coproduits agricoles susceptibles de servir de substrats nourriciers aux larves de *H. illucens*. L'inventaire a recensé 28 coproduits agricoles qui intègrent plusieurs substrats d'usages (ou associés) en élevage larvaire chez cette espèce. Outre les résidus d'acajou, d'ananas, de fromage et de gingembre; les drêches de brasserie et de soja ; les abats de poisson, qui constituent des matières humides, les autres coproduits sont de nature sèche. L'utilisation de ces résidus secs pour l'élevage devrait donc être conditionnée par une humidification. En effet, les larves de la mouche-soldat noire ne se développent que dans les milieux dont le taux d'humidité est de l'ordre de 60-70 % (Sheppard et al., 2002). Au-delà de l'humidité, certains auteurs ont rapporté que la texture du substrat influençait fortement la vitesse de croissance et le taux de survie des larves de *H. illucens* (Gobbi et al., 2013; Nguyen et al., 2013). Ainsi les coproduits agricoles non farineux ou extrêmement fibreux doivent être homogénéisés afin d'optimiser l'élevage larvaire.

Les coproduits inventoriés se constituent en trois groupes : les tourteaux qui sont les plus produits, les résidus, et les sons. Bien que leur régularité soit élevée à travers la zone d'étude, certains coproduits sont spécifiques à certains départements. Le département du Borgou monopolise les tourteaux de tournesol, de souchet, de moringa, de baobab, le son de sorgho, la farine de néré et la farine de baobab. Les épiluchures de manioc, les épiluchures d'igname et la farine de blé avariée sont retrouvés dans le département de l'Atlantique. Les résidus de fromage et de mangue sont produits dans les Collines. Le tourteau et la farine d'acajou ont été recensés dans le Zou. Les abats de poisson et les résidus de gingembre sont retrouvés dans le département du littoral. De façon globale, les coproduits identifiés peuvent être fournis toute l'année ; ils sont donc disponibles pour une production continue des larves de *H. illucens*. Des trois groupes de coproduits agricoles, les tourteaux sont les plus abondants suivis des résidus et des sons.

Considérant la disponibilité temporelle, 5 coproduits (farine de baobab, épiluchures d'igname, résidus de mangue, farine de blé avariée et son de sorgho) sont éliminés en vue de l'élevage industriel des larves de la mouche-soldat noire. En marge de cette sélection, le tourteau d'arachide entre en compétition avec une autre filière, notamment la production de « galettes d'arachide » pour la consommation humaine (Soule et al, 2004). Ainsi, 22 coproduits sont encore susceptibles d'être utilisés pour l'élevage de *H. illucens*. Un autre critère de sélection repose sur la valeur marchande et doit tenir compte de deux facteurs. Premièrement, une étude de marché devra être réalisée afin de déterminer le coût d'un coproduit. Deuxièmement, le but final d'une telle entreprise est de produire des poissons à moindre coût au Bénin. Dès lors, des études de rentabilité économique doivent être effectuées sur une filière de poissons produits à partir des larves de mouche-soldat noire qui ont été nourries avec divers coproduits identifiés. Dans l'optique de produire des larves nutritionnellement enrichies pour satisfaire les besoins du poisson, plusieurs auteurs ont démontré que la

composition des larves de *H. illucens* en protéines et lipides est intimement liée à celle de leur régime alimentaire (Oonincx et al., 2015; Spranghers et al., 2017).

Des premiers essais d'élevage de *H. illucens* ont été réalisés dans cette étude sur trois coproduits (tourteau de coton, son de de maïs et abats de poisson) d'intérêt issus chacun d'un des trois groupes identifiés. Parmi les sons les plus disponibles au Bénin (son de maïs et son de blé), le son de blé ayant déjà été testé dans d'autres études (Clariza Samayoa et al., 2016; Maurer et al., 2016) et possédant un coût plus important, le choix de cette étude s'est porté sur le son de maïs. Des deux tourteaux majoritairement produits, le tourteau de coton est moins couteux que celui du soja et le tourteau de soja est déjà utilisé en alimentation du poisson (Dersjant-li, 2002). Dans le groupe des résidus, les abats de poissons ont été retenus dans la mesure où ils sont obtenus gratuitement. Par ailleurs ils présentent un avantage nutritionnel avéré dans l'optimisation de la qualité lipidique chez la mouche-soldat noire (St-Hilaire, Cranfill, et al., 2007).

Au plan nutritionnel, les teneurs en protéines des prépuces sont bien supérieures à celles des régimes, ce qui témoigne d'un fort potentiel de valorisation de coproduits locaux. Les teneurs en protéines ( $47,9 \pm 0,1\%$  et  $47,1 \pm 0,1\%$ ) des prépuces issues respectivement des régimes expérimentaux R1 (son de maïs + abats de poisson) et R2 (son de maïs + tourteau de coton) permettent d'envisager un remplacement de la farine de poisson pour couvrir les besoins protéiques du tilapia du Nil qui s'élèvent à 30 % (NRC, 1994). Ces teneurs restent dans la même gamme (46,3%) que celles obtenues par Oonincx et al. (2015) pour des prépuces élevées à partir de coproduits agricoles. La teneur en protéines (22,9%) des substrats formulés était semblable à celle des régimes de cette étude. La composition lipidique des prépuces des substrats expérimentaux (26,8% et 27,7%) permet également une couverture des besoins en lipides totaux estimés à 10 % chez *O. niloticus* (NRC, 1994). Bien que les diètes expérimentales soient isoprotéiques et isolipidiques, une différence apparaît dans la composition des prépuces ainsi que dans leur croissance suggérant une influence de la nature et de la quantité du coproduit ingéré (Gobbi et al., 2013; Nguyen et al., 2015). Ainsi les larves élevées avec la provende de poulet atteignent plus vite le stade prépupe avec des poids moyens plus élevés que les autres (0,18 g contre 0,13 g et 0,14 g respectivement pour R1 et R2). Spranghers et al. (2017) ont observé les mêmes différences de croissance entre les prépuces de la provende (0,22 g), des résidus de restaurant (0,15 g) et des déchets végétaux (0,14g). Toutefois, les temps de croissance des prépuces de la présente étude (10, 12 et 16 jours pour R0, R1, R2) sont sensiblement inférieurs à ceux de ces auteurs (12,3 ; 15,5 et 19 jours respectivement pour la provende, les déchets végétaux et les résidus de restaurant). Les pertes de poids observées après les pics de croissance seraient liées au stade de développement de l'espèce comme démontré par Rachmawati et al. (2015) qui ont observé une réduction de la teneur en protéines au cours du développement larvaire et une augmentation de la teneur en matière sèche à l'approche du dernier stade. Des deux régimes à base de coproduits testés, seul celui comportant le tourteau de coton présente un fort taux de mortalité et une faible décomposition du substrat. Une cause plausible serait une bioaccumulation de pesticides utilisés dans les pratiques culturales du coton au Bénin (Agbohessi et al., 2012). La présence d'un facteur antinutritionnel

pourrait également expliquer ces mortalités. Le gossypol, une substance très toxique contenue dans le coton est connue pour assurer une fonction de défense contre les insectes et les herbivores (Médale et Kaushik, 2009). Sur la base des analyses de cette expérience, le régime R1 favorise un élevage optimal des larves de mouche-soldat noir à partir des coproduits utilisés. Le tourteau de coton tel qu'obtenu dans les structures de production n'est pas recommandé pour l'élevage de cette mouche.

La méthode d'échantillonnage dans le cadre de cette enquête limite la détection de certaines ressources d'intérêts. En effet des essais d'élevage des larves de *H. illucens* ont été réalisées avec des plantes fourragères ou des adventices (Caruso et al., 2014). Ces filières pourraient être investiguées dans le cadre d'une étude qui cible les zones agroécologiques et les élevages de ruminants.

## 5. Conclusion

Cette étude a permis d'inventorier une large gamme de coproduits agricoles dont les tourteaux sont les plus abondants. Parmi ces coproduits, 22 ont été retenus pour servir de matières de base dans les formulations alimentaires destinées à la production des larves d'*Hermetia illucens*. Globalement, les coproduits sont bien diversifiés et distribués dans les 8 départements enquêtés. Ils sont également disponibles et accessibles tout au long de l'année. L'essai d'élevage réalisé a permis de produire des prépuces dont les compositions nutritionnelles permettent d'envisager un remplacement de la farine de poisson par celle de la mouche-soldat noire dans l'aliment de *O. niloticus* au Bénin. D'autres expériences pourraient être conduites à l'avenir à partir de la combinaison d'autres coproduits de la sélection pour une évaluation plus poussée.

## 6. Références

Agbohessi P., Imorou Toko I., Yabi J., Dassoundo-Assogba J. & Kestemont P., 2012. Caractérisation des pesticides chimiques utilisés en production cotonnière et impact sur les indicateurs économiques dans la Commune de Banikoara au nord du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(5), 1828.

Caruso D., Devic E., Subamia I.W., Talamond P. & Baras E., 2013. Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (BSF), 141.

Chikou A., 2006. Etude de la démographie et de l'exploitation halieutique de six espèces de poissons-chats (Teleostei, Siluriformes) dans le delta de l'Ouémé au Bénin.

Čičková H., Newton G.L., Lacy R.C. & Kozánek M., 2015. The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Manag.* 35, 68–80.

Clariza Samayoa A., Chen W.-T. & Hwang S.-Y., 2016. Survival and Development of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): A Biodegradation Agent of Organic Waste. *J. Econ. Entomol.* 109(6), 2580–2585.

Dersjant-li Y., 2002. The Use of Soy Protein in Aquafeeds. In: *The Use of Soy Protein in Aquafeeds.* 541–558.

Diener S., Zurbrugg C., Roa Gutiérrez F., Nguyen H.D., Morel A., Koottatep T. &



Tockner K., 2011. Black soldier fly larvae for organic waste treatment - prospects and constraints. *In: WasteSafe 2011 2nd International Conference on Solid Waste Management in Developing Countries 1315 February 2011 Khulna Bangladesh.* 978–984.

El Ayoubi H. & Failler P., 2013. Industrie des pêches et de l'aquaculture au Bénin (November), 127.

FAO, 2018, La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome, Italy, 978-92-5-130692-5.

Fiogbe E., Akitikpa B. & Accodji J.-M.M., 2009. Essais de mise au point de formules alimentaires à base d'azolla (*Azolla microphylla*) et de sous-produits locaux pour la pisciculture rurale du tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(2), 398–405.

Gobbi P.A., Martínez-sánchez A.N. & Rojo S.A., 2013. The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) 110(3), 461–468.

Henry M., Gasco L., Piccolo G. & Fountoulaki E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203(1), 1–22.

Janssen R.H., Vincken J.-P., van den Broek L.A.M., Fogliano V. & Lakemond C.M.M., 2017. Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Three Edible Insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *J. Agric. Food Chem.* 65(11), 2275–2278.

Lederoun D., Chikou A., Vreven E., Snoeks J., Moreau J., Vandewalle P. & Lalèyè P., 2015. Population parameters and exploitation rate of *Sarotherodon melanotheron melanotheron* Rüppell, 1852 (Cichlidae) in Lake Toho, Benin. *J. Biodivers. Environ. Sci.* 6(2), 259–271.

Lederoun D., Vandewalle P., Brahim A., Moreau J. & Lalèyè P., 2016. Population parameters and exploitation rate of *Sarotherodon galilaeus galilaeus* (Cichlidae) in Lakes Doukon and Togbadji, Benin. *African J. Aquat. Sci.* 41(2), 151–160.

Makkar H.P.S., Tran G., Heuzé V. & Ankers P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197 (November 2017), 1–33.

Maurer V., Holinger M., Amsler Z., Früh B., Wohlfahrt J., Stamer A. & Leiber F., 2016. Replacement of soybean cake by *Hermetia illucens* meal in diets for layers. *J. Insects as Food Feed* 2(2), 83–90.

Médale F. & Kaushik S., 2009. Les sources protéiques dans les aliments pour les poissons d'élevage. *Cah. Agric.* 18(2), 103–111.

Nguyen T.T.X., Tomberlin J.K. & Vanlaerhoven S., 2013. Influence of Resources on *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larval Development. *J. Med. Entomol.* 50(4), 898–906.

Nguyen T.T.X., Tomberlin J.K. & Vanlaerhoven S., 2015. Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste. *Environ. Entomol.* 44(2), 406–410.

NRC, 1994. Nutrient requirements of fish 1993. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 183(2), 299–300.

Ooninx D.G.A.B., van Broekhoven S., van Huis A. & van Loon J.J.A., 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLoS One* 10 (12), e0144601.

Parra Paz A.S., Carrejo N.S. & Rodriguez C.H.G., 2015. Effects of Larval Density and Feeding Rates on the Bioconversion of Vegetable Waste Using Black Soldier Fly Larvae *Hermetia illucens* ( L .), ( Diptera : Stratiomyidae ) (100), 1059–1065.

Paul A., Frederich M., Uyttenbroeck R., Filocco S., Hatt S., Malik P., Monty A., Francis F., Blecker C. & Danthine S., 2015. Proximate Analysis of Seeds From Some Field. *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol.* XIX(September), 354–359.

PROVAC, 2012. Projet de vulgarisation de l'aquaculture continentale en République du Bénin. *Lettre d'information Du PROVAC*, 2.

Rachmawati R., Buchori D., Hidayat P., Hem S., & Fahmi M.R., 2015. Perkembangan dan Kandungan Nutrisi Larva *Hermetia illucens* (Linnaeus) (Diptera: Stratiomyidae) pada Bungkil Kelapa Sawit. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 7(1), 28.

Rurangwa E., van den Berg J., Lalèyè P., van Duijn A. & Rothuis A., 2014. Mission exploratoire : Pêche , Pisciculture et Aquaculture au Bénin. *Un Quick Scan Du Secteur Pour Des Possibilités d'interventions*, 27.

Sheppard D.C., Tomberlin J.K., Joyce J.A., Kiser B.C. & Sumner S.M., 2002. Rearing Methods for the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae): Table 1. *J. Med. Entomol.* 39(4), 695–698.

Sodjinou E., Mensah G.A. & Mongbo R.L., 2016. Aliments , ressources alimentaires et pratiques de nourrissage dans les exploitations piscicoles du Sud-Bénin, 63.

Soule B.G., Bello R., Orou B.M.A. & Gibigaye M., 2004. Artisanat Alimentaire , Securite Alimentaire Et Lutte contre la Pauvreté en Afrique: le cas du Bénin, *Rapport Laboratoire d'analyse regionale et d'expertise sociale.*, 83p.

Sprangers T., Ottoboni M., Klootwijk C., Ovynd A., Deboosere S., De Meulenaer B., Michiels J., Eeckhout M., De Clercq P. & De Smet S., 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J. Sci. Food Agric.* 97(8), 2594–2600.

St-Hilaire S., Cranfill K., McGuire M.A., Mosley E.E., Tomberlin J.K., Newton L., Sealey W., Sheppard C. & Irving S., 2007. Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *J. World Aquac. Soc.* 38(2), 309–313.

Tomberlin J.K., Sheppard D.C. & Joyce J.A., 2002. Selected Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) Reared on Three Artificial Diets. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95(3), 379–386.



---

## **Technique d'élevage et enrichissement nutritionnel d'*Hermetia illucens***



## Technical basis for the small-scale production of Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (L. 1758), meal as fish feed in Benin

**Gougbedji A.**, Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2021. Technical basis for the small-scale production of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L. 1758), meal as fish feed in Benin. *J. Agric. Food Res.* 4, 100153.

### Abstract

Promoting black soldier fly (BSF) rearing in Benin to replace fishmeal in fish diet could reduce fish production costs. This study aims to set up a breeding technique of BSF as a protein source. BSF reproduction has been carried out in sunlight. Two densities (8500 individuals/m<sup>3</sup> and 10500 individuals/m<sup>3</sup>) associated with 2 attractants (soybean and pineapple waste) were tested on imago egg-laying. A larvarium with a prepupae self-harvesting system was designed and its efficiency was evaluated by testing 3 densities of larval rearing (1 larva/g, 2 larva/g, 3 larva/g). Two diets, VGD (soybean meal + euphorbia leaves and seeds + colza oil) and FOD (soybean meal + fish offal) were formulated to optimize polyunsaturated fatty acid profile of prepupae to meet nutritional requirements of tilapia. Best oviposition was obtained with 8500 individuals/m<sup>3</sup> with pineapple waste and optimal larval load density was 2 larva/g. Prepupae fed with VGD accumulated C18:2n-6 (10.1 %) which is essential for tilapia. Prepupae fed with FOD contained C20:5n-3 (2.20 %), a fatty acid beneficial to humans. The lowest production cost of BSF meal was estimated at \$1.84/Kg and was obtained with the FOD diet. BSF can easily be reared under local conditions throughout the year. Its nutritional qualities are very interesting to meet Nile tilapia requirements.

**Keywords:** *Hermetia illucens*, insect breeding, fish feeding, polyunsaturated fatty acid, West Africa

## 1. Introduction

In Benin, fish farm installation throughout the country has increased simultaneously with various programs of support and promotion of aquaculture (PROVAC, 2012; ProCAD, 2017). The two main species farmed are the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) and the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) with a higher production of the former due to the preferences of Beninese consumers (Rurangwa et al., 2014). Among other factors, feed represents the production factors that strongly influences the cost of produced fish. The feed generally used in Benin for fish production is imported and expensive for the producers (Sodjinou et al., 2016). An economically and environmentally sustainable solution would be to directly produce fish feed in Benin with high-quality local ingredients. Currently, fishmeal, an important constituent of fish feed formulation, is mostly derived from small pelagic species (e.g. anchovies, sardines or herring) whose overfishing will have a long-term negative impact on the environment and on food security in the fishing areas (FAO, 2018b). One of the critical points in fish feed formulation and production is consequently to identify high-quality protein and lipid sources to replace fishmeal (Gasco et al., 2018). The substitute must meet the nutritional requirements of the targeted fishes, principally Nile tilapia in Benin. The protein requirements for optimal growth of *O. niloticus* are estimated at 29 % (NRC, 2011) while the optimal level of total lipid intake is around 10 % (Guillaume et al., 1999). In farmed fish, lipid intake in the diet is essential to cover the essential fatty acids (EFAs) requirements of the fish (Guillaume et al., 1999) but have also beneficial effect on human health as lipids in fish are generally characterized by high levels of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) (Arts et al., 2001). Freshwater fish such as *O. niloticus* are able to biosynthesize long-chain polyunsaturated essential fatty acids of the C20 or C22 series from C18 PUFAs (C18:2-n3 and C18:3n-3) through enzymatic processes of elongation and desaturation (Oliva-Teles, 2012). However, recent study have shown that the presence of C18 in fish feed can influence this bioconversion (Agbohessou, Mandiki, Gougbedji, Megido, Hossain, Jaeger, et al., 2021). In *O. niloticus*, only linoleic acid (C18:2n-6) is essential between 0.5 and 1 % (NRC, 1994). Among alternatives for the aquaculture development, insects are seen as serious candidates and among potential species, the black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens* (L. 1758); Diptera, Stratyomyidae) are increasingly targeted as this cosmopolitan species could be produced on a very broad scale of organic residues (Barragan-Fonseca, 2017; Barroso et al., 2017; Gasco et al., 2018). Moreover, its nutritional composition may be appropriate for use in fish nutrition. The protein content of *H. illucens* ranges from 37 to 63 % of dry matter while lipid content also varied from 7 to 39% principally depending on the rearing substrates (Henry et al., 2015; Barragan-Fonseca, 2017). The BSF fatty acid profile has been characterized in several studies and was mainly composed of biosynthesized lauric acid (C12:0) (Spranghers et al., 2017b). In order to optimize the fatty acid composition of BSF larvae or prepupae (i.e. the developmental stage of a metamorphic insect prior to entering the pupal stage), several experiments enriched BSF diets with PUFAs and showed a substantial incorporation of linoleic acid (LA, C18:2n-6), alpha linolenic acid, eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) or docosahexaenoic acid

(DHA, C22: 6n-3) (St-Hilaire et al., 2007; Barroso et al., 2017; Liland et al., 2017; Ewald et al., 2020).

Generally, BSF production is carried out in two steps. The first one is carried out in an insectarium and consists in adult and egg production while the second step is carried out in a larvarium where the larvae are growing (Caruso et al., 2014). For incorporation into feed formulation, this species could be used at the larval stage following manual harvesting or sieving or it could be self-collected at the prepupal stage (Bondari et al., 1987; St-Hilaire et al., 2007; Tomberlin et al., 2017; Kenis et al., 2018). Several parameters have already been identified in order to successfully breed *H. illucens*. For adult reproduction, ambient temperature should be between 26 and 27°C; relative humidity around 60 to 70% and light intensity for oviposition between 135 to 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.;van Loon, 2017). Concerning adult densities in breeding cages, Hoc et al.(Hoc et al., 2019) obtained maximum egg production at a density of 8500 individuals/ $\text{m}^3$  inside a breeding unit with controlled environmental parameters. As attractant for female oviposition, several products can be recommended as decaying organic matter, poultry manure or carrots (Booth et al., 1984; Hoc et al., 2019) but any other local co-products should be used with possible attractiveness differences. Current literature provides information on larval rearing devices in line with the development cycle of *H. illucens* (Diener et al., 2011; Ortiz et al., 2016). Two systems could be used depending on the feeding substrates. A first system based on the self-harvesting of prepupae when using plant or animal co-products as in this study or a second system based on last instar larvae sieving when using high-quality products (e.g. flour or cereal bran) in a drier environment. In laboratory conditions the average larval growth time is  $24.6 \pm 6.2$  days and the average weight of prepupa is  $0.11 \pm 0.01$  g (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.;van Loon, 2017).

Promoting small-scale of BSF rearing in Benin suggests an optimization of the different rearing parameters under local conditions. The objectives of this work are to propose a device adapted to *H. illucens* larval rearing; to determine the optimal parameters for reproduction and growth of the species under local conditions and to optimize the lipid quality of the prepupae produced on local byproducts while maintaining low production cost of insect meal.

## **2. Materials and Methods**

### ***2.1. Study site***

The experiment was conducted in Benin (West Africa) within the Laboratory of Hydrobiology and Aquaculture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Abomey-Calavi.

### ***2.2. Reproduction of black soldier fly***

The experiment was conducted in a fenced building (10 x 3.7 x 2.8 m) with windows. The experimental module consisted of 12 nylon breeding cages (75 x 75 x 115 cm, Bugdorm, Taichung, Taiwan). The cages were placed near the windows for

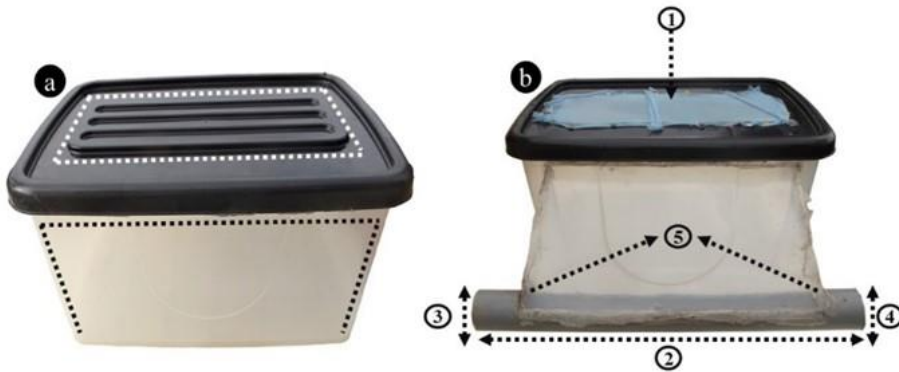


maximum exposure to sunlight. A control density of 8500 individuals/m<sup>3</sup> (FD1) was used (Hoc et al., 2019) while a density of 10500 individuals/m<sup>3</sup> (FD2) was tested in triplicates for two egg-laying attractants: soybean dregs (i.e. waste from extraction of soy milk; SD) and pineapple waste (i.e. waste from the pineapple juice extraction; PW). 500 g of attractant were placed in a tray (37.5 x 28 x 7.5 cm) covered with a grid to prevent flies from laying eggs inside and were introduced into each cage. A 12 cm long wooden nesting box (model proposed by Hoc et al. (Hoc et al., 2019)) was placed on the grid for the females to lay eggs. A water-soaked cloth was placed in each cage to allow the flies to hydrate. A datalogger DL-USB-171 (ATAL, Purmerend, Netherlands) was set up to record temperature data every 2 h throughout the experiment.

Every day, eggs were collected from the egg-laying structure with a cutter and weighed with an electronic scale (Sartorius, FB423, Germany) with an accuracy of 0.001 g. The egg collection was stopped when all the flies died. In addition to temperature, the sunlight duration was also recorded daily throughout the experiment. Each day, the time of the first sun rays was recorded and the time of the sunset as well. The collected eggs were incubated in trays (60 x 40 x 33.5 cm; Auer Packaging, Amerang, Germany) corresponding to each cage. The hatching substrate for the eggs was SD as its homogeneous and non-fibrous texture allows easy harvesting of the larvae after the egg hatching. After one week, the larvae were sorted with 2 mm and 1 mm mesh sieves. The 2 mm sieves allow the sorting of larvae with an average weight of 0.01 g. The number of larvae obtained per tray after hatching was estimated using an average weight in order to determine the yield per cage.

### ***2.3. Larvarium design***

A white-colored, rectangular and transparent plastic container (42 cm x 29 cm x 25 cm) closed with an opaque plastic lid was used (Figure 16). This container was selected because of its high availability and accessibility on Beninese markets. In addition to the plastic container, a polyvinyl chloride pipe (PVC) of 50 cm in diameter was selected to serve as a collector for the prepupae. One of the side faces (42 cm x 29 cm) was cut along one length and the two widths to create an exit ramp for the prepupae (Figure 16a). The opening was closed using a plastic from another container of the same model. A 45-cm PVC pipe was opened on the top to serve as a collector gutter. The pipe was fixed on the edge of the slope with its right end was closed with plastic. In order to aerate the system, the lid was cut in the middle and was covered with a 2.5-mm-mesh net (Figure 16b).



**Figure 16 :** (a) Model of the tank used for the design of the larvarium. The dots represent the cutting lines; (b) Larvarium for *Hermetia illucens*. 1 : window opening covered by a mosquito net, 2 : prepupae collection gutter, 3: exit for the prepupae, 4: closed end, 5: prepupae exit ramp.

## 2.4. Determination of optimal load density

One-week-old larvae with an average weight of 0.01g were used for growth experiment. The experimental device consisted of 9 larvaria build according to the previously described model. All larvaria were placed on wooden shelves. Three larval densities were tested in triplicate: LD1 (1 larva/g of feed); LD2 (2 larvae/g of feed) and LD3 (3 larvae/g of feed). The feed used as a breeding substrate was a chicken feed (protein: 21 % and lipid: 5.6 %) from Veto Service Group (Cotonou, Benin). 2 kg of chicken feed (dry matter) with 70% moisture were distributed in each container. These 2 kg of chicken feed corresponds to 2 cm of substrate in the breeding containers (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.;van Loon, 2017). Every two days, 60 larvae were sampled from each container of each treatment and weighed with an electronic scale (Sartorius, FB423, Germany). Larval growth was followed till the first prepupae emerged from the substrates. Finally, residual substrates were collected and dried in an oven at 105°C for 1 hour. The dried substrates were weighed to evaluate the substrate reduction effectiveness.

## 2.5. Harvesting system and feed production

For each larvarium, a 5-liter bucket was placed at the left end of the PVC pipe. At the end of the experiment (On the 12<sup>th</sup> day when the prepupae no longer emerge from the substrate), the prepupae recovered from each bucket were counted, as well as those remaining in each container.

All the prepupae of each batch were transferred to labeled boxes and then kept in the freezer (Liebherr, France) at – 20°C for 24 hours. Frozen *H. illucens* specimens were dried in an oven at 50°C for 6 hours. They were then crushed/blended, batch by batch, in a kitchen blender. Because of its high fat content, some of the BSF flour gets

stuck to the blender blades. This residual flour is removed each time and added to the different samples. The meal obtained was weighed per batch.

## 2.6. Optimization of the lipid quality of black soldier fly prepupae

Five plant and animal ingredients were selected for this experiment: soybean meal (SM, Fludor-Benin, Cotonou, Benin), colza oil (CO, Super U Benin, Cotonou), leaves and seeds of *Euphorbia heterophylla* L. (EH) and fish offal (FO, Fishing port, Cotonou, Benin). The SM is a staple in all diets. The other ingredients are sources of contrasted fatty acids. CO and EH provide high levels of oleic (OA, C18:1n-9), LA, and ALA, acids. Other authors have already succeeded in enriching *Cavia porcellus* (L. 1758) (Kouakou et al., 2013), *Coturnix japonica* Temminck & Schlegel, 1849 (Kouakou et al., 2018) and *Oryctolagus cuniculus* (L. 1758) (Kouakou et al., 2019) with omega 3 from euphorbia. The EH plants, which are considered as weeds, have been harvested in Benin (Zinvie area) in cassava and maize plantations (Falodun et al., 2006). FO came from marine fishes and has been used to provide long-chain polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6n-3) to BSF larvae. In order to obtain homogeneous substrates and to facilitate ingestion by the larvae, the various ingredients were reduced to powder. The leaves and seeds of EH were dried in shade for three days. FO was dried in an electric oven (Heraeus, Lille, France) at 70°C for 24 hours. All ingredients were ground in an electric mill (David 4V, Italy).

Two experimental isolipidic diets VGD (vegetable diet, SM+EH+CO) and FOD (fish offal diet, SM+FO) were formulated from these ingredients and tested in triplicate on BSF larvae (Table 7). The diets were homogenized by mixing the ingredients and then moistened (70% water) in the larvarium designed. The control was chicken feed (CF) previously used to determine optimal load density. The larval load density was 2 larvae/g of feed. At the end of the experiment, prepupae were harvested and processed as described above. 100 g of prepupae meal was sampled from each diet for further nutritional analysis.

**Table 7:** Composition of formulated larval rearing diets.

Diet composition			
Diet	Ingredient	Inclusion (%)	Feed (g)
Control	CF	100	2000
	SM	77.74	
VGD	EH	15.00	2000
	CO	7.26	
FOD	SM	32.01	2000
	FO	67.99	

Nutritional composition			
Content	Control	VGD	FOD
CP	21.00	45.60	51.90
Lipid	5.60	10.0	10.00
C4:0	0.00	5.00	15.50
C14:0	0.00	0.00	3.50
C16:0	14.7	9.90	25.10
C16:1	0.00	0.20	7.30
C18:0	3.40	2.50	7.80
C18:1n-9	26.90	40.40	16.00
C18:2n-6	49.20	32.90	10.00
C18:3n-6	0.00	0.00	0.30
C18:3n-3	4.60	7.40	1.20
C20:0	0.40	0.40	0.40
C20:1n-9	0.30	0.80	0.90
C20:2	0.00	0.00	0.10
C20:3n-6	0.00	0.00	0.10
C20:4n-6	0.0	0.00	0.00
C20:3n-3	0.0	0.00	1.70
C20:5n-3	0.20	0.00	2.70
C22:6n-3	0.00	0.00	5.30
C24:0	0.20	0.00	1.40

Abbreviations: CF = chicken feed, SM = soybean meal, EH = *Euphorbia heterophylla*, CO = colza oil, FO = fish offal, CP = crude protein, VGD = vegetable diet, FOD = fish offal diet

## 2.7. Chemical analysis

Nutritional analyzes were done following the methods described by Caparros Megido et al. (2018). Dry matter content was determined by dehydrating samples in a drying oven at 105°C overnight. Ash contents were determined by incinerating samples in a muffle furnace heated to 550°C at a constant rate of 50°C every 30 min for 4 h and then cooling in a desiccator. Crude protein content was determined by the Dumas method (Rapid N Cube Elementar, Hanau, Germany) with a conversion factor of 4.76 from nitrogen to protein (Janssen et al., 2017). Fat content was determined by Folch extraction method as described by Paul et al. (Paul et al., 2015). Fatty acid profile was established by gas chromatography. Fatty acids of 10 mg lipids were transformed into fatty acid methyl esters with boron trifluoride (Sigma-Aldrich,

Overijse, Belgium) and methanol (VWR, Oud-Heverlee, Belgium). Fatty acid methyl esters were diluted in 8 ml hexane (VWR) and analysed with a Trace GC Ultra gas chromatogram (Thermo Fisher Scientific, Asse, Belgium). The temperature program was as follows: hold at 50°C for 1 minute, increase to 150°C at 30°C/min, increase to 240°C at 5°C/min, and hold at 240°C for 10 minutes. Fatty acid methyl esters were identified on the basis of their retention times compared to a reference mixture of 37 fatty acid methyl esters (Supelco 37 component FAME mix, Sigma-Aldrich, Overijse, Belgium). The relative percentage of each fatty acid was obtained by comparing the individual peak area with the sum of the peak areas of all identified compounds, using Chemstation software (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA).

## ***2.8. Financial evaluation of productions***

The total cost of inputs used for the production of fly meal was evaluated. The inputs consisted of the equipment (cages, trays, nests) and substrates used for the reproduction and larval rearing of the flies. These inputs have been categorized as fixed capital and circulating capital. The fixed capital represents the value of the tool used while the circulating capital indicates the raw materials entering the production. Labour was estimated based on the minimum wage for Beninese workers and the maximum amount of insect meal produced in one month. The maximum load-bearing capacity of the building was 200 larvaria. The evaluation of production cost was done by integrating the depreciation charges and made for 1 kg of BSF meal produced.

## ***2.9. Data processing***

The rate of degradation or substrate reduction (SR) was calculated with the formula:

$SR = (W - R) / W$ , where W is the total amount of chicken feed applied during the experiment and R is the residue at the end of the breeding.

Prepupae harvesting rate (PHR) was also calculated.

$PHR = 100 (HP / IP)$ , where HP is the number of harvested prepupae and IP is the initial number prepupae.

One-way ANOVA test (F) was carried out to compare the breeding parameters (survival rate, harvesting rate, meal quantity) between the different densities tested and the nutritional parameters (dry matter, crude protein, lipid, ash, fatty acids) between the different diets. Two-way ANOVA test (F) was carried out to test the interaction of density and substrate type on egg production. Least Significant Difference (LSD) were used to compare paired samples. When the conditions for applying ANOVAs test (normality of populations and homoscedasticity) were not met, Kruskal-Wallis tests (H) were applied, followed by comparison of paired samples by the Mann-Whitney test (W). Normal distribution was tested by Shapiro-Wilk's test and homoscedasticity was tested by Leven's test.

### 3. Results

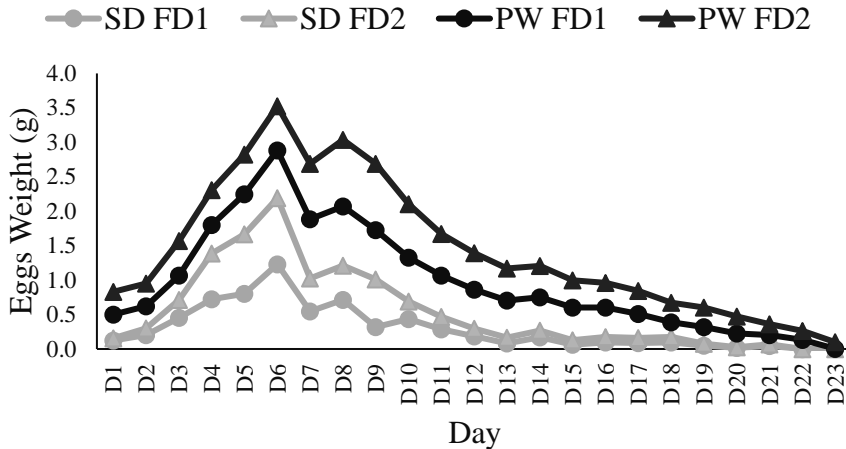
#### 3.1. Reproductive parameters of *Hermetia illucens*

##### 3.1.1. Ambient temperature and light duration

The atmospheric temperature during the experiment was  $26.8 \pm 0.48^\circ\text{C}$  and the average duration of sunlight exposure of was  $12\text{h}10\text{ min} \pm 2\text{ min}$ .

##### 3.1.2. Evolution of oviposition over time

Oviposition began 2 days after imago emergence and was controlled every day. The total oviposition period was 21 days for flies bred with SD and 23 days for flies bred with PW. Regardless of the fly density (FD1 or FD2) or the attractant substrate used, egg laying reached maximum egg production on day 6 (Figure 17). From day 8, egg-laying gradually decreased until the end of the experiment.



**Figure 17:** Temporal evolution of oviposition of *Hermetia illucens*. SD FD1= soybean dregs + fly density (8500 individuals/m<sup>3</sup>), SD FD2= soybean dregs + fly density (10500 individuals/m<sup>3</sup>), PW FD1= pineapple waste + fly density (8500 individuals/m<sup>3</sup>), PW FD2= pineapple waste + fly density (10500 individuals/m<sup>3</sup>).

##### 3.1.3. Variation of egg-laying and larval production according to densities and substrates

The highest egg and larval productions were recorded with pineapple waste under both density conditions (Table 8). The interaction between density and substrate has no significant impact on egg production ( $F_{1,260} = 1.22$ ;  $p = 0.27$ ).

**Table 8:** Production of eggs and larvae according to densities and substrates at the end of reproduction cycle. SD FD1= soybean dregs + fly density (8500 individuals/m<sup>3</sup>), SD FD2= soybean dregs + fly density (10500 individuals/m<sup>3</sup>), PW FD1= pineapple waste + fly density (8500 individuals/m<sup>3</sup>), PW FD2= pineapple waste + fly density (10500 individuals/m<sup>3</sup>).

Factor	SD-FD1	PW-FD1	SD-FD2	PW-FD2	Statistical analyses	p
Eggs (g/23days)	6.74 ± 0.82 <sup>a</sup>	10.14 ± 0.43 <sup>b</sup>	5.62 ± 1.13 <sup>a</sup>	10.43 ± 0.31 <sup>b</sup>	F <sub>1,260</sub> =20.1	< 0.001
Larvae (g/23days)	492.10 ± 17 <sup>a</sup>	701.13 ± 187.82 <sup>b</sup>	335.33 ± 30.66 <sup>a</sup>	726.4 ± 44.61 <sup>b</sup>	F <sub>1,8</sub> =28.1	< 0.001

Numbers with the same letters are not significantly different

### 3.2. Breeding parameters

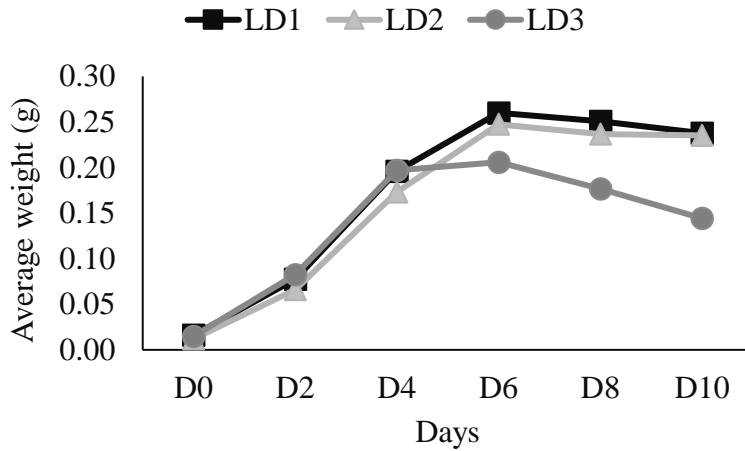
At the end of the larval development, the average prepupal weight was significantly higher in LD1 and LD2 (0.24 ± 0.05g) than for LD3 (0.14 ± 0.03, Table 9). In all density treatments, substrates reduction rate (SR) were equal or greater than to 50% and increased with density (Table 9). The maximum rate of prepupae harvested by the automated system was observed for LD1 (81.7 ± 5.75 %) and LD2 (71 ± 8.53 %) while containers at LD2 produced the maximum amounts of BSF meal (432.4 ± 54.36 g).

**Table 9:** *Hermetia illucens* breeding parameters.

Parameters	LD1	LD2	LD3	Statistical analyses	p
Prepupae weight	0.24 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>b</sup>	H <sub>2</sub> =319.41	p < 0.001
SR (%)	50 ± 7.32 <sup>b</sup>	82.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	85 ± 1.73 <sup>a</sup>	F <sub>2,6</sub> =59.22	p < 0.001
PHR (%)	82 ± 5.75 <sup>a</sup>	71 ± 8.53 <sup>a</sup>	38 ± 2.08 <sup>b</sup>	F <sub>2,6</sub> =43.00	p < 0.001
BSF meal (g)	255 ± 37.94 <sup>b</sup>	432.4 ± 54.36 <sup>a</sup>	289.3 ± 69.67 <sup>b</sup>	F <sub>2,6</sub> = 8.63	p = 0.02

Numbers with the same letters are not significantly different. LD = Larval density

During the 10 days of larval growth, the larvae reached their maximum weight on the sixth day: 0.26 ± 0.04 g, 0.25 ± 0.04 g, and 0.21 ± 0.03 g respectively for LD1, LD2, and LD3 (Figure 18). After day six, weight began to decline in all treatments till prepupal stage at day 10.



**Figure 18 :** Evolution of the average weight of the larvae of each treatment during the experiment. LD = Larval density.

### ***3.3. Prepupal weight and proximate composition of BSF reared on contrasted lipid diets***

The prepupal weight of larvae fed on control diet was higher ( $0.23 \pm 0.01$  g) than for larvae fed on plant-based diet (VGD,  $0.20 \pm 0.00$  g) and on fish offal diet (FOD,  $0.17 \pm 0.00$  g) (Table 10). Dry matter and crude protein contents of prepupae did not vary between diets while lipid was significantly higher in VGD diet compared to Control and FOD diets. Ash contents were higher in the control diet and lower in VGD diet (Table 10).



**Table 10:** Larval weight and nutritional parameters of BSF prepupae reared on vegetable diet (VGD) and on fish offal diet (FOD)

	Control	VGD	FOD	Statistical analyses	p
Prepupal weight (g)	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>c</sup>	H <sub>2</sub> = 7.8	p = 0.02
Dry matter (%)	35 ± 0.16 <sup>a</sup>	36.1 ± 0.56 <sup>a</sup>	36 ± 0.07 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 9.3	p = 0.05
Crude protein (% dry matter)	43.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	42 ± 1.54 <sup>a</sup>	45.1 ± 0.81 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 5.99	p = 0.09
Lipid (% dry matter)	23 ± 0.17 <sup>b</sup>	33 ± 2.21 <sup>a</sup>	27 ± 2.03 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 17.7	p = 0.02
Ash (% dry matter)	11 ± 0.07 <sup>a</sup>	7 ± 0.49 <sup>c</sup>	8 ± 1.41 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 1043	p < 0.001

Numbers with the same letters are not significantly different

### ***3.4. Fatty acids composition of BSF prepupae reared on contrasted lipid diets***

Whatever the breeding substrate, the lauric acid (C12:0) content is higher (at least 32% of total lipids in FOD) than all other fatty acids (Table 11). Moreover C12:0 as well as linoleic acid (C18:2n-6) are found in higher proportions in the control diet (44.07 ± 0.14 %) than in the two other diets. The highest concentrations of oleic acid (C18:1n-9) and  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n-3) are found in VGD, while the highest concentrations of long-chain polyunsaturated fatty acids, eicosapentaenoic acid (C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (C22:6n-3) are found in FOD. (Table 11).

**Table 11** : Fatty acids composition of black soldier fly prepupae reared on vegetable diet (VGD) and fish offal diet (FOD). Numbers with the same letters are not significantly different

<b>Fatty acid</b>	<b>Control</b>	<b>VGD</b>	<b>FOD</b>	<b>Statistical analyses</b>	<b>p</b>
C10:0	0.83 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.02 <sup>ab</sup>	F <sub>2,3</sub> = 6.82	p = 0.08
C12:0	44.1 ± 0.14 <sup>a</sup>	39 ± 1.49 <sup>b</sup>	32 ± 0.50 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 87.5	p < 0.001
C14:0	8.5 ± 0.07 <sup>a</sup>	6 ± 0.12 <sup>c</sup>	6.4 ± 0.01 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 630.7	p < 0.001
C14:1	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 543	p < 0.001
C15:0	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.02 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 2604	p < 0.001
C15:1	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 169.8	p < 0.001
C16:0	14 ± 0.14 <sup>b</sup>	8 ± 0.45 <sup>c</sup>	17 ± 0.44 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 302.2	p < 0.001
C16:1	2.3 ± 0.02 <sup>b</sup>	3 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.00 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 4811	p < 0.001
C17:0	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.71 ± 0.04 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 482.1	p < 0.001
C17:1	0.2 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.01 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 202.4	p < 0.001
C18:0	2.8 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.36 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.23 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 36.26	p = 0.01
C18:1n-9	13 ± 0.20 <sup>a</sup>	22.13 ± 0.32 <sup>b</sup>	18 ± 0.88 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 136.4	p < 0.001
C18:2n-6	13.4 ± 0.15 <sup>a</sup>	10.1 ± 0.28 <sup>b</sup>	6.2 ± 0.52 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 213.8	p < 0.001
C18:3n-3	1.13 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.3 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.04 <sup>c</sup>	F <sub>2,3</sub> = 978	p < 0.001
C20:1n-9	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 16.13	p < 0.001
C20:3n-3	0.1 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.03 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 1200	p < 0.001
C20:4n-6	0.1 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 25	p = 0.01
C20:5n-3	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.06 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 3025	p < 0.001
C22:2	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	F <sub>2,3</sub> = 57.33	p < 0.001
C22:6n-3	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.05 <sup>a</sup>	F <sub>2,3</sub> = 121	p < 0.001

### ***3.5. Evaluation of *Hermetia illucens* prepupal production costs***

This production cost assessment was carried out for 1 kg of BSF meal. Only one breeding cage, 4.63 kg of feed and 2 larvaria are needed to achieve this production. The costs of the various inputs used in the production of BSF meal are shown in Table 12. The total cost was \$333.32 for CF-based production, \$334.12 for HDV-based production, and \$331.6 for FOD-based production. The circulating capital made up of pineapple waste, diets and monthly labour represents 1.18%, 1.44% and 0.61% of the total capital for CF, VGD and FOD, respectively. All the material used in the manufacture of 1 larvarium and labour cost \$14.94. Once the rearing equipment is acquired, it would only take the circulating capital in each rearing cycle to produce 1 kg of BSF meal. In this case, it amounts to \$3.54, \$4.33 and \$1.84 per kg of BSF meal for CF, VGD and FOD respectively.

**Table 12 :** Total cost of inputs for the production of 1 kg of *Hermetia illucens* prepupae.

	Quantity	Unit Cost (USD)	Total (USD)	Service life (Year)	Depreciation (USD)	Costing (USD)
<b>Fixed Capital</b>						
Breeding cages	1	16.50	16.50	1	16.50	
Plastic containers for attractant substrate	1	0.84	0.84	1	0.84	
Wooden nests	1	1.70	1.70	1	1.70	
Wooden shelf	1	16.90	16.90	3	5.62	
Plastic containers for larvarium	2	5.90	11.80	2	5.90	
PVC pipe (50 cm)	1	3	3	2	1.50	
Silicone + Silicone gun	1	7.69	7.69	2	3.85	
Plastic bucket for prepupae harvesting	2	1	2	2	1.00	
Mosquito net	1	4.22	4.22	1	4.22	
Larvarium labour	2	3.70	7.40	2	3.69	
Freezer	1	276.93	276.93	10	27.69	
Blender	1	64.62	64.62	2	32.31	
Oven	1	2250	2250	10	225.00	
Total fixed capital					<b>329.78</b>	
<b>Circulating capital</b>						

Pineapple waste (Kg)	0.50	0.30	0.10	0	0.10	
Chicken feed (Kg)	4.60	0.6	2.70	0	2.70	
VGD	SM	3.60	0.5	1.80	0	1.80
	EH	0.70	0.10	0.10	0	0.10
	CO	0.30	4.60	1.60	0	1.60
Total VGD					3.50	
FOD	SM	1.50	0.50	0.70	0	0.70
	FO	3.10	0.10	0.30	0	0.30
Total FOD					1	
Labour force (\$/Kg/month)	1	0.74	0.74	0	0.74	
Total circulating capital (Chicken feed)					<b>3.54</b>	<b>333.3</b>
Total circulating capital (VGD)					<b>4.34</b>	<b>334.1</b>
Total circulating capital (FOD)					<b>1.84</b>	<b>331.6</b>

## 4. Discussion

Mass production of black soldier fly for fish farming will only be achieved by controlling the different stages of the insect life cycle (e.g. adult reproduction and larval growth) while reducing the feeding and the rearing structure costs.

### 4.1. *Black soldier fly artificial reproduction*

The main factor known to influence mating of BSF is sunlight (Tomberlin & Sheppard, 2002; Zhang et al., 2010). In this study, BSF were exposed to sunlight for about 12 hours a day, which is within the recommended optimum range (Holmes, 2010; Alvarez, 2012). In Benin, a tropical country where the sun is omnipresent, the reproduction of BSF is possible throughout the year without artificial light and will consequently reduce the production cost compared to temperate countries. Environmental temperature is another factor influencing egg laying in *H. illucens*. During this experiment, temperature was around  $26.8 \pm 0.48^\circ\text{C}$  corresponding to the optimal temperature between 26 and  $27^\circ\text{C}$  (Tomberlin & Sheppard, 2002). According to Holmes et al. (Holmes et al., 2012b), a relative humidity of around 70% guarantees a successful egg-laying and increase the longevity of adult flies. In this study, relative humidity was not measured but without a moistening system, we recommend watering the cages periodically during the day with a sprayer. For optimized reproduction, the density of 8500 ind/m<sup>3</sup> associated with a fermented substrate such as pineapple waste is therefore the best combination. This device produced an average of  $10.1 \pm 0.43$  g of eggs which corresponds to 187.8 g larvae g with an average weight of 0.01 g. However, these amounts obtained do not represent the entirety of eggs laid as losses are recorded. Females also lay eggs out of nests, especially on cage walls. The maximum quantity of eggs obtained by Hoc et al. (Hoc et al., 2019) was  $9 \pm 0.2$  g at the same density (8500 ind/m<sup>3</sup>) with a female-dominant sex-ratio in a cage volume of 0.091 m<sup>3</sup>. However, in term of productivity, it could be considered as lower in this study as the volume of the cages were around 0.22 m<sup>3</sup>. In our study, the density of 10500 ind/m<sup>3</sup> with unknown sex-ratio did not increase the quantity of eggs laid as recommended by previous authors. In addition to a potential sex ratio effect, this result could be explained by the nature of the attractant (i.e. fermented carrots in Hoc et al. (Hoc et al., 2019)). In this study, pineapple waste induced higher egg-laying than soybean meal and the laying time was prolonged in adults reared with pineapple waste (23 days). A constant egg production requires the maintenance of a steady number of adults but our results show that the egg production falls under 0.5 g per day after 15 days due to adult mortality. In order to keep the egg production profitable, an adult renewal is recommended after 15 days. It is therefore evident that the type of attracting substrate significantly influences the amount of eggs produced. This difference would be due to the volatile compounds released during the decomposition process of these substrates. Indeed, aldehyde compounds, alcohol, organic acids are released during the degradation process to stimulate the smell of the adults flies (Caruso et al., 2014). The aromatic profile of pineapple has already shown the presence of acetate and butyrate esters (Soler et al., 2005). Its decomposition would

surely produce the attractive odors to the adult fly. The hatching substrate used here is soybean meal. This moist substrate was chosen because it is obtained at low cost (\$ 0.12/1000 g) and its non-fibrous texture allows easy sorting of larvae after hatching. In order to find a possible correlation between substrate and hatching, future studies could test different substrates on egg hatching rates. In order to keep the same size of larvae in the tanks at the beginning of the rearing process, it is recommended to use different sized sieves for sorting. Heterogeneous sizes within the same tank led to differential development and bias feed ration calculations. Sieves with a mesh size of 2 mm are suitable for sorting larvae with an average weight of 0.01g.

## **4.2. Larvarium prototype**

The larvarium prototype that was designed seems very practical for insect producer because of its small size and its mobility. Moreover, all the material used in setting it up is available locally. The ramp planned for the exit of prepupae actually served this purpose. Automatic harvest rates varied from  $37.7 \pm 2.1$  to  $81.7 \pm 5.8$  % depending on the larval densities. This function allows the producer to avoid as much as possible the fastidious sorting of prepupae from the substrates. However, substrate moisture is the primary factor that prompts prepupae to migrate through the exit ramp. Prepupae prefer dry areas to initiate their pupation (Holmes et al., 2012b). Consequently, the ramp would only be effective for harvesting if moisture levels are high enough at the end of larval growth. However, this parameter is still poorly known. Some companies have already designed similar farming systems. In the United States, ProtaCulture has developed a composter called "BiopodPlus" preferentially used for breeding the BSF (Park, 2016). Being of larger dimensions (67.31 x 38.35 x 40.64 cm), it is also equipped with a self-harvesting system. The unit cost is relatively high (US \$ 200) while the larvarium proposed here is around \$14.94 including labour to build it. The proposed prototype has nevertheless some disadvantages. The transparency of the containers used could negatively influence larval development as larvae are known to be photophobic (Caruso et al., 2014). In addition, the resistance of the containers is low; which could limit their lifetime. Opaque and more robust containers could reduce the impact of these factors. For purposes of our experiment, the prepupae were collected in buckets from each container. In semi-industrial systems, it will be recommended to use of elbow- and T-shaped PVC in order to connect the containers to each other on the same shelf. Only one collection container would be needed on each shelf. For example, for a row of 4 larvaria, 1 elbow-shaped PVC, 3 T-shaped PVC and 1 PVC pipe of the same diameter would be required to arrange them.

## **4.3. Larval rearing**

Larval growth of *H. illucens* depends on several factors such as larval density, substrate moisture or feed quality (i.e. proteins or lipids) (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.;van Loon, 2017). Of the three densities tested in this study, those of 1 larva/g and 2 larva/g allowed better larval growth. However, the density of 2g/larva allows a higher rate of substrate decomposition ( $82.05 \pm 0.2\%$ ). This density is within the optimum "min. 0.1 and max. 3.33 larvae/cm<sup>2</sup> " recommended by Barragan-

Fonseca et al. (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.; van Loon, 2017). These authors' calculations consider the surface area of containers used in the various density works and the thickness of the substrates (1-2 cm). The 3.33 larvae/cm<sup>2</sup> corresponds in our case to 2 larvae/g, which is an easier expression of density. At this density, the control diet produced prepupae weighing  $0.24 \pm 0.03$  g which is similar to results from other studies where prepupal weight range from  $0.22 \pm 0.01$  to  $0.25 \pm 0.01$  g (Spranghers et al., 2017b; Lalander et al., 2019). BSF prepupae produced on local by-products were smaller ( $0.20 \pm 0.00$  g for VGD and  $0.17 \pm 0.00$  for FOD) but higher than prepupae fed with vegetable waste ( $0.14 \pm 0.04$  g) or prepupae fed with cow manure and fish offal ( $0.15 \pm 0.05$ g) (St-Hilaire et al., 2007; Spranghers et al., 2017). The nature of the different substrates characterized by their nutritional quality should explained these differences. Nevertheless, further studies are still needed to clearly identify the factors determining optimal growth of *H. illucens* larvae.

#### ***4.4. Nutritional composition of prepupae reared on contrasted lipid diet***

In order to evaluate the ability of BSF to effectively substitute fish meal and fish oil in tilapia feed, a larval enrichment experiment was conducted. According to Caruso et al. (Caruso et al., 2014), lipids will be the limiting factor for inclusion of BSF in fish feed. Consequently, particular attention was paid to the accumulation of valuable fatty acids in BSF in this study and feeds of animal and vegetable origin with interesting fatty acid profiles have been selected. For the plant-based diet VGD, a local species of Euphorbia (*Euphorbia heterophylla*) was used for its high level in LA (C18:2n-6) and ALA (C18:3n-3). Nevertheless, this species only grows in the rainy season in cassava or maize fields and its availability is still limited since it is considered a weed and not yet cultivated in Benin (Falodun et al., 2006). Consequently, it has been associated with rapeseed oil in order to reduce its incorporation rate. Concerning animal-based diet, fish offal (FOD) was used for their potential supply of EPA (C20:5n-3) and DHA (C22:6n-3). The total lipid contents of VGD ( $32.9 \pm 2.21\%$ ) and FOD ( $26.7 \pm 2.03\%$ ) prepupae clearly exceeds 10% requirement of Nile tilapia. The high lipid content could limit the incorporation rate of BSF meal in fish feed. This fat concentration may lead to problems in feed formulation or pellet storage and stability (Gasco et al., 2018). One solution would be a defatting of the BSF meal by physical or chemical extraction as used by Renna et al. (Renna et al., 2017b) for *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) feed production. This process will strongly influence the cost of production. Therefore, this important parameter for profitability will have to be taken in consideration before any decision will be made to do so. This step increases the insect protein content and enriched oil can be used for other purposes. The fatty acid composition of the prepupae shows a high presence of lauric acid (C12:0) independent of diet while it does not appear in the substrates. This finding has already been made in other studies (St-Hilaire et al., 2007; Oonincx et al., 2015; Spranghers et al., 2017; Ewald et al., 2020; Truzzi et al., 2020). Oonincx et al. (Oonincx et al., 2015) speculated that this fatty acid is biosynthesized by the larvae. This tendency of the larvae to prioritize this fatty acid could limit the rate of valorization of diets enriched in essential fatty acids (EFAs). Some EFA from



experimental diets were variably accumulated in BSF and their levels were positively correlated with those of the substrates. Linoleic (C18:2n-6;  $10.08 \pm 0.28$  %) and  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n-3,  $2.30 \pm 0.05$  %) are mainly provided by the VGD as already shown by Ooninx et al. (Ooninx et al., 2015) who obtained a significant accumulation of these two fatty acids (respectively  $17.1 \pm 0.35\%$  and  $1.5 \pm 0.02\%$ ) from vegetable diets (beet molasses, potato steam, spent grains, beer yeast, bread remains, cookie remains) with a lipid content of 9.5 %. Although the C18:2n-6 content of prepupae fed on FOD is lower than those fed on VGD, its content is also very high ( $6.19 \pm 0.52$  %). The prepupae from both diets largely meet the C18:2n-6 requirements of *O. niloticus* (0.5-1%). The essential long chain polyunsaturated fatty acids were only found in prepupae fed with marine fish offal (FOD). EPA and DHA contents are respectively around  $2.20 \pm 0.06$  and  $0.39 \pm 0.05$  %. These results are close to those of St Hilaire et al. (St-Hilaire, Cranfill, et al., 2007b). who managed to have 1.66 % EPA and 0.59 % DHA in prepupae from a 50 % inclusion of fish offal in their diet. Based on these results, an optimal diet could be formulated by including soybean meal, euphorbia and fish offal at a level of 10% of lipid. In order to eliminate the use of colza oil in an industrial production context, mass cultivation of *E. heterophylla* could be initiated in Benin. But some aspects should be taken into account. Studies have revealed toxic elements in this plant. Their chemical composition contains alkaloids, cyanides, tannins, flavonoids and saponins, which are toxic compounds (James et al., 2010; S.O. et al., 2012). This toxicity does not appear to affect BSF larval growth in the present study and may be related to the doses tolerated by the species. Moreover, the levels of toxicity are related to the nature of the plant samples used: fresh or dry (James et al., 2010). On the other hand, these compounds could be bioaccumulated in the prepupae and thus constitute a potential risk for the fish for which they are intended. These points constitute research tracks prior to a safe use.

Concerning other nutritional parameters, the protein content of prepupae was around  $43.4 \pm 0.16$  % for CF,  $41.6 \pm 1.54\%$  for VGD and  $45.08 \pm 0.81\%$  for FOD. These results are in the range (37-63%) of those found in other studies (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.; van Loon, 2017). These values show that in terms of protein, BSF prepupal meal can meet the 29% *O. niloticus* protein requirement. CF was better valued by BSF larvae in terms of protein, whereas there was a loss of protein in larvae from experimental diets. It is well known that CF is produced with high quality materials and optimized with nutritional supplements in order to ensure a better yield in chicken. It is used in this study for comparative purposes and cannot be recommended for BSF production. In addition to its high cost, its availability could be challenging for industrial production since its demand is already quite high for poultry. Dry matter contents of VGD ( $36.08 \pm 0.56\%$ ) and FOD ( $35.81 \pm 0.07\%$ ) prepupae are similar to those of Ooninx et al. (Ooninx et al., 2015) (33-36%) raised on agricultural by-products. Ash content ( $6.86 \pm 0.49$  % VGD;  $7.63 \pm 1.41$  % FOD) is, however, below the values ( $10.8 \pm 0.00\%$ ) of prepupae fed with vegetable waste by Spranghers et al. (Spranghers et al., 2017b).

#### ***4.5. Economic evaluation of production***

In order to determine the production cost of BSF meal, the equipment lifespan has been included as a depreciation factor. This factor was evaluated based on the experience of using the various inputs of working capital. To reduce the production cost, the option of a home-made breeding cage was evaluated. This breeding cage would be built from local materials consisting of mosquito netting and wood. Its design would cost \$16.5 based on market prices in 2020 instead of \$98.6 for the current plastic cage. Finally, prepupae were killed in the freezer, dried in an oven and then ground to obtain insect meal. Oven drying is not very suitable for mass production as it consumes energy and would influence the cost of production. As Benin is a tropical country, it would be interesting to test a drying process using sun. The effects of this drying method will have to be evaluated on the nutritional composition of the prepupae. Similarly, an alternative to the freezing method used to kill prepupae must be developed like the use of hot water for example.

The cost of a first production of BSF meal is almost the same for the 3 tested diets (\$333.3/Kg for CF, \$331.62/Kg for VGD and \$331.62/Kg for FOD). Considering only the circulating capital for future production, the VGD-based BSF meal is more expensive (\$3.5/Kg) than the other two and the FOD-based BSF meal is cheaper (\$1.84/Kg). However, these costs are only an approximation because the energy used by the oven, freezer and blender was not included in the calculation. In the experimental diet the SM and CO have a significant influence on the cost. The production cost can therefore be reduced by using other nutritionally valuable but low value-added substrates. Gougbedji et al.(Gougbedji et al., 2020) have listed agricultural by-products of interest in Benin for BSF breeding. The costs and availability of the by-products listed could direct future research towards substitutions that integrate the economic aspect of production.

In order to assess the profitability of *O. niloticus* farming, financial analyses based on the production of tilapia from BSF meal-based feed will have to be carried out.

### **5. Conclusion**

This study develops a breeding method for *Hermetia illucens* in Benin. The species can easily be reared under local conditions throughout the year. The proposed production technology can allow any farmer in animal sector to easily produce BSF larvae. It has also been shown that *H. illucens* breeding is a potential source of animal protein whose nutritional profile makes it possible to consider a substitution of fish meal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* feed. However, any production must include the economical factor beyond the viable biological model. Possible ways of reducing BSF flour production costs have been listed for a good profitability of the livestock industry.

## 6. References

- Agbohessou P.S., Mandiki S.N.M., Gougbedji A., Megido R.C., Hossain M.S., Jaeger P. De, Larondelle Y., Francis F., Lalèyè P.A. & Kestemont P., 2021. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. *Aquac. Nutr.* (November 2020), 1–17.
- Alvarez L., 2012. The Role of Black Soldier Fly , *Hermetia illucens*( L .) ( Diptera : Stratiomyidae ) in Sustainable Waste Management in Northern Climates.
- Arts M.T., Ackman R.G. & Holub B.J., 2001. “Essential fatty acids” in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58(1), 122–137.
- Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.;van Loon J.J.A., 2017. Nutritional value of the black soldier fly ( *Hermetia illucens*L .) and its suitability as animal feed – a review. *J. Insects as Food Feed* 3(2), 105–120.
- Barroso F.G., Sánchez-Muros M.J., Segura M., Morote E., Torres A., Ramos R. & Guil J.L., 2017. Insects as food: Enrichment of larvae of *Hermetia illucens*with omega 3 fatty acids by means of dietary modifications. *J. Food Compos. Anal.* 62(January), 8–13.
- Bondari K., Coastal D.C.S. & Experiment P., 1987. Soldier fly , *Hermetia illucens* L., larvae as feed for channel catfish , *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquac. Fish. Manag.* 18(1981), 209–220.
- Booth D.C. & Sheppard C., 1984. Oviposition of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): Eggs, Masses, Timing, and Site Characteristics. *Environ. Entomol.* 13(2), 421–423.
- Caparros Megido R., Poelaert C., Ernens M., Liotta M., Blecker C., Danthine S., Tyteca E., Haubruge É., Alabi T., Bindelle J. & Francis F., 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Res. Int.* 106(January), 503–508.
- Caruso D., Devic E., Subamia I.W., Talamond P. & Baras E., 2014. Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (*BSF*), IPB Press, Bogor, Indonesia, 141.
- Diener S., Zurbrugg C., Roa Gutiérrez F., Nguyen H.D., Morel A., Koottatep T. & Tockner K., 2011. Black soldier fly larvae for organic waste treatment - prospects and constraints. In: *WasteSafe 2011 2nd International Conference on Solid Waste Management in Developing Countries 1315 February 2011 Khulna Bangladesh.* 978–984.
- Ewald N., Vidakovic A., Langeland M., Kiessling A., Sampels S. & Lalander C., 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manag.* 102, 40–47.
- Falodun A., Okunrobo L.O. & Uzoamaka N., 2006. Phytochemical screening and anti-inflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of *Euphorbia*

*heterophylla* Linn (Euphorbiaceae). *African J. Biotechnol.* 5(6), 529–531.

FAO, 2018. *La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2018. Atteindre les objectifs de développement durable.*, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 261.

Gasco L., Gai F., Maricchiolo G., Genovese L., Ragonese S., Bottari T. & Caruso G., 2018. Fishmeal Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds. Springer, Cham, 1–28.

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Megido R.C., 2020. Inventaire des coproduits agricoles potentiellement utilisables pour la production de pupes de mouche *Hermetia illucens* (L. 1758) pour l'alimentation piscicole au Bénin. *Tropicultura* 38(3–4), 1–18.

Guillaume J., Sadasivam K., Pierre B. & Robert M., 1999. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Quae ed., 487.

Henry M., Gasco L., Piccolo G. & Fountoulaki E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203(1), 1–22.

Hoc B., Noël G., Carpentier J., Francis F. & Megido R.C., 2019. Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction. *PLoS One* 14(4), 1–13.

Holmes L., 2010. Role of Abiotic Factors on the Development and Life History of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (L.)(Diptera: Stratiomyidae). *Masters Abstr. Int.*

Holmes L.A., Vanlaerhoven S.L. & Tomberlin J.K., 2012. Relative Humidity Effects on the Life History of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) . *Environ. Entomol.* 41(4), 971–978.

James O. & Friday E.T., 2010. Phytochemical composition, bioactivity and wound healing potential of *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) leaf extract. *Int. J. Pharm. Biomed. Res.* 1(1), 54–63.

Janssen R.H., Vincken J.-P., van den Broek L.A.M., Fogliano V. & Lakemond C.M.M., 2017. Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Three Edible Insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *J. Agric. Food Chem.* 65(11), 2275–2278.

Kenis M., Bouwassi B., Boafo H., Devic E., Han R., Koko G., Koné N., Maciel-Vergara G., Nacambo S., Pomalegni S.C.B., Roffeis M., Wakefield M., Zhu F. & Fitches E., 2018. Small-Scale Fly Larvae Production for Animal Feed. In: Halloran, A., Flore, R., Vantomme, P., Roos, N. eds. *Edible Insects in Sustainable Food Systems*. Springer International Publishing, Cham, 239–261.

Kouakou N.D.V., Coulibaly S.B.M., Angbo-Kouakou C.E.M., Ahongo Y.D., Assidjo N.E. & Kouba M., 2019. Viande de lapin (*Oryctolagus cuniculus* L.) enrichie en oméga 3 avec un aliment contenant de l'euphorbe (*Euphorbia heterophylla* L.). *Rev. d'élevage médecine vétérinaire des pays Trop.* 72(3), 107.

Kouakou N.D.V., Grongnet J.F., Assidjo N.E., Thys E., Marnet P.G., Catheline D., Legrand P. & Kouba M., 2013. Effect of a supplementation of *Euphorbia heterophylla* on nutritional meat quality of Guinea pig (*Cavia porcellus* L.). *Meat Sci.* 93(4), 821–

826.

Kouakou N.D.V., Koffi K.F., Angbo-Kouakou C.E.M., Koné G.A., Kouassi G.F., Amoikon K.E. & Kouba M., 2018. Enrichissement en acides gras polyinsaturés oméga-3 du jaune d'œuf de cailles (*Coturnix coturnix japonica*) par les graines d'euphorbe (*Euphorbia heterophylla*). *Rev. d'élevage médecine vétérinaire des pays Trop.* 70(3), 99.

Lalander C., Diener S., Zurbrügg C. & Vinnerås B., 2019. Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). *J. Clean. Prod.* 208, 211–219.

Liland N.S., Biancarosa I., Araujo P., Biemans D., Bruckner C.G., Waagbø R., Torstensen B.E. & Lock E.-J., 2017. Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed-enriched media. *PLoS One* 12(8), e0183188.

NRC, 1994. Nutrient requirements of fish 1993. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 183(2), 299–300.

NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp, Washington, DC, 376.

Oliva-Teles A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 35(2), 83–108.

Oonincx D.G.A.B., van Broekhoven S., van Huis A. & van Loon J.J.A., 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLoS One* 10(12), e0144601.

Ortiz J.A.C., Ruiz A.T., Morales-Ramos J.A., Thomas M., Rojas M.G., Tomberlin J.K., Yi L., Hans R., Giroud L. & Jullien R.L., 2016. *Insects as Sustainable Food Ingredients*, Insects as Sustainable Food Ingredients, Elsevier, 153–201.

Park H.H., 2016. The Black Soldier Fly Larvae Manual, 13p.

Paul A., Frederich M., Uyttenbroeck R., Filocco S., Hatt S., Malik P., Monty A., Francis F., Blecker C. & Danthine S., 2015. Proximate Analysis of Seeds From Some Field. *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol.* XIX (September), 354–359.

ProCAD, 2017. rapport annuel du projet de productivité agricole en Afrique de l'ouest (ppaao benin ), 1–49.

PROVAC, 2012. Projet de vulgarisation de l'aquaculture continentale en République du Bénin, Lettre d'Information du PROVAC, 2.

Renna M., Schiavone A., Gai F., Dabbou S., Lussiana C., Malfatto V., Prearo M., Capucchio M.T., Biasato I., Biasibetti E., De Marco M., Brugiapaglia A., Zoccarato I. & Gasco L., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8(1), 1–13.

Rurangwa E., van den Berg J., Laleye P., van Duijn A. & Rothuis A., 2014. Mission exploratoire : Pêche, Pisciculture et Aquaculture au Bénin, un quick scan du secteur pour des possibilités d'interventions, 27.

James O. & Friday E., 2012. Phytochemical Screening, Cytotoxicity, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Stem and Leaf Extracts of *Euphorbia Heterophylla*.

*J. Biol. Life Sci.* 4(1), 24–31.

Sodjinou E., Mensah G.A. & Mongbo R.L., 2016. Aliments , ressources alimentaires et pratiques de nourrissage dans les exploitations piscicoles du Sud-Bénin, 63.

Soler A., Lebrun M. & Beauté M.-P., 2005. Caractérisation du profil aromatique de différentes variétés d'ananas par SPME en espace de tête / GC-FID. *Fruits* 60(5), 371–377.

Sprangers T., Ottoboni M., Klootwijk C., Ovyne A., Deboosere S., De Meulenaer B., Michiels J., Eeckhout M., De Clercq P. & De Smet S., 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J. Sci. Food Agric.* 97(8), 2594–2600.

St-Hilaire S., Cranfill K., McGuire M.A., Mosley E.E., Tomberlin J.K., Newton L., Sealey W., Sheppard C. & Irving S., 2007a. Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *J. World Aquac. Soc.* 38(2), 309–313.

St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R.W. & Sealey W., 2007. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* 38(1), 59–67.

Tomberlin J.K. & Cammack J.A., 2017. Black soldier fly: biology and mass production. In: van Huis, A., Tomberlin, J.K. eds. *Insects as Food and Feed from Production to Consumption*. Wageningen Academic, Netherlands, 231–246.

Tomberlin K.J. & Sheppard C.D., 2002. Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *J. Entomol. Sci.* 37(4), 345–352.

Truzzi C., Giorgini E., Annibaldi A., Antonucci M., Illuminati S., Scarponi G., Riolo P., Isidoro N., Conti C., Zarantoniello M., Cipriani R. & Olivotto I., 2020. Fatty acids profile of black soldier fly (*Hermetia illucens*): Influence of feeding substrate based on coffee-waste silverskin enriched with microalgae. *Anim. Feed Sci. Technol.* 259 (October 2019), 114309.

Zhang J., Huang L., He J., Tomberlin J.K., Li J. & Lei C., 2010. An artificial light source influences mating and oviposition of black soldier flies , *Hermetia illucens*. *J. Insect Sci.* 10(202), 1–7.



---

**Inclusion de la farine d'*Hermetia illucens*  
dans le régime alimentaire d'*Oreochromis  
niloticus***





## **Total replacement of fish meal by enriched black soldier fly meal: influence on growth parameters, chemical composition and digestive activity of Nile tilapia juveniles**

This chapter is a synthesis adapted from the following references

Agbohessou PS, Mandiki SN, **Gougbedji A**, et al. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole-body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. *Aquacult Nutr.* 2021; 00:1-17.

Agbohessou PS, Mandiki SN, **Gougbedji A**, et al. Efficiency of fatty acid-enriched Dipteran-based meal on husbandry, digestive activity and immunological responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *Aquaculture*, 2021; 545: 737193.

### **Abstract**

The evaluation of the effect of total substitution of fish meal by black soldier fly (BSF) meal in the feed on the zotechnical and nutritional performance of Nile tilapia was carried out through two different studies but performed under the same experimental conditions. In each study, fish were fed with isoprotein and isolipid diets based on BSF meal contrasted in polyunsaturated fatty acids (PUFA) and long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). Diets based on BSF meal grown on two different exclusively vegetable substrates (VGD1 and VGD2) were rich in linolenic acid (LA) and alpha-linoleic acid (ALA) respectively. Diets containing BSF meal raised on two different mixed plant + fish offal substrates (FOD1 and FOD2) had significant levels of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Diets containing fishmeal and fish oil, FMD1 and FMD2, were chosen as controls in studies 1 and 2. Juvenile fish were reared in fibreglass tanks mounted in an aquaculture recirculating system (RAS) including mechanical and biological water filtration systems with four replicates per diet for the first study and three for the second. After 59 and 60 days of rearing, fish survival rates were 98.3-100% and 96.7-100% for the first and the second experiment respectively. The growth performance of fish in the first experiment did not differ from controls, while a decrease was recorded in the second. The experimental diets were less digestible in dry matter than the control diets in both studies. The same trend was observed for protein digestibility

by fish in the first study, while only the VGD2 diets showed low digestibility in the second study. The PUFA levels in fish fed diets enriched with ALA or EPA were comparable to those of the FMD1 but are lower than FMD2 controls. These results demonstrate that BSF meal can completely replace FM without a substantial effect on growth. A well-defined PUFA enrichment protocol can avoid decreasing fish carcass FA quality induced by BSF meal. Nevertheless, the study of the long-term effects of the use of BSF meal during the growth phase is still necessary.

**Keywords:** *Hermetia illucens*, fatty acid enrichment, *Oreochromis niloticus*, growth, digestibility

## 1. Introduction

Fish meal (FM) and fish oil (FO) are essential inputs in fish feed formulations. Fishmeal represents the ultimate protein source due to its richness in essential amino acids. It is even more important as it provides long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs) such as arachidonic acid (ARA, C20:4n-6), eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6 n-3). These fatty acids (FA) play a vital role in the growth and health of fish and, by transfer, in humans. Over the last few years, the unbridled growth of the fish farming industry has led to increasing demand for these essential inputs for fish production (FAO, 2020). This has resulted in a gradual increase in FM and FO prices and fish feed. Beyond this ingredient's economic limitations, its use also suggests a significant and alarming ecological impact (Tschirner et al., 2017). Global stocks of pelagic ichthyofauna species would inevitably experience a dangerous decline. It became urgent to develop the research on adequate substitutes.

Insect meal offers the best profile for this replacement based on recent work. First of all, insects are part of the natural diet of fish (Howe et al., 2014); they are essential sources of amino acids, lipids, vitamins and minerals and their farming has a low ecological impact (Ooninx et al., 2012; van Huis, 2013). Moreover, some authors have shown the positive impact of an insect-based diet on fish immunity. Since 2007, the black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758)) is considered as one of the most promising species (Hua, 2021). It grows on a wide spectrum of organic residues and is able to convert them into high protein and fat body mass (Barragan-Fonseca et al., 2017).

The primary constraint of using insect meal (IM) as a substitute is its low content of LC-PUFAs (n-3) (Barragan-Fonseca et al., 2017). Insects cannot bio-convert small-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) to LC-PUFAs (Barroso et al., 2017). This deficit in PUFAs, if not supplemented in fish, can lead to a decrease in growth, feed efficiency, anemia and high mortality (Tocher, 2010; Olivotto et al., 2011; Piccinetti et al., 2012; Dumas et al., 2018). Similarly, low levels of LC-PUFAs can affect the health of the fish, leading to digestive tract deformities or a weakened immune system. (Ribeiro et al., 2015; Torrecillas et al., 2017). However, it has been shown that modulation of the BSF diet shows an accumulation of these fatty acids in the insect, especially in omega3 (Hoc et al., 2020).

Previous studies incorporating insect meal in fish feed have resulted in variable results whose discriminating parameters included the type of insect and its nutritional composition, the fish species, the inclusion rate, the experimental conditions. As an indication, the partial substitution of FM by *Tenebrio molitor* (L. 1758) did not affect the palatability of the feed of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L. 1758) but had a significant impact on its fatty acid composition (Sánchez-Muros et al., 2016). The same experiment showed a decrease in food utilization and growth compared to fish fed FM (Sánchez-Muros et al., 2014b). In contrast, partial substitution of FM with BSF meal had no significant effects on growth or feed efficiency but affected the fatty acid profile in *O. niloticus* (Devic et al., 2018a). Similarly, total or partial replacement of FM with BSF meal was shown to reduce the growth of juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), turbot, *Psetta maxima* (L. 1758) and zebrafish, *Danio rerio* (Buchanan-Hamilton, 1822), while it did not affect the feed intake and growth performance of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. 1758 and jian carp, *Cyprinus carpio* L. 1758 (Kroeckel et al., 2012; Li et al., 2017; Belghit et al., 2018; Zarantoniello et al., 2019; Adeoye. et al., 2020). In addition to growth performance and feed efficiency, the use of BSF meal also appears to affect protein digestibility by the fish. As example, the high levels of BSF (40-60%) in the diet of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) resulted in a pronounced reduction in apparent crude protein digestibility (Renna et al., 2017; Belghit et al., 2018; Nogales-Mérida et al., 2019).

Nile tilapia, a freshwater species with high economic potential, is widely farmed in Africa and Asia for human consumption (Liu, Wang, et al., 2017). It can bioconvert from dietary supplies alpha-linolenic acid (ALA) to EPA and then to DHA and linoleic acid (LA) to ARA through the enzymatic pathways of desaturation and elongation (Oliva-Teles, 2012).

This synthesis stems from two studies of inclusion of fatty acid enriched BSF meal in the diet of *O. niloticus* in Benin (Study 1: Agbohessou et al., 2021a) Study 2: (Agbohessou et al., 2021b). The aim is to evaluate the growth performance, flesh quality, nutrient digestibility and fatty acid metabolism of Nile tilapia juveniles fed these enriched diets.

## 2. Materials and Methods

Insect production and fish feeding tests were carried out at the Hydrobiology and Aquaculture Laboratory of the Faculty of Agronomic Sciences of the University of Abomey-Calavi in Benin. For fish experiments, procedures for animal care and management were performed according to the guidelines of the European (European directive 2010/63/UE)

### 2.1. Enrichment of black soldier fly meal

The rearing conditions and the production process of BSF meal are described in the works of Gougbedji et al. (2020) and Gougbedji et al. (2021).

Insect diets were modulated by formulating contrasting PUFAs substrates. BSF prepupae were produced from four experimental substrates: two plant-based (VGS1, VGS2) rich in LA and ALA and two fish offal-based (FOS1, FOS2) rich in EPA and DHA. The composition of the experimental diets is presented in Table 13.

**Table 13** : Composition of agricultural by-products in enriched substrates for insect larvae. VGS1 and FOS1 (Gougbedji et al., 2020) ; VGS2 and FOS2 (Gougbedji et al., 2021). VGS = vegetable substrate, FOS= fish offal substrate.

Agricultural by-products (%)	Study 1		Study 2	
	VGS1	FOS1	VGS2	FOS2
Corn bran	60	77	0	0
Cotton cakes	40	0	0	0
Soybean cake	0	0	77.7	32
Euphorbia leaves and seeds	0	0	15	0
Rapeseed oil	0	0	7,3	0
Fish offal	0	23	0	68

The proximal and FA compositions of BSF prepupae meal produced from the substrates in Table 13 are detailed in Table 14.

**Table 14 :** Chemical composition of black soldier fly prepupae meals produced on plant (VGS1 and VGS2) and animal (FOS1 and FOS2) substrates. VGS = vegetable substrate, FOS= fish offal substrate.

	Study1		Study 2	
	VGS1	FOS1	VGS2	FOS2
<b>Proximal composition (% dry matter)</b>				
Dry matter (DM)	34.57	32.53	36.08	35.81
Ashes	5.30	5.98	6.89	7.63
Protein	47.1	47.89	41.60	45.08
Lipid	27.7	26.75	32.92	26.71
<b>Fatty acid composition (% of total lipids)</b>				
C10:0	0.97	0.69	1.04	0.84
C12:0	50.16	43.35	38.94	32.00
C14:0	8.82	9.13	5.93	6.37
C15:0	0.00	0.00	0.20	0.58
C16:0	15.39	15.00	7.90	16.85
C17:0	0.00	0.00	0.20	0.71
C18:0	1.80	3.09	1.40	3.48
C22:0	0.41	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.00	0.00	0.00	0.00
Total saturated fatty acids	77.57	71.26	55.60	60.82
C14:1	0.00	0.00	0.19	0.26
C15:1	0.00	0.00	0.16	0.31
C16:1	3.85	2.79	2.60	0.59

C17:1	0.53	0.59	0.27	0.88
C18:1n-9	10.62	14.81	22.13	17.67
C20:1n-9	0.00	0.00	0.64	0.00
Total monoenes	15.01	18.20	25.56	19.42
C18:2n-6 (LA)	7.13	8.29	10.08	6.19
C20:4n-6 (ARA)	0.02	0.03	0.00	0.00
C22:2	0.00	0.00	0.26	0.00
Total n-6 PUFAs	7.14	8.32	10.34	6.22
C18:3n-3 (ALA)	0.12	0.23	2.30	0.52
C20:3n-3	0.06	0.23	0.00	0.91
C20:5n-3 (EPA)	0.00	1.38	0.00	2.20
C22:6n-3 (DHA)	0.00	0.37	0.00	0.39
Total n-3 PUFAs	0.7	2.21	2.30	4.02
Ratio n-3/ n-6	0.09	0.26	0.22	0.64

---

## **2.2. Facilities and Fish**

### **2.2.1. Experimental Diet**

For each of the two studies, two experimental diets (VGD1 and FOD1, VGD2 and FOD2) were formulated using enriched BSF flours, plant byproducts (soybean meal, wheat bran, corn bran), palm oil and amino-vitamin supplements. The plant-based BSF diets were rich in LA and ALA, whereas the fish offal-based BSF diets were rich in ALA and EPA. The control diets (FMD1 and FMD2) contained FM and FO as sources of protein and fat, respectively, in place of insect meal and palm oil. The inclusion rates of BSF meals correspond to 207.9 g/kg (VGD1) and 204.9 g/kg (FOD1) for the first study and 360.76 g/kg (VGD2) and 358.08 g/kg (FOD2) for the second study. The proximal and FOD compositions of the formulated diets are reported in Table 15. The plant ingredients were ground, heat-cooked and then homogeneously mixed with the other ingredients of the diet formula. Water was added gradually (35-40% of dry ingredients) to the mixed ingredients for 10 min. The mixture was then extruded through an extruder (BD-GP70, Henan BEDO Machinery Equipment, China) at a speed of 700RMP and a temperature adjusted to 90-95°C. The machine was fitted to adjust the pellet size (1.2-2.2 mm diameter) according to the size of the fish. The pellets were then dried under a fume hood at room temperature for 12 h and stored at -4°C.

### **2.2.2. Fish rearing and feeding**

For the first and the second studies, fish were reared for 59 and 60 days, respectively. The feeding experiment was carried out in a recirculating aquaculture system (RAS) including mechanical and biological water filtration systems. Water was equally aerated and exchanged at a 3-4 L/min flow rate. Water temperature and dissolved oxygen, checked daily, was ranged from  $27.90 \pm 1.38^\circ\text{C}$  to  $28.74 \pm 1.33^\circ\text{C}$  and  $6.03 \pm 0.97$  mg/L  $6.80 \pm 1.46$  mg/L, respectively. Nitrite and ammonia were monitored weekly and averaged  $0.09 \pm 0.03$  mg/L and  $0.08 \pm 0.004$  mg/L, respectively. Male sex-reversed Nile tilapia at early juvenile stage were acclimated to the experimental conditions for three weeks in fiberglass tanks. During this period, all fish were fed with a commercial tilapia diet (BIOMAR, INICIO Plus, 2mm) for the first two weeks and then with a mixture of experimental diets during the last week. Fish were hand fed to apparent satiation three times per day. The first experiment was performed in four replicates per diet with juveniles of the average initial weight of 7-12 g distributed randomly in the tanks. The second experiment was performed in three replicates with juveniles of  $6.57 \pm 0.07$  g. The loading density in each experiment was 30 fish per tank.



**Table 15 :** Proximal and fatty acid composition of experimental fish diets formulated with insect meal. FMD=fishmeal diet, VGS = vegetable diet, FOS= fish offal diet.

	Study 1			Study 2		
	FMD1	VGD1	FOD1	FMD2	VGD2	FOD2
<b>Proximal composition (% dry matter)</b>						
Dry matter (DM)	92.6	92.3	92.7	89.49	92.59	92.21
Ashes	8.3	6.7	7	8.31	8.25	8.54
Protein	31.4	31.6	31	33	33.68	33.5
Lipid	9.3	10.3	10.1	8.84	8.95	8.81
<b>Fatty acid composition (% of total lipids)</b>						
C4:0	7.57	0.01	0.06	0.00	0.00	0.00
C10:0	0.00	0.00	0.91	0.00	0.41	0.37
C12:0	0.00	33.13	38.75	0.46	20.76	16.7
C13:0	0.00	0.00	0.00	0.62	0.33	0.12
C14:0	1.49	5.29	5.93	1.08	4.5	4.24
C15:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.37
C16:0	24.12	18.67	15.41	25.24	20.96	29.37
C17:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.45
C18:0	3.45	2.36	2.19	3.54	2.59	3.46
C20:0	0.34	0.17	0.16	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.09	0.07	0.00	0.56	0.00	0.00
C24:0	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total saturated	37.44	59.7	63.41	31.5	49.55	55.08

C16:1n-7	0.00	1.57	1.54	1.15	1.12	0.46
C18:1n-9	33.99	19.29	16.61	29.23	26.3	24.28
C20:1n-9	1.54	0.45	0.32	1.53	0.00	0.38
C22:1n-9	0.72	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Total monoenes	36.24	21.31	18.47	31.91	27.42	25.12
C18:2n-6 (LA)	21.98	18.07	16.2	28.49	20.41	15.78
C18:3n-6	0.00	0.00	0.12	0.79	0.00	0.16
C20:2	0.25	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:2	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:3n-6	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:4n-6 (ARA)	0.05	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
Total n-6 PUFAs	22.36	18.31	16.34	29.36	20.41	15.94
C18:3n-3 (ALA)	2.09	0.56	0.63	2.61	2.41	1.21
C20:3n-3	0.10	0.04	0.13	0.00	0.00	0.49
C20:5n-3 (EPA)	0.8	0.05	0.75	1.65	0.00	1.21
C22:6n-3 (DHA)	0.87	0.00	0.24	2.37	0.00	0.10
Total n-3 PUFAs	3.87	0.61	1.75	6.63	2.41	3.01
n-3 / n-6 ratio	0.17	0.03	0.11	0.23	0.12	0.19

---

## **2.3. Data collection**

### **2.3.1. Growth performance and feed utilization**

To evaluate the growth performance and feed utilization, all fish were individually weighed at the experiment's beginning and end. Mortality was recorded daily.

Growth performance and feed utilization were determined using the following formulas:

$$\text{Relative weight gain (RWG, \%)} = 100 \times (W_f - W_i) / W_i$$

$$\text{Specific growth rate (SGR, \% per day)} = 100 \times [\ln (W_f) - \ln (W_i)] / \Delta t$$

$$\text{Feed intake (FI)} = FC / (N \times \Delta t)$$

$$\text{Feed efficiency (FE)} = (FB - IB) / TFI$$

$$\text{Protein efficiency ratio (PER)} = \text{weight gain (g)} / \text{protein intake (g)}$$

$$\text{Survival (\%)} = 100 \times (\text{number of final survivors per tank} / \text{initial number per tank})$$

where  $W_i$  and  $W_f$  represent the initial and final body mass (g),  $\Delta t$  is the duration of the experiment,  $FC$  is the feed consumption per tank (g),  $N$  is the number of fish per tank,  $IB$  and  $FB$  are the initial and final biomass per tank (g) and  $TFI$  is the total feed intake (g).

### **2.3.2. Sample collection**

At the beginning of the experiment, ten fish were randomly euthanized by immersion in ethyl-aminobenzoic acid (MS222: 240 mg/L) solution for analysis of initial whole-body composition. At the end of the feeding trials, the total number of fish and their body weight were recorded to determine the survival rate (SR) and specific growth rate (SGR). At the end of the growth trials, fish were starved for 24 h prior to the final sampling. Seven fish were randomly sampled in each tank and anesthetized with MS222 (120 mg/L, Sigma). From this sample, three fish were frozen at  $-20^\circ\text{C}$  for the analysis of whole-body composition. Blood was collected for plasma from the caudal vein of 4 fish in each replicate tank using heparinized syringes. Muscle were removed and frozen on dry ice after dissection and then stored at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis to determine the fish's fatty acid composition and the expression of lipid metabolism.

### **2.3.3. Proximate analysis**

Crude protein content in whole-body fish (only for the first study) was estimated according to the Kjeldahl distillation method after digestion of the samples with sulphuric acid (Kirk, 1950). A protein-to-nitrogen conversion factor of 6.25 was used for the feed and whole-body fish samples (Mariotti et al., 2008). Dry matter and ash were identified from three fish per tank pooled and homogenized with a mixer. Dry matter in fish homogenate was calculated from weight loss after drying in an oven at  $105^\circ\text{C}$  for 24 h, while ash content was calculated from weight loss after combustion of samples in a muffle furnace at  $550^\circ\text{C}$  for 12 h.

### 2.3.4. Fatty acid analysis

The fat content of fish was determined according to Folch et al. (1957). In the first study, lipids were analyzed in the fish's whole body, dorsal muscles were examined in the second study. For simplicity in the rest of the document, lipids will be expressed in fish. The fatty acid composition of the total homogenates of 3 fish per tank were estimated by gas chromatography (GC). Ten milligrams of lipids were converted into fatty acid methyl esters by reaction with boron trifluoride (Sigma-Aldrich, Overijse, Belgium) and methanol (VWR, Oud-Heverlee, Belgium) (Beccaria et al., 2016; Hoc et al., 2020). Fatty acid methyl esters were diluted in 8 ml of hexane (VWR) and analyzed with a Trace GC Ultra gas chromatogram (Thermo Fisher Scientific, Asse, Belgium), equipped with a split/splitless injector (240.0 °C) in splitless mode (splitless time: 0.85 min) and a flame ionization detector (250.0 °C). A Stabliwax DA column (Restek Corp, Bellefonte, PA, USA) (30.00 m × 0.25 µm × 0.25 mm in length × thickness × diameter) was used for the analysis. The temperature program was as follows: 50.0 °C (hold 1 min), increase to 150.0 °C at 30.0 °C/min, increase to 240.0 °C at 5.0 °C/min (hold 10 min). Fatty acid methyl esters were identified based on their retention data compared to a reference mixture of 37 fatty acid methyl esters (Supelco® 37 component FAME mix, Sigma-Aldrich, Overijse, Belgium) analyzed under the same conditions. The quantification of compounds was realized by comparing their areas with the internal standard using a response factor of 1. Data were elaborated using Chemstation software (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

### 2.3.5. Digestibility assessment

For the first study, a digestibility trial was conducted simultaneously of the growth trial. 320 fish ( $20.90 \pm 4$  g) were randomly distributed into tanks at the density of 40 fish per tank, whereas two replicate tanks per dietary treatment were used. For the second, the digestibility trial was carried out on the same fish used for the growth test but one month after the feeding with the different diets. Fish were fed a diet containing chromium oxide (Sigma, Adrich) serving as the inert marker at a level of 1% ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ,  $10\text{g kg}^{-1}$ ) to the previous formulation and fed to the fish under the same conditions as the growth experiment. One week after acclimation to the new diets, feces were collected with a siphon twice daily in the morning and afternoon for three weeks. Feces rapidly settled on the bottom of the tank and remained largely intact so that nutrient and marker losses were minimized. The feed pellets rejected by the fish were carefully removed before feces collection. Sufficient amounts of feces were collected, freeze-dried, and immediately kept at -20 °C until analysis. The concentration of chromium oxide in diets and feces was determined according to Furukawa & Tsukahara (1966).

$ADC_{DM}$  : Apparent dry matter digestibility =  $100 - 100 \left( \frac{\% \text{ marker in diet}}{\% \text{ marker in feces}} \right)$

$ADC_{protein}$ : Apparent digestibility of protein (%) =  $100 - 100 \left( \left( \frac{\% \text{ marker in diet}}{\% \text{ marker in feces}} \right) \times \left( \frac{\% \text{ protein in feces}}{\% \text{ protein in diet}} \right) \right)$

$ADC_{lipid}$  : Apparent digestibility of lipid (%) =  $100 - 100 \left( \left( \frac{\% \text{ marker in diet}}{\% \text{ marker in feces}} \right) \times \left( \frac{\% \text{ lipid in feces}}{\% \text{ lipid in diet}} \right) \right)$

### **3. Results**

#### ***3.1. Growth performances and feed utilization***

Growth, feed utilization, and survival results are summarized in Table 16. Growth parameters (final mean weight, RWG and SGR) of tilapia in the first study did not differ between fish fed BSF diets (VGD1 and FOD1) and those fed FMD1. However, in the second study, fish fed the experimental diets (VGD2 and FOD2) showed lower growths than the control (FMD2). However, the growths of the fish reared on the experimental diets remained identical to each other. Similarly, there was no difference between the first study's feed efficiencies (FE). However, the FE of the experimental diets in study 2 differs from that of the control diet. The feed intakes (FI) of fish fed VGD1 and FOD1 are lower than the FI of FMD1, while no difference is noted for study 2. For both studies, the protein efficiency rates (PER) of FMD1 and FMD2 are significantly higher than the PERs of the experimental diets equal to each other. For any study, the experimental diets did not affect the survival rate of the fish.

**Table 16 :** Growth performance, feed utilization and survival of juvenile Nile tilapia fed with fish meal diet (FMD1, FMD2) or BSF meal diet (VGD1, VGD2, FOD1, FOD2) enriched with LC-PUFAs. FMD=fishmeal diet, VGS = vegetable diet, FOS= fish offal diet.

Parameters	Study 1			Study 2		
	FMD1	VGD1	FOD1	FMD2	VGD2	FOD2
Initial body weight (g)	9.17 ± 0.02	9.18 ± 0.01	9.19 ± 0.01	6.55 ± 0.05	6.55 ± 0.02	6.62 ± 0.07
Final body weight (g)	53.14 ± 0.62	42.56 ± 0.41	42.69 ± 0.23	47.84 ± 1.64 <sup>a</sup>	37.52 ± 1.98 <sup>b</sup>	36.69 ± 0.59 <sup>b</sup>
Relative weight gain (RWG, %)	479.35 ± 7.43	363.68 ± 4.38	364.45 ± 2.98	630.40 ± 26.66 <sup>a</sup>	472.51 ± 29.07 <sup>b</sup>	454.20 ± 7.88 <sup>b</sup>
Specific growth rate (SGR, % of <sup>-1</sup> )	2.98 ± 0.02	2.60 ± 0.02	2.60 ± 0.01	3.31 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.91 ± 0.08 <sup>b</sup>	2.85 ± 0.02 <sup>b</sup>
Feed intake (FI, g/fish/day)	0.79 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.71 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.01	0.73 ± 0.05	0.71 ± 0.004
Feed efficiency (FE)	0.94 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.94 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.02 <sup>b</sup>
Protein efficiency ratio (PER)	3.00 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.51 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.54 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.85 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.11 ± 0.29 <sup>b</sup>	2.10 ± 0.05 <sup>b</sup>
Survival rate (%)	100 ± 0.00	99.16 ± 0.83	98.33 ± 0.96	97.78 ± 1.92	96.67 ± 3.33	100 ± 00

Numbers with the same letters are not significantly different (p <0.05).

## 3.2. Whole-body biochemical composition

### 3.2.1. Protein and total lipid contents

The results of proximal fish composition are from the first study only (Table 17). Dry matter and protein levels showed no significant difference between fish fed with the different diets. Lipid contents of fish fed FMD1 were lower than the other two, which did not differ. The highest ash percentages were recorded with FMD1 and then with VGD1.

**Table 17 :** Whole-body composition of Nile tilapia juveniles fed fish meal diet (FMD1) or BSF meal diet (VGD1, FOD1) enriched with LC-PUFAs. FMD=fishmeal diet, VGS = vegetable diet, FOS= fish offal diet.

Composition (% dry matter)	Study 1		
	FMD1	VGD1	FOD1
Dry matter	25.87 ± 0.51	26.19 ± 0.58	25.70 ± 0.80
Protein	57.73 ± 0.5	57.69 ± 0.11	56.42 ± 0.40
Total lipid	21.26 ± 0.57 <sup>b</sup>	26.46 ± 0.74 <sup>a</sup>	25.67 ± 0.17 <sup>a</sup>
Ash	3.79 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.11 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.26 ± 0.22 <sup>c</sup>

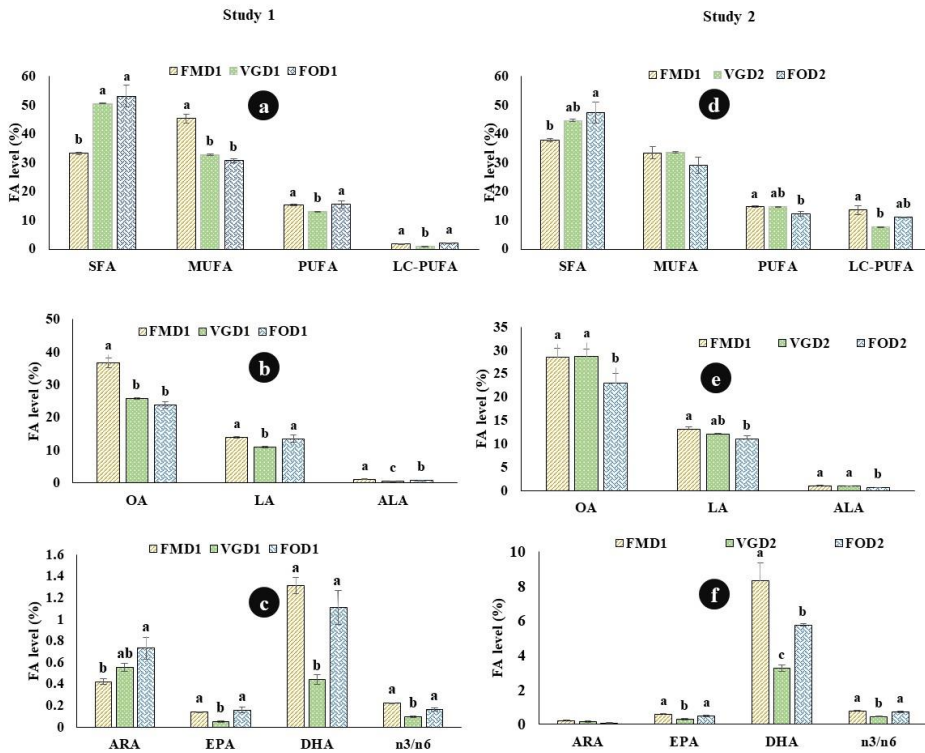
Numbers with the same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 3.2.2. Fatty acid metabolism

Both studies' saturated fatty acid (SFA) levels were comparable between fish fed the BSF meal-based diets but much higher than controls (Figure 19a,d). Similarly, there was no difference in monounsaturated fatty acids (MUFA) between fish fed the experimental diets. Only the levels of MUFAs of the controls in Study 1 were higher than the others.

Looking at the PUFAs and LC-PUFAs levels in Study 1 (Figure 19a-c), only fish fed the VGD1 diet had lower proportions of LA, ALA, EPA, DHA, total PUFAs, LC-PUFAs, and n3/n6 compared to FMD1 fish, while the level of ARA was not affected. These levels are also low compared to FOD1-fed fish.

In Study 2 (Figure 19d-f), PUFAs levels in fish fed FOD2 had lower ALA concentrations than those fed VGD2 and FMD2 diets. LA levels were lower in FOD2-fed fish than FMD2-fed fish, but comparable with values for VGD2-fed fish. For LC-PUFAs, no differences were observed in fish ARA levels. For EPA, values were comparable between fish fed FOD2 and the control diet. The lowest values were recorded for those fed VGD2. DHA levels were highest in the FMD2 fish followed by FOD2 and VGD2. The lowest n3/n6 ratio was recorded in VGD2 fish.



**Figure 19 :** Fatty acid contents of fish fed different diets. (a,d) Combination of different fatty acids by group (saturated or unsaturated). (b,e) Unsaturated fatty acids in C18. (c,f) Long-chain polyunsaturated fatty acids.

### 3.3. Nutrient digestibility

In both studies, apparent dry matter digestibility ( $ADC_{DM}$ ) values were higher in fish fed the control diets while they did not differ in fish fed the experimental diets (Table 18). The highest  $ADC_{protein}$  values were found in fish fed the FMD1 diet and the lowest in fish fed the FOD1 diet in the first study. In the second study, the difference was only found for this parameter between fish fed FMD2 and those fed VGD2. The  $ADClipid$  did not differ between fish in study 1 regardless of diet. In study 2, the difference in  $ADClipid$  exists only between fish fed FMD2 and VGD2.



**Table 18 :** Apparent digestibility coefficients (ADC) of nutrients in Nile tilapia juveniles fed fish meal or BSF larval meal. FMD=fishmeal diet, VGS = vegetable diet, FOS= fish offal diet. ADC<sub>DM</sub> = Apparent dry matter digestibility, ADC<sub>protein</sub> = Apparent digestibility of protein, ADC<sub>lipid</sub> = Apparent digestibility of lipid

		ADC <sub>DM</sub> (%)	ADC <sub>protein</sub> (%)	ADC <sub>lipid</sub> (%)
<b>Study1</b>	<b>FMD1</b>	66.3 ± 1.4 <sup>a</sup>	88.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	90.39 ± 0.1
	<b>VGD1</b>	57.3 ± 0.9 <sup>b</sup>	81.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	90.80 ± 1.8
	<b>FOD1</b>	57.1 ± 0.3 <sup>b</sup>	77.9 ± 0.2 <sup>c</sup>	90.06 ± 0.3
<b>Study2</b>	<b>FMD2</b>	74.8 ± 2.6 <sup>a</sup>	89.5 ± 1.3 <sup>a</sup>	93.94 ± 1.0 <sup>a</sup>
	<b>VGD2</b>	62.9 ± 7.7 <sup>b</sup>	71.5 ± 8.9 <sup>b</sup>	87.48 ± 2.6 <sup>b</sup>
	<b>FOD2</b>	66.7 ± 5.1 <sup>b</sup>	81.1 ± 5.9 <sup>ab</sup>	91.28 ± 0.9 <sup>ab</sup>

## 4. Discussion

### 4.1. Effects of PUFAs enriched larval meals on growth related parameters

In the two studies presented in this paper, the replacement of FM with BSF meal did not affect fish survival. It could be argued, a priori, that BSF meal does not degrade the health status of fish.

Fishmeal replacement was total in both studies. Although the tests were conducted under the same experimental conditions, the decrease in growth was only noted in the second study. It may be related to a slight increase of the BSF meal level inclusion in the second case. The change from the average level of incorporation of BSF flour in the first study ( $206.1 \pm 2.55$  g/kg) to the second ( $225.60$  g/kg) corresponds to an increase of 8.64 %. A reduction in growth has already been observed by Kroeckel et al. (2012), who reported a negative effect on juvenile *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) when the amount of BSF meal in the diet was increased from 330 to 756 g/kg of feed. High incorporation of insect meal in the diet of fish can result in high levels of chitin (Barroso et al., 2014) which can interfere with digestive processes and thus decrease feed efficiency and feed intake with a subsequent negative effect on growth. Other authors have already corroborated the results of the first study. The total replacement of FM with a BSF protein meal but combined with fish oil showed no negative impact on the growth of Atlantic salmon, *Salmo salar* Linnaeus, 1758 (Belghit et al., 2019a). Further research on tilapia juveniles showed that both meals of housefly larvae, *Musca domestica* Linnaeus, 1758 and blowfly larvae *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) could replace up to 100% of FM in practical diets for tilapia fry without affecting fish growth performance (Ogunji et al., 2008; Ogunji et al., 2008; Sing et al., 2014).

Furthermore, the lack of a positive effect of BSF meal enrichment with FA on fish growth in both studies has already been demonstrated. Dietary supplementation with ALA-rich flaxseed oil for 45 days did not affect the growth performance of adult tilapia (Tonial et al., 2009). High dietary PUFAs (n-3) has been shown to reduce the growth of hybrid tilapia (*O. niloticus* × *O. aureus*) (Huang et al., 1998) and that ALA>1% decreased the growth of blue tilapia (Stickney, R.R. McGeachin, 1983). Similarly, the use of conjugated ALA between 0.5-1.0% and 0.5-2.5% at the expense of soybean oil and fish oil, respectively, did not significantly affect the growth performance or feed utilization of Nile tilapia (Dos Santos et al., 2011; Luo et al., 2012). The work of Nguyen et al. (2020) confirms this. The growth performance of juvenile common carp increased with total replacement of fish oil with ALA and DHA deficient sesame oil. The lack of positive effects of dietary supplementation of PUFAs or LC-PUFAs on growth could be due to differences in the doses used or to interference with the high endogenous ability of these species to biosynthesize LC-PUFAs. In salmonids such as rainbow trout, it has been reported that a DHA-enriched diet improved juvenile growth performance compared to an ALA-enriched diet (Cornet et al., 2018). From the two studies presented in this paper, only enrichment of BSF larval meal with both, PUFAs and LC-PUFAs could provide a good substitute for FM and FO in the diet of Nile tilapia. The physical properties, carbon chain length and degree of unsaturation of the PUFAs combinations, especially the inclusion of DHA, could explain the positive effect on growth performance. Indeed, DHA plays only a minor role as an energy source but rather strongly influences the flexibility and fluidity of the membranes while reducing their thickness Hishikawa et al. (2017). It has been shown that membrane water permeability was improved when cell membranes were composed of PUFAs bilayers compared to monounsaturated bilayers (Huster et al., 1997; Cornet et al., 2018).

#### ***4.2. Effects of PUFAs enriched black soldier fly meal on digestibility***

Total substitution of FM with BSF meal decreased dry matter digestibility in both studies regardless of PUFAs or LC-PUFAs enrichment. Protein digestibility followed the same trend in the first study. Previous studies have reported that the exoskeleton of BSF prepupae contains significant amounts of chitin polysaccharide (approximately 87.0 g/kg, DM) that could affect digestibility and utilization of other nutrients (Shiau et al., 1999; Kroeckel et al., 2012b). Other authors have reported lower ADC<sub>protein</sub> values for Nile tilapia fed with housefly meal than fish fed with FM (Ogunji et al., 2009). It has also been reported that inclusion of chitin at inclusion levels of 1% or more in diets decreased feed intake and growth in carp, hybrid tilapia (*O. niloticus* × *O. aureus*) and Atlantic salmon. (Shiau et al., 1999; Gopalakannan et al., 2006; Olsen et al., 2006). Thus, a possible high presence of chitin could have affected protein digestibility and lipid protein-sparing activity because no effect of ALA or EPA enrichment was observed. In the first study, BSF meal enriched with PUFAs or LC-PUFAs did not influence lipid digestibility. However, lipid digestibility values were, in general, high and comparable or even higher than values obtained for tilapia fed other protein sources, such as soybean meal, rapeseed meal, sunflower

meal, corn gluten meal, hulled flaxseed, poultry byproduct meal and distillers grains (Borgeson et al., 2006; Tran-Ngoc et al., 2019).

Only the VGD2 diet induced low protein and fat digestibility in the second study. This diet had high levels of SFAs and was devoid of EPA and DHA with a meager n-3/n-6 ratio, which could reduce nutrient digestibility. The limited digestibility of lipids in poor quality phospholipid oil sources has been previously reported (Caballero et al., 2003; Menoyo et al., 2003; Teoh et al., 2011). It has also been documented that the marine microalgae *Schizochytrium* sp with high lipid and unsaturated fatty acid contents induce high lipid ADC in Nile tilapia (Sarker et al., 2016). In addition, the levels of palm oil (containing palmitic acid) added in the different diets may have altered the level of SFAs, thus affecting the overall fat digestibility.

### **4.3. Effects of PUFAs enriched black soldier fly meal on fish fatty acid metabolism**

The first study showed that fish fed the VGD1 diet were lower in LA and ALA than controls or fish fed diets of BSF enriched with FA (FOD2), despite the recommended adequate dietary intake (NRC, 2011). Nevertheless, these VGD1 fish had a level of ARA comparable to that of FMFO control fish, indicating a high endogenous capacity to produce ARA from the bioconversion of dietary LA intake (Tocher et al., 2003). Although the VGD1 diet did not contain EPA and DHA, the carcasses of fish fed this diet contained these essential fatty acids, confirming an efficient endogenous production capacity of EPA and DHA from ALA reserves. These observations confirm that Nile tilapia has a high active capacity to biosynthesize LC-PUFAs from dietary precursors or endogenous stores, as Stoneham et al. (2018) reported on the same species fed with algae. Regarding FA enrichment, the FOD1 diet induced higher ARA levels in fish than those fed the FMD1 diet or the VGD1 diet. In addition, EPA and DHA levels in fish fed the FOD1 diet were higher than those in fish fed the VGD1 diet and comparable to those in fish fed the FMD1 diet, indicating a definite human health benefit of the FA enrichment in BSF meal.

In contrast to the first study, the muscle levels of LA or ALA in fish fed the VGD2 diets were higher than those fed the FOD2 diets and comparable or close to those of FMF2 control fish. This finding is all the more surprising since dietary levels of LA and ALA were similar and are known to be precursors of LC-PUFAs in fish such as Nile tilapia (Tocher et al., 2001; Tocher, 2015; Sourabié et al., 2018; Stoneham et al., 2018; Nguyen et al., 2020). This low valuation of dietary PUFAs in the VGD2 diet could be due to the higher levels of SFAs in this diet. The high inclusion of BSF in the rainbow trout diet increased SFAs and consequently decreased the ALA, EPA and DHA content of the fish fillets. (St-Hilaire, Sheppard, et al., 2007b). The same ARA, EPA and DHA biosynthetic abilities identified in the first study were also detected in the second.

## 5. Conclusion

The experiments carried out in both studies found that the total substitution of fishmeal by black soldier fly meal does not affect the overall growth performance of Nile tilapia as long as the incorporation levels are not very high. These studies also showed that by enriching with PUFAs and LC-PUFAs, it was particularly possible to raise ALA, EPA, and DHA levels in the fish. Besides, the use of BSF meal as a complete fishmeal substitute needs to be further investigated as it may reduce the digestibility of some nutrients.

## 6. References

Adeoye. A.A., Akegbejo Samsons Y., Fawole F.J. & Davies S.J., 2020. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *J. World Aquac. Soc.* 51(4), 1024-1033.

Agbohessou P.S., Mandiki S.N.M., Gougbedji A., Megido R.C., Hossain M.S., De Jaeger P., Larondelle Y., Francis F., Lalèyè P.A. & Kestemont P., 2021. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole body biochemical quality of Nile tilapia juveniles.

Agbohessou P.S., Mandiki S.N.M., Gougbedji A., Megido R.C., Lima L.-M.W., Cornet V., Lambert J., Purcaro G., Francis F., Lalèyè P.A. & Kestemont P., 2021. Efficiency of fatty acid-enriched dipteran-based meal on husbandry, digestive activity and immunological responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *Aquaculture* 545, 737193.

Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.; van Loon J.J.A., 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed - a review. *J. Insects as Food Feed* 3(2), 105-120.

Barroso F.G., Haro C. De, Sánchez-muros M., Venegas E., Martínez-sánchez A. & Pérez-bañón C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422-423, 193-201.

Barroso F.G., Sánchez-Muros M.J., Segura M., Morote E., Torres A., Ramos R. & Guil J.L., 2017. Insects as food: Enrichment of larvae of *Hermetia illucens* with omega 3 fatty acids by means of dietary modifications. *J. Food Compos. Anal.* 62(January), 8-13.

Beccaria M., Oteri M., Micalizzi G., Bonaccorsi I.L., Purcaro G., Dugo P. & Mondello L., 2016. Reuse of Dairy Product: Evaluation of the Lipid Profile Evolution During and After Their Shelf-Life. *Food Anal. Methods* 3143-3154.

Belghit I., Liland N.S., Gjesdal P., Biancarosa I., Menchetti E., Li Y., Waagbø R., Krogdahl Å. & Lock E.-J., 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 609-619.

Belghit I., Liland N.S., Waagbø R., Biancarosa I., Pelusio N., Li Y., Krogdahl Å. & Lock E.-J., 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*).

*Aquaculture* 491, 72-81.

Borgeson T.L., Racz V.J., Wilkie D.C., White L.J. & Drew M.D., 2006. Effect of replacing fishmeal and oil with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 12(2), 141-149.

Caballero M., Izquierdo M., Kjørsvik E., Montero D., Socorro J., Fernández A. & Rosenlund G., 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225(1-4), 325-340.

Cornet V., Ouaach A., Mandiki S.N.M., Flamion E., Ferain A., Van Larebeke M., Lemaire B., Reyes López F.E., Tort L., Larondelle Y. & Kestemont P., 2018. Environmentally-realistic concentration of cadmium combined with polyunsaturated fatty acids enriched diets modulated non-specific immunity in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 196, 104-116.

Devic E., Leschen W., Murray F. & Little D., 2018. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquac. Nutr.* (1), 416-423.

Dos Santos L.D., Furuya W.M., Da Silva L.C.R., Matsushita M. & De Castro Silva T.S., 2011. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) for finishing Nile tilapia. *Aquac. Nutr.* 17(2), e70-e81.

Dumas A., Raggi T., Barkhouse J., Lewis E. & Weltzien E., 2018. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 492, 24-34.

FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture. *Sustainability in action*. Rome, Italy 224p.

Folch J., Lees M. & Sloane Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1), 497-509.

Furukawa A. & Tsukahara H., 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Nippon suisan gakkaiishi* 32(6), 502-506.

Gopalakannan A. & Arul V., 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture* 255(1-4), 179-187.

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A. & Francis F., 2020. Inventory of agricultural co-products potentially usable for the production of fly pupae *Hermetia illucens* (L. 1758) for fish feed in Benin. *Tropicicultura* 38, 1-18.

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2021. Technical basis for the small-scale production of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L. 1758), meal as fish feed in Benin. *J. Agric. Food Res.* 4, 100153.

Hishikawa D., Valentine W.J., Iizuka-Hishikawa Y., Shindou H. & Shimizu T.,

2017. Metabolism and functions of docosahexaenoic acid-containing membrane glycerophospholipids. *FEBS Lett.* 591(18), 2730-2744.

Hoc B., Genva M., Fauconnier M.-L., Lognay G., Francis F. & Caparros Megido R., 2020. About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Sci. Rep.* 10(1), 11916.

Howe E.R., Simenstad C.A., Toft J.D., Cordell J.R. & Bollens S.M., 2014. Macroinvertebrate Prey Availability and Fish Diet Selectivity in Relation to Environmental Variables in Natural and Restoring North San Francisco Bay Tidal Marsh Channels. *San Fr. Estuary Watershed Sci.* 12(1).

Hua K., 2021. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture* 530(July 2020), 735732.

Huang C.H., Huang M.C. & Hou P.C., 1998. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 120(2), 331-336.

Huster D., Jin A.J., Arnold K. & Gawrisch K., 1997. Water permeability of polyunsaturated lipid membranes measured by <sup>17</sup>O NMR. *Biophys. J.* 73(2), 855-864.

Kirk P.L., 1950. Kjeldahl Method for Total Nitrogen. *Anal. Chem.* 22(2), 354-358.

Kroeckel S., Harjes A.-G., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susenbeth A. & Schulz C., 2012a. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364-365, 345-352.

Kroeckel S., Harjes A.E., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susenbeth A. & Schulz C., 2012b. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364-365, 345-352.

Li S., Ji H., Zhang B., Zhou J. & Yu H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62-70.

Liu H., Wang S., Cai Y., Guo X., Cao Z., Zhang Y., Liu S., Yuan W., Zhu W., Zheng Y., Xie Z., Guo W. & Zhou Y., 2017. Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Shellfish Immunol.* 60, 326-333.

Luo Z., Tan X., Liu C., Li X., Liu X. & Xi W., 2012. Effect of dietary conjugated linoleic acid levels on growth performance, muscle fatty acid profile, hepatic intermediate metabolism and antioxidant responses in genetically improved farmed Tilapia strain of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Res.* 43, 1392-1403.

Mariotti F., Tomé D. & Mirand P.P., 2008. Converting Nitrogen into Protein-Beyond 6.25 and Jones' Factors. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 48(2), 177-184.

Menoyo D., Lopez-Bote C.J., Bautista J.M. & Obach A., 2003. Growth, digestibility

and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. *Aquaculture* 225(1-4), 295-307.

National Research Council, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp, Washington, DC.

Nguyen T.M., Mandiki S.N.M., Gense C., Tran T.N.T., Nguyen T.H. & Kestemont P., 2020. A combined in vivo and in vitro approach to evaluate the influence of linseed oil or sesame oil and their combination on innate immune competence and eicosanoid metabolism processes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Dev. Comp. Immunol.* 102, 103488.

Nogales-Mérida S., Gobbi P., Józefiak D., Mazurkiewicz J., Dudek K., Rawski M., Kierończyk B. & Józefiak A., 2019. Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.* 11(4), 1080-1103.

Ogunji J., Pagel T., Schulz C. & Kloas W., 2009. Apparent Digestibility Coefficient of Housefly Maggot Meal (magma) for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and Carp (*Cyprinus carpio*). *Asian Fish. Soc.* 22, 1095-1105.

Ogunji J., Toor R.S., Schulz C. & Kloas W., 2008. Growth Performance , Nutrient Utilization of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* Fed Housefly Maggot Meal (Magma) Diets Growth Performance. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 8(January), 141-147.

Ogunji J.O., Kloas W., Wirth M., Neumann N. & Pietsch C., 2008. Effect of housefly maggot meal (magma) diets on the performance , concentration of plasma glucose , cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl).* 92, 511-518.

Oliva-Teles A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 35(2), 83-108.

Olivotto I., Di Stefano M., Rosetti S., Cossignani L., Pugnali A., Giantomassi F. & Carnevali O., 2011. Live prey enrichment, with particular emphasis on HUFAs, as limiting factor in false percula clownfish (*Amphiprion ocellaris*, Pomacentridae) larval development and metamorphosis: Molecular and biochemical implications. *Comp. Biochem. Physiol. part A Mol. Integr. Physiol.* 159(3), 207-218.

Olsen R.E., Suontama J., Langmyhr E., Mundheim H., Ringo E., Melle W., Malde M.K. & Hemre G.-I., 2006. The replacement of fish meal with Antarctic krill, *Euphausia superba* in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquac. Nutr.* 12(4), 280-290.

Oonincx D.G.A.B. & de Boer I.J.M., 2012. Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment. *PLoS One* 7(12), e51145.

Piccinetti C.C., Ricci L.A., Togle N., Radaelli G., Pascoli F., Cossignani L., Palermo F., Mosconi G., Nozzi V., Raccanello F. & Olivotto I., 2012. Malnutrition may affect common sole (*Solea solea* L.) growth, pigmentation and stress response: Molecular, biochemical and histological implications. *Comp. Biochem. Physiol. part A Mol. Integr. Physiol.* 161(4), 361-371.

Renna M., Schiavone A., Gai F., Dabbou S., Lussiana C., Malfatto V., Prearo M.,

Capucchio M.T., Biasato I., Biasibetti E., De Marco M., Brugiapaglia A., Zoccarato I. & Gasco L., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8(1), 1-13.

Ribeiro L., Moura J., Santos M., Colen R., Rodrigues V., Bandarra N., Soares F., Ramalho P., Barata M., Moura P., Pousão-Ferreira P. & Dias J., 2015. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 447, 116-128.

Sánchez-Muros M., de Haro C., Sanz A., Trenzado C., Villareces S. & Barroso F., 2016. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquac. Nutr.* (5), 943-955.

Sánchez-Muros M.J., Barroso F.G. & Manzano-Agugliaro F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. *J. Clean. Prod.* 65, 16-27.

Sarker P.K., Gamble M.M., Kelson S. & Kapuscinski A.R., 2016. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine *Schizochytrium* sp. and of protein and essential amino acids from freshwater *Spirulina* sp. feed ingredients. *Aquac. Nutr.*

Shiau S.Y. & Yu Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Aquaculture* 179(1-4), 439-446.

Sing K., Kamarudin M.S., Wilson J.J. & Liverpool N.M., 2014. Evaluation of Blowfly (*Chrysomya megacephala*) Maggot Meal as an Effective, Sustainable Replacement for Fishmeal in the Diet of Farmed Juvenile Red Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Pak. Vet. J.* 34(3), 288-292.

Sourabié A., Mandiki S.N.M., Geay F., Sene T., Toguyeni A. & Kestemont P., 2018. Fish proteins not lipids are the major nutrients limiting the use of vegetable ingredients in catfish nutrition. *Aquac. Nutr.* 24(5), 1393-1405.

St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R.W. & Sealey W., 2007. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* 38(1), 59-67.

Stickney, R.R. McGeachin R.B., 1983. Responses of *Tilapia aurea* to semipurified diets of differing fatty acid composition. In: *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. 346-355;8-13.

Stoneham T.R., Kuhn D.D., Taylor D.P., Neilson A.P., Smith S.A., Gatlin D.M., Chu H.S.S. & O'Keefe S.F., 2018. Production of omega-3 enriched tilapia through the dietary use of algae meal or fish oil: Improved nutrient value of fillet and offal. *PLoS One* 13(4), e0194241.

Teoh C.-Y., Turchini G.M. & Ng W.-K., 2011. Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend. *Aquaculture* 312(1-4), 126-136.

Tocher D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater



fish. *Aquac. Res.* 41(5), 717-732.

Tocher D.R., 2015. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture* 449, 94-107.

Tocher D.R., Bell J.G., MacGlaughlin P., McGhee F. & Dick J.R., 2001. Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comp. Biochem. Physiol. part B Biochem. Mol. Biol.* 130(2), 257-270.

Tocher D.R., Bell J.G., McGhee F., Dick J.R. & Fonseca-Madriral J., 2003. Effects of dietary lipid level and vegetable oil on fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) over the entire production cycle, *Fish Physiology and Biochemistry*, 193-209.

Tonial I.B., Stevanato F.B., Matsushita M., De Souza N.E., Furuya W.M. & Visentainer J.V., 2009. Optimization of flaxseed oil feeding time length in adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a function of muscle omega-3 fatty acids composition. *Aquac. Nutr.* 15(6), 564-568.

Torrecillas S., Mompel D., Caballero M.J., Montero D., Merrifield D., Rodiles A., Robaina L., Zamorano M.J., Karalazos V., Kaushik S. & Izquierdo M., 2017. Effect of fishmeal and fish oil replacement by vegetable meals and oils on gut health of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 468, 386-398.

Tran-Ngoc K.T., Haidar M.N., Roem A.J., Sendão J., Verreth J.A.J. & Schrama J.W., 2019. Effects of feed ingredients on nutrient digestibility, nitrogen/energy balance and morphology changes in the gut of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Res.* 50(9), 2577-2590.

Tschirner M. & Kloas W., 2017. Increasing the Sustainability of Aquaculture Systems: Insects as Alternative Protein Source for Fish Diets. *GAIA - Ecol. Perspect. Sci. Soc.* 26(4), 332-340.

van Huis A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.* 58(1), 563-583.

Zarantoniello M., Randazzo B., Truzzi C., Giorgini E., Marcellucci C., Vargas-Abúndez J.A., Zimbelli A., Annibaldi A., Parisi G., Tulli F., Riolo P. & Olivotto I., 2019. A six-months study on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) based diets in zebrafish. *Sci. Rep.* 9(1), 8598.



# 6

---

**La farine d'*Hermetia illucens* peut-elle  
efficacement remplacer la farine de  
poisson ?**



# Can Insect Meal Replace Fishmeal? A Meta-Analysis of the Effects of Black Soldier Fly on Fish Growth Performances and Nutritional Values

**Gougbedji A.**, Detilleux J., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2022. Can Insect Meal Replace Fishmeal? A Meta-Analysis of the Effects of Black Soldier Fly on Fish Growth Performances and Nutritional Values. *Animals* 12(13), 1700.

## Abstract

The search for quality alternatives to fishmeal and fish oil in the fish feed industry has occupied many researchers worldwide. The use of black soldier fly meal (BSFM) as a substitute has increased. This study evaluated the effect of this substitution on fish growth and nutritional quality through a meta-analysis of the literature. A list of studies was selected after an exhaustive literature search followed by the extraction of growth and nutritional parameters. Two random-effects models were used to estimate the differences between the experimental parameters and the controls. The results showed significant heterogeneity between studies for all parameters. The sources of heterogeneity between studies were mainly fish species and protein substitution rate. High substitutions can be considered without necessarily worrying about an adverse effect. Financial profitability studies of the fish production chain from BSFM should be carried out to validate or invalidate the economic viability of this substitution.

Keywords: *Hermetia illucens*; fish feed; replacement; meta-analysis; efficiency

## 1. Introduction

Aquaculture production has been growing worldwide rapidly for several decades to contribute to food security (FAO, 2018b). Its exponential growth is currently experiencing major economic and ecological issues as the supply of fishmeal and fish oil for fish feed formulation is constantly decreasing (Tschirner et al., 2017). The increasing scarcity of these resources jeopardizes the sustainability of the wild fish fauna. It increases the costs of fish feed with a direct effect on the economic profitability of fish farming (FAO, 2016).

The search for adequate substitutes to fishmeal led to the belief that insects may become one of the future protein sources for animal production, principally thanks to their attributes both biological (i.e., fast reproductive and developmental cycle or ability to feed on organic residues for several species) and nutritional (i.e., high protein and fat content rich in essential fatty acids coupled with a high feed conversion efficiency) (van Huis, 2013; Barroso et al., 2014). The most studied insect species is the dipteran *Hermetia illucens* (L.1758), commonly named “Black Soldier Fly” (BSF) (Hua, 2021). Several studies have attempted to rear fish on diets based on BSF meals (BSFM) with mixed results. They analyzed several parameters in various fish species in response to partial or total substitution of fish meal (FM) by BSFM. Literature reviews have well-identified encouraging results of insect dietary inclusion on fishes’ growth and nutritional quality (Sánchez-Muros et al., 2014; Henry et al., 2015; Barragan-Fonseca et al., 2017; Wang et al., 2017a). However, these classical synthesis methods based on a qualitative approach include significant subjectivity. Moreover, the sources of heterogeneity related to the experimental conditions between studies are multiple and are rarely taken into account.

The meta-analysis of data resulting from a nearly exhaustive list of studies is an aggregative method of knowledge synthesis allowing an inferential approach (Sauvant et al., 2005). It is performed on quantitative data derived from different studies to provide an overall estimate of the effectiveness of an intervention and a measure of its accuracy, and is generally achieved by a Bayesian approach (Wiebe et al., 2006; Röver, 2020). The meta-analysis performed by Hua (2021) was about quantifying the effects of different insect species’ meals on the growth performance of fish. This author showed that BSFM inclusion rates below 29% did not affect fish growth and that growth decreased at higher inclusion levels. The study bases its analysis on the optimal inclusion levels of insect meal, and its approach focused on the response ratio of fish to insect meal incorporation rates. However, its methods were limited as they did not consider factors that could influence the variations between studies for the same insect species. The fish species, its ecosystem, and the experimental conditions are all factors likely to introduce heterogeneity between studies in a meta-analysis. The same author also mentioned the importance of adjusting the inclusion rate of BSFM according to the nutritional balance of the diet. Considering only the inclusion rate of BSFM in the diet can lead to a protein imbalance since protein levels in FM are generally 55–70% and BSF levels are 35–50%. Thus, the optimal limits of BSFM inclusion shown by this study may not be valid. In addition, the specific growth rate (SGR) used as the growth parameter in response to the inclusion of BSFM in the diet

may not be the best evaluation option for such a study. Its limitation stems from the fact that it does not properly represent the growth trajectory of fish, which varies with developmental stages (NRC, 2011). Thus, fish growth must be standardized before any comparison can be made. The best mathematical model remains the use of the thermal growth coefficient (TGC) which includes fish weight as well as temperature and rearing time in each study (NRC, 2011). Furthermore, this meta-analysis did not consider the nutritional effects on fish quality. These parameters are also important in the final choice of an efficient substitute.

Therefore, the currently presented research aims to evaluate the effect of the substitution of fishmeal with BSFM meal on fish growth and nutritional value through a meta-analysis.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1. Study Search**

To build the experimental meta-database, systematic bibliographic research was conducted in June 2022 in the search engine of the University of Liege (ULiège library). This library includes several other search engines: Google Scholar, Isidore, Lens, Microsoft Academic, PubMed, Scopus, Scribe and Unicat. A query formulated from keywords related to the research topic has been introduced. The syntax of the query is as follows: (“Black soldier fly”) OR (“*Hermetia illucens*”) AND Fish AND Substitution OR Replacement.

### **2.2. Selection**

Once the query results were obtained, the facets (type of document, subject) of the search engine were used to reduce, step by step, the number of proposed answers to limit the noise. Scientific articles were retained after eliminating conference proceedings, patents and press articles. Articles dealing with the incorporation of BSF in poultry feed and ornamental fish such as zebrafish were excluded. The next level of sorting was to keep articles related to the use of BSF in fish feed based on the titles and abstracts. The final selection was made based on the simultaneous presence in the data of studies describing the growth, nutritional composition of BSFM, fish diets and fish reared with BSFM. The water temperature of the rearing environments was also to be provided.

### **2.3. Data Extraction**

A data extraction form from each article was designed and used by two meta-analysts independently. Information collected from each manuscript was: author, year of publication, country, fish species, FM protein and lipid content (%), BSFM protein and lipid content (%), final (FBW, g/fish) and initial (IBW, g/fish) body weight, temperature (T, °C), experiment duration (D, day), feed conversion ratio (FCR), protein (Prot, %) and lipid (Lip, %) levels in fish whole-body.

The substitution levels of FM by BSFM were adjusted to the percentage of protein and lipid of FM replaced by BSFM, based on the protein content of these ingredients

extracted from studies. The food habits of the fish (carnivorous or omnivorous) were assigned to each species by referring to the FishBase catalog. The TGC of each study was computed following the formula:

$$\text{TGC} = (\text{FBW}^{1/3} - \text{IBW}^{1/3}) / \sum(T \times D) \times 100.$$

The above parameters' measures of variability (the standard deviation or standard error of the mean) were also extracted for analysis. Standard deviations not provided in the studies were generated by the multiple imputation method of missing variances (Sung et al., 2006). For this purpose, it was assumed that each of the missing variances has a distribution equal to the true study-specific variance times a chi-square random variable divided by its degrees of freedom. It was assumed that the true variance came from a main lognormal distribution with an overall mean and precision. This cross-study distribution of true variance was estimated from studies that reported variances, and was then used to impute the variances of studies that reported an estimate of central tendency but not variance. For the particular case of TGC, which is not directly computed in studies, a simulation of standard deviations was performed from a model whose assumptions are: normally distributed weights, independent initial and final weights, fixed temperature and duration. Appendix B and C contain the code used for the imputation with the Bayesian statistical software WinBUGS-14.

## 2.4. Data Analysis

The analytical method was adapted from Moula and Detilleux (2019). For each measure, differences between means of the experimental and the control (0%) groups were computed. These differences were named DIFF\_TGC, DIFF\_FCR, DIFF\_PROT, DIFF\_LIP for TGC, FCR, Prot and Lip, respectively.

The meta-analysis was performed using two random-effects models.

Model 1:  $y_i = \mu + t_i + e_i$  where:

$y_i$  is the estimated measure (DIFF\_TGC, DIFF\_FCR, DIFF\_PROT, DIFF\_LIP) for the  $i_{\text{th}}$  trial ( $i = 1, 2, \dots, N$ ),  $N$  being the number of trials included in the meta-analysis,  $\mu$  being the overall mean of all trials.

$t_i$  and  $e_i$  each represent the expression of the random effects of the model. They are assumed to be independent with zero means and respectively inter-study ( $v^i$ ) and intra-study ( $v^{e_i}$ ) variances.

The I2 index assessed the extent of heterogeneity between studies. It measures the percentage of total inter-study variation that cannot be explained by only chance but by the number of studies analyzed (Higgins et al., 2002). For example,  $I^2$  values greater than 50% for the same parameter suggest heterogeneity between studies. The higher the value is, the larger the differences between studies become. Effect size estimates from each study as a function of sample size were plotted on a funnel plot. This allows detection of possible publication bias related to the studies in the meta-analysis. In case of absence of publication bias, the effects obtained will be homogeneously distributed around the true effect size. Conversely, this distribution is not homogeneous when there is a publication bias. The statistical test related to this heterogeneity is the Egger Test (Egger et al., 1997). This models the relationship



between effect sizes and their precision to determine whether the intercept of the linear regression line is null. In case of asymmetry, the intercept will not pass through zero (Lin et al., 2018).

Model 2:  $y_{ijklmn} = \mu + t_i + h_{ij} + s_{ik} + c_{il} + z_{im} + q_{in} + b_1 p_{ijklmn} + b_2 a_{ijklmn} + e_{ijklmn}$  where:

$y_{ijkl}$  is the measure for the  $i_{th}$  trial ( $i = 1, 2, \dots, N$ ),  $j_{th}$  ( $j = 1, 2, \dots, 17$ ) fish species,  $k_{th}$  fish feeding habits ( $k = 1, 2$ ),  $l_{th}$  average temperature in each study,  $m_{th}$  diet protein and  $n_{th}$  diet lipid;

$h_{ij}$ ,  $s_{ik}$ ,  $c_{il}$ ,  $z_{im}$  and  $q_{in}$  are the fixed effects for the  $j_{th}$  fish species,  $k_{th}$  fish feeding habits,  $l_{th}$  average temperature,  $m_{th}$  diet protein and  $n_{th}$  diet lipid, respectively. The covariate effect  $p_{ijklmn}$  is the protein fishmeal substitution rate for BSFM and covariate effect  $a_{ijklmn}$  is the lipid fishmeal substitution rate for BSFM. All these effects represent potential sources of heterogeneity between measures  $y_{ijklmn}$ ;

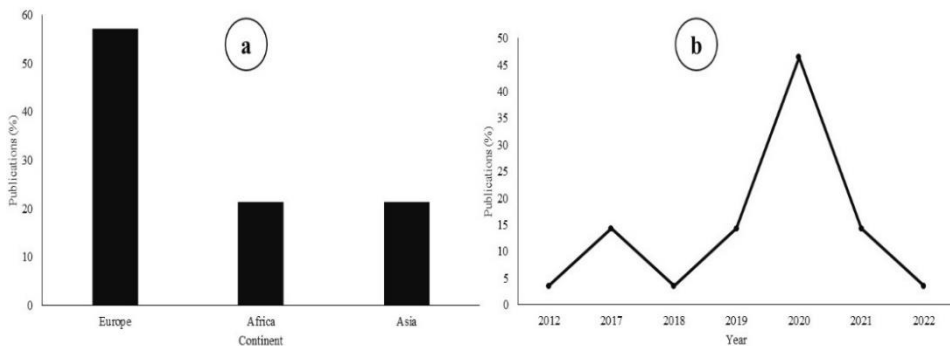
$b_1$  and  $b_2$  are the regression coefficients linking the protein substitution rate and lipid substitution rate to the measure  $y_{ijklmn}$ .

The different models were run in the R-4.02 software. The package “bayesmeta” was used to construct the funnel plots and obtain the models’ effects estimates.

### 3. Results

#### 3.1. Description of Studies Included in the Meta-Analysis

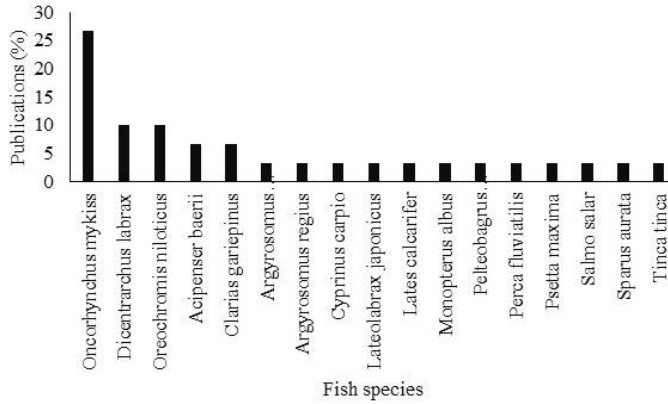
After screening the literature search through the different selection filters, 28 studies were kept for the meta-analysis (Appendix A). The majority of the studies were carried out in Europe (57%) while the remaining studies were conducted in Africa (21%) and Asia (21%) (Figure 20a). Based on the criteria included in the literature search, 46% of the studies which replaced FM by BSFM were conducted in 2020 (Figure 10b).



**Figure 20 :** Distribution of publications according to continents (a) and years (b).

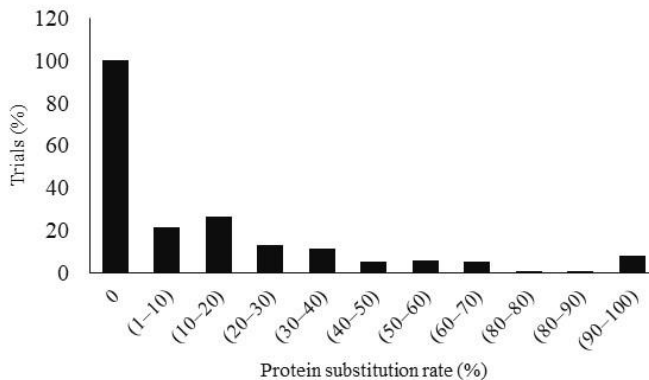
From all studies identified, 17 species of fish including 12 carnivorous (70.59%) and 5 omnivorous (29.41%) were tested for nutrition with BSFM. The species with

the highest occurrence (27%) is *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Species *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), each represent 10% of the publications (Figure 21).



**Figure 21** : Relative abundance of fish species by publications identified in the meta-analysis.

The protein substitution rates of fishmeal by BSFM varied from 0 to 100% (Figure 22). Several experiments reached protein substitution rates between 10 and 20% in 26.80% of the studies. Other studies (21.65%) achieved substitution rates between 1 and 10%. Fewer studies (13.40% and 11.34%) substituted protein levels of 20–30% and 30–40% respectively. Only some studies (8.24%) replaced more than 90% of the FM protein level with BSFM. The remaining studies achieved substitution rates ranging from 40 to 90%. All experimental diets are tested against a control (0%) in all studies.



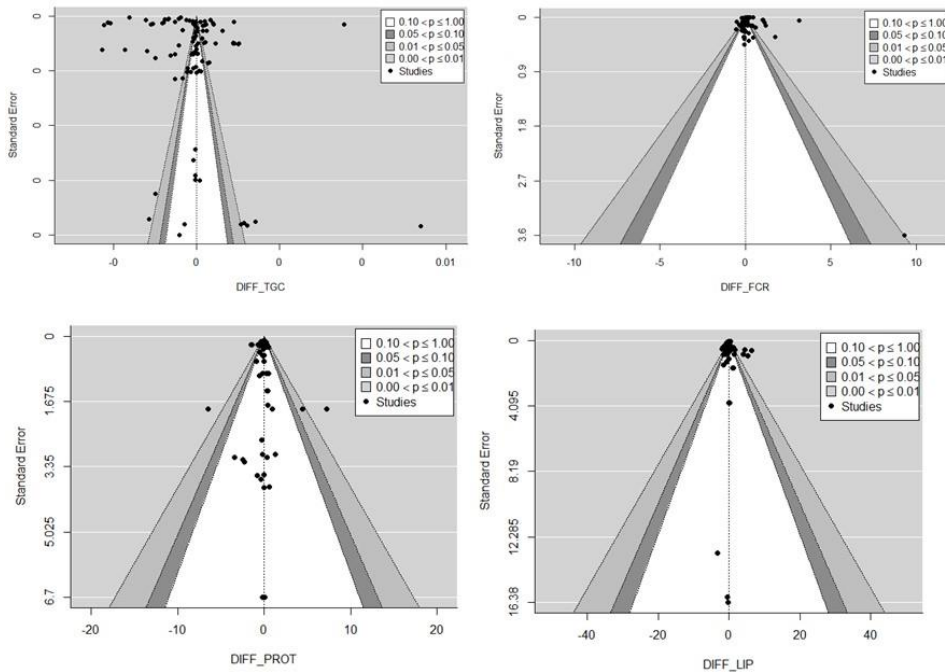
**Figure 22** : Protein substitution rate of fish meal by Black Soldier Fly meal according to trials.

### 3.2. Search for Bias between Studies

The dispersion of effect estimates across individual studies relative to the standard error is shown for each parameter (DIFF\_TGC, DIFF\_FCR, DIFF\_PROT, DIFF\_LIP) in Figure 23. Each dot on the funnel represents one study. The effect of the substitution of FM by BSFM on one of the growth or nutritional parameters is represented on the x-axis. The standard error is shown on the y axis. Most studies cluster on the top of the funnel; this results in high precision within studies for each estimated parameter. Moreover, the studies included for these parameters mostly used large sample sizes.

For each funnel plot, the null hypothesis is rejected outside the white and dark grey areas ( $p < 0.05$ ). This could imply that the effect of experimental diets on fish growth and nutritional parameters would not be significantly different from the control.

There was also considerable heterogeneity between studies, with  $I^2$  ranging from 65.13% to 99.98%.



**Figure 23 :** Funnel plots of differences in means between experimental and control groups.

The Egger tests ( $Z$ ) performed on the biological parameters showed the presence of publication bias for DIFF\_TGC (Table 19). In contrast, no publication bias was detected with DIFF\_FCR, DIFF\_PROT and DIFF\_LIP. Except for DIFF\_FCR, all represented asymmetries are negative ( $b < 0$ ).

**Table 19** : Funnel asymmetry Tests.

<b>Parameters</b>	<b>Z</b>	<b>p</b>	<b>b</b>	<b>Publication Bias</b>
DIFF_TGC	2.73	0.01	-0.00	Yes
DIFF_FCR	0.73	0.47	0.06	No
DIFF_PROT	0.61	0.54	-0.24	No
DIFF_LIP	0.54	0.59	-0.15	No

### ***3.3. Sources of Heterogeneity***

The potential sources of heterogeneity (Effects) between the results of the studies in the meta-analysis are presented in Table 20. These effects are assigned to the differences between the means of each parameter and their controls. The first finding is that “feeding habit” does not explain a portion of the heterogeneity between studies. This parameter was hidden in the mixed model results. For each of the other effects, they explain at least 44.41% (R<sup>2</sup>) of the variability between studies. For all parameters considered, the “temperature” effect was not significant.

Only three species seem to be the source of the heterogeneity observed for DIFF\_TGC ( $p < 0.05$ ). Fish species also had a significant effect on DIFF\_FCR but was not noticeable on DIFF\_PROT and DIFF\_LIP. The other effects considered had no discernible impacts on fish growth. Across these studies, an increase of 1% BSM protein has the moderate effect of increasing the overall DIFF\_FCR of fish by 0.02%. In contrast, a 1% increase in lipid substitution in the feed seems to induce a decrease in the DIFF\_FCR and in the level of lipid in the fish. The meta-analysis does not show an effect of the protein and lipid composition of the diets on DIFF\_FCR and DIFF\_PROT but shows an influence on the lipid level in the fish.

**Table 20** : Estimation of effects responsible for sources of heterogeneity across studies; \* (p< 0.05).

	<b>Effects</b>	<b>DIFF_TGC</b>	<b>DIFF_FCR</b>	<b>DIFF_PROT</b>	<b>DIFF_LIP</b>
	<i>Acipenser baerii (reference)</i>	0	0	0	0
	<i>Argyrosomus japonicus</i>	0.0018 [-0.001, 0.004]	-1.30 [-2.88, 0.28]		
	<i>Argyrosomus regius</i>	-0.0005 [-0.002, 0.001]	-0.52 [-1.39, 0.35]	-2.1 [-5.29, 1.09]	-1.63 [-4.63, 1.36]
	<i>Cyprinus carpio</i>	0.0003 [-0.001, 0.002]	-0.82 [-1.65, 0.01]	-4.79 [-12.34, 2.76]	-3.63 [-7.83, 0.56]
	<i>Clarias gariepinus</i>	-0.0002 [-0.002, 0.001]	-0.45 [-1.13, 0.22]	-4.36 [-10.20, 1.49]	0.92 [-2.89, 4.74]
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	0.0002 [-0.001, 0.001]	-0.44 [-1.14, 0.26]	-1.37 [-3.69, 0.96]	0.39 [-2.47, 3.26]
	<i>Lates calcarifer</i>	-0.0003 [-0.002, 0.001]	0.17 [-0.50, 0.85]	-1.72 [-6.71, 3.26]	0.02 [-3.08, 3.13]
	<i>Lateolabrax japonicus</i>	0.0006 [-0.001, 0.002]	-0.38 [-1.36, 0.61]	-4.59 [-10.50, 1.31]	-4.89 [-8.77, -1.01]
Fish species	<i>Monopterus albus</i>	0.0002 [-0.001, 0.002]	-0.64 [-1.38, 0.09]	-5.19 [-11.41, 1.03]	-1.73 [-19.21, 15.75]
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.0000 [-0.001, 0.001]	0.14 [-0.58, 0.86]	0.30 [-2.08, 2.67]	-1.76 [-4.50, 0.98]
	<i>Oreochromis niloticus</i>	0.0003 [-0.001, 0.002]	-0.71 [-1.52, 0.11]	-5.17 [-11.96, 1.62]	-0.09 [-4.32, 4.14]
	<i>Perca fluviatilis</i>	-0.0007 [-0.002, 0.000]	-0.02 [-0.58, 0.55]	-6.02 [-11.25, -0.79]	4.49 [1.01, 7.97]
	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	0.0016 [0.000, 0.003] *	-0.91 [-1.76, -0.05] *	-4.50 [-9.93, 0.92]	-1.15 [-5.01, 2.72]
	<i>Psetta maxima</i>	-0.0018 [-0.003, -0.001] *	0.18 [-0.28, 0.63]	-1.27 [-4.83, 2.28]	-1.35 [-0.53, 3.22]
	<i>Sparus aurata</i>	-0.0009 [-0.002, 0.001]	0.1 [-0.68, 0.87]		
	<i>Salmo salar</i>	-0.0002 [-0.002, 0.001]	0.18 [-0.57, 0.94]	-0.52 [-2.80, 1.75]	-2.08 [-4.42, 0.26]
	<i>Tinca tinca</i>	-0.0022 [-0.004, -0.001] *	1.01 [0.23, 1.79] *		
	Protein substitution rate	-0.0000 [0.0000, 0000]	0.02 [0.01, 0.03] *	-0.01 [-0.02, 0.01]	0.07 [0.04, 0.10]
	Lipid substitution rate	-0.0000 [0.0000, 0000]	-0.01[-0.02, 0.00] *	0.00 [-0.01, 0.02]	-0.09 [-0.12, -0.05] *
	Diet protein	0.0001 [0.0000, 0.0001]	-0.02 [-0.07, 0.02]	0.02 [-0.10, 0.15]	-0.50 [-0.65, -0.35] *
	Diet lipid	-0.0001 [-0.0002, 0.0001]	0.03 [-0.05, 0.11]	-0.18 [-0.40, 0.05]	0.42 [0.11, 0.72] *

Temperature	0.0000 [-0.0001, 0.0001]	0.04 [-0.01, 0.09]	0.28 [-0.05, 0.61]	-0.18 [-0.45, 0.09]
Overall mean	0.0009 [0.0008, 0.9676]	0.20 [0.11, 0.30]	0.42[0.28, 0.58]	1.53 [1.20, 1.91]
Amount of heterogeneity accounted for (R2, %)	43.81	44.41	96.38	89.57

## 4. Discussion

Studies dealing with FM substitution by BSFM have increased significantly in recent years. The challenge of finding high quality alternatives to FM remains a major concern for the fisheries sector. The temporal trend of publications displayed in this study does not correctly reflect the density of studies conducted on this topic. The criteria we imposed on candidate studies in methods omitted numerous publications for which sufficient environmental or biological data was unavailable. As such, these results should not be interpreted beyond the scope we utilize them for: “the analysis of BSF inclusion in fish diets for the specific response variables selected (TGC, FCR, Prot and Lip)”. The drop in the number of studies observed in 2022 is temporary because the meta-analysis carried out only occurs in the middle of the year. Studies on the subject continue to be published. The data structure of this meta-analysis shows a dominance of studies conducted in Europe. This result can be explained by establishing a correlation with the species of fish studied. The most frequent species in the data is *O. mykiss* which is mainly reared in Europe.

The effect of FM substitution with BSFM on different fish species was analyzed in this study. Understanding the biological behavior of fish in response to a dietary change requires the integration of several growth and nutritional parameters. Four parameters were studied in this meta-analysis: TGC, FCR, protein and lipid levels in the whole body of fish. Negative asymmetries were found in the meta-analysis except for FCR, suggesting publication bias. This kind of bias generally occurs because research publications depend on the statistical significance of the results or on the direction some researchers give them (Sterne et al., 2000; Lin et al., 2018). Analysis of the specific sources of the observed variability showed that the selected effects explained more than 43.81% of the heterogeneity between studies. Other effects not considered may also include variations.

The main difficulty of a meta-analysis on fishes lies in the comparison of parameters affected by the intrinsic traits of each species. Thus, the diversity of fish makes this analysis arduous. The use of TGC as a measure of growth could limit interpretation bias. The use of the protein substitution level instead of the BSFM inclusion level could enhance the conclusions of this study. Overall, the results of this analysis suggest that high substitution levels had no effect on fish growth. This trend is in contrast to the findings of Hua's (Hua, 2021) study, which suggest a decline of fish growth when BSFM inclusion rates exceed  $29 \pm 3\%$  in the diet. However, the SGR used in that study as a parameter to measure growth is likely to induce an interpretation bias since it concerns different species and different stages of development. Similarly to Hua, Liland et al. (2021) noted a linear decrease in SGR of fish species with an increase in BSF level in the fish diet. The effect of feeding habits was hidden in the analysis performed. Feeds for fish are usually formulated from a combination of plant and animal resources in an attempt to satisfy their nutritional requirements. Thus, the expression of their natural feeding instincts may be greatly restricted. Our results provide a more optimistic view of the incorporation of BSF into fish diets than previous studies, but the appropriate levels will also depend on a

combination of several factors such as other abiotic parameters (Oxygen, Salinity, pH, dissolved solids levels etc.), fish species and nutritional details of both larvae and fish.

Other factors may also be important in the response of the fish. The fatty acid compositions of the BSF could substantially impact fish growth and fish quality. BSF are naturally rich in saturated fatty acids which limit their inclusion in the fish feed (Hoc et al., 2020). In most of the studies used in this meta-analysis, the insect meals used were not modulated to improve fatty acid quality. Several studies have already shown that the quality of BSF prepupae is greatly improved when their diets are nutritionally enriched (Katya et al., 2017; Magalhães et al., 2017; Devic et al., 2018a; Hoc et al., 2020). Another factor that may influence digestibility and thus growth performance in fish is the high proportion of chitin in BSF prepupae (Barragan-Fonseca, K.B.; Dicke, M.; van Loon, 2017; Xiao et al., 2018).

All the trials in this study focused on the biological aspects of the use of BSF in fish feed. However, the search for substitutes for fish meal and fish oil has become urgent, particularly in view of the cost of fish production influenced by the cost of fish meal (Henry et al., 2015; FAO, 2018; Cardinaletti et al., 2019). The economics of fish production from BSF therefore need to be assessed to estimate the profitability of such an initiative.

## **5. Conclusion**

This study reviewed the literature on substituting fish meal with black soldier fly meal in fish diets. The quantitative method used allows for more accurate preliminary conclusions than previous studies. The issue of total substitution of FM by BSFM is not completely resolved; however, it is conceivable that high levels of substitution could be achieved without necessarily risking a negative impact on fish. In addition, economic considerations would allow future research to be directed towards ways to optimize the profitability of fish fed with BSF.



**Appendix A:** Full list of studies used for the meta-analysis; na = missing data.

Author	Year	Country	Fish Species	SubProt	Temp	TGC		Feed Conversion Ratio		Fish Protein (%)		Fish Lipid (%)	
						Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
	2012					Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Kroeckel et al.	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	0	16.5	0.0035	0.000065	0.76	0.00	15.20	2.20	5.80	0.30
Kroeckel et al.	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	13.2	16.5	0.0030	0.000035	0.76	0.00	15.20	2.80	4.80	0.60
Kroeckel et al.	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	26.78	16.5	0.0028	0.000044	0.82	0.00	15.50	2.20	4.80	0.30
Kroeckel et al.	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	41.64	16.5	0.0023	0.000026	0.86	0.00	14.9	1.50	4.50	0.50
Kroeckel et al.	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	56.9	16.5	0.0017	0.000019	0.98	0.00	15.00	2.10	4.10	0.40
Kroeckel et al.,	2012	Germany	<i>Psetta maxima</i>	70.16	16.5	0.0012	0.000019	1.21	0.00	15.20	3.20	3.80	0.40
Katya et al.	2017	Malaysia	<i>Lates calcarifer</i>	0	24	0.0016	0.000005	2.00	0.10	62.2	1.32	16.3	0.60
Katya et al.	2017	Malaysia	<i>Lates calcarifer</i>	17.79	24	0.0014	0.000007	2.30	0.10	63.1	1.32	20.3	0.60
Katya et al.	2017	Malaysia	<i>Lates calcarifer</i>	39.37	24	0.0013	0.000006	2.40	0.10	55.7	1.32	14.8	0.60
Katya et al.	2017	Malaysia	<i>Lates calcarifer</i>	66.08	24	0.0012	0.000001	3.20	0.10	69.4	1.32	15.1	0.60
Katya et al.	2017	Malaysia	<i>Lates calcarifer</i>	100	24	0.0004	0.000005	11.30	3.60	66.6	1.32	17.7	0.60
Magalhães et al.	2017	Portugal	<i>Dicentrarchus labrax</i>	0	25	0.0033	0.000065	na	Na	na	na	na	na

Magalhães et al.	2017	Portugal	<i>Dicentrarchus labrax</i>	11.45	25	0.0035	0.000067	na	Na	na	na	na	na
Magalhães et al.	2017	Portugal	<i>Dicentrarchus labrax</i>	23.9	25	0.0036	0.000066	na	na	na	na	na	na
Magalhães et al.	2017	Portugal	<i>Dicentrarchus labrax</i>	37.48	25	0.0034	0.000062	na	na	na	na	na	na
Renna et al.	2017	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	13	0.0063	0.000234	0.90	0.02	19.58	0.35	4.18	1.20
Renna et al.	2017	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	21.66	13	0.0064	0.000230	0.88	0.02	19.37	0.35	5.19	1.20
Renna et al.	2017	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	45.35	13	0.0063	0.000228	0.90	0.02	19.56	0.35	5.48	1.20
Devic et al.	2018	Ghana	<i>Oreochromis niloticus</i>	0	28.65	0.0019	0.000007	2.20	0.10	15.36	0.30	10.78	0.61
Devic et al.	2018	Ghana	<i>Oreochromis niloticus</i>	21.03	28.65	0.0021	0.000015	2.10	0.30	15.27	0.13	9.61	0.11
Devic et al.	2018	Ghana	<i>Oreochromis niloticus</i>	38.33	28.65	0.0019	0.000011	2.00	0.20	15.29	0.09	9.99	0.44
Devic et al.	2018	Ghana	<i>Oreochromis niloticus</i>	71.31	28.65	0.0018	0.000008	2.10	0.10	15.43	0.05	10.22	0.61
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	0	28	0.0089	0.000294	1.08	0.07	14.3	0.1	5.59	0.08

Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	13	28	0.0102	0.000297	0.90	0.04	13.9	0.1	5.37	0.01
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	25	28	0.0104	0.000287	0.89	0.03	14.6	0.2	5.41	0.09
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	37	28	0.0101	0.000290	0.91	0.02	13.8	0.4	5.07	0.01
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	48	28	0.0100	0.000293	0.93	0.04	13.7	0.2	5.22	0.10
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	68	28	0.0087	0.000294	1.08	0.09	13.6	0.2	5.3	0.13
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	85	28	0.0078	0.000279	1.19	0.05	12.9	0.2	5.47	0.01
Xiao et al.	2018	China	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	100	28	0.0054	0.000298	1.66	0.16	12.8	0.2	5.45	0.06
Cardinaletti et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	12.8	0.0039	0.000287	1.02	0.17	na	na	na	na
Cardinaletti et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	13.84	12.8	0.0035	0.000329	1.22	0.35	na	na	na	na
Cardinaletti et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	32.52	12.8	0.0029	0.000209	1.47	0.28	na	na	na	na
Józefiak et al.	2019	Poland	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	13.85	0.0044	0.000053	0.95	0.02	na	na	na	na

Józefiak et al.	2019	Poland	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12.3	13.85	0.0044	0.000052	0.97	0.02	na	na	na	na
Terova et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	13	0.0050	0.000190	0.9	0.02	na	na	na	na
Terova et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	7.59	13	0.0050	0.000255	0.93	0.04	na	na	na	na
Terova et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	15.59	13	0.0050	0.000217	0.95	0.03	na	na	na	na
Terova et al.	2019	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	24.05	13	0.0050	0.000187	0.93	0.04	na	na	na	na
Wang et al.	2019	China	<i>Lateolabrax japonicus</i>	0	27.4	0.0036	0.000008	1.37	0.03	17.2	0.13	8.66	0.14
Wang et al.	2019	China	<i>Lateolabrax japonicus</i>	13.61	27.4	0.0037	0.000022	1.44	0.07	17.22	0.15	8.26	0.18
Wang et al.	2019	China	<i>Lateolabrax japonicus</i>	28.01	27.4	0.0036	0.000018	1.41	0.05	17.13	0.18	8.25	0.38
Wang et al.	2019	China	<i>Lateolabrax japonicus</i>	43.29	27.4	0.0038	0.000006	1.40	0.02	16.82	0.13	8.88	0.26
Wang et al.	2019	China	<i>Lateolabrax japonicus</i>	59.51	27.4	0.0036	0.000007	4.50	0.04	16.89	0.16	8.9	0.22
Abdel-Tawwab et al.	2020	Egypt	<i>Dicentrarchus labrax</i>	0	27.85	0.0043	0.000021	1.42	0.09	17.76	4.74	6.13	0.80

Abdel-Tawwab et al.	2020	Egypt	<i>Dicentrarchus labrax</i>	17.68	27.85	0.0043	0.000021	1.41	0.09	17.84	4.74	6.11	0.80
Abdel-Tawwab et al.	2020	Egypt	<i>Dicentrarchus labrax</i>	25.76	27.85	0.0043	0.000021	1.44	0.09	17.6	4.74	6.22	3.80
Abdel-Tawwab et al.	2020	Egypt	<i>Dicentrarchus labrax</i>	39.18	27.85	0.0043	0.000022	1.42	0.09	17.57	4.74	6.13	3.80
Caimi et al.	2020	Italy	<i>Acipenser baerii</i>	0	13	0.0064	0.000087	1.03	0.03	13.66	0.99	4.5	0.39
Caimi et al.	2020	Italy	<i>Acipenser baerii</i>	24.62	13	0.0060	0.000089	1.08	0.03	14.1	0.99	5.13	0.39
Caimi et al.	2020	Italy	<i>Acipenser baerii</i>	49.49	13	0.0058	0.000091	1.12	0.03	13.96	0.99	6.23	0.39
Fawole et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	0	26.61	0.0022	0.000021	1.86	0.09	16.82	0.67	5.3	0.42
Fawole et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	17.49	26.61	0.0024	0.000021	1.78	0.09	17.03	0.67	5.66	0.42
Fawole et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	38.87	26.61	0.0028	0.000021	1.48	0.09	17.30	0.67	4.76	0.42
Fawole et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	65.61	26.61	0.0024	0.000021	1.65	0.09	16.59	0.67	5.05	0.42
Guerreiro et al.	2020	Portugal	<i>Argyrosomus regius</i>	0	22.4	0.0043	0.000075	1.25	0.03	16.80	0.16	5.97	0.27

Guerreiro et al.	2020	Portugal	<i>Argyrosomus regius</i>	7.76	22.4	0.0042	0.000013	1.22	0.04	16.70	0.47	5.57	0.12
Guerreiro et al.	2020	Portugal	<i>Argyrosomus regius</i>	15.91	22.4	0.0038	0.000011	1.17	0.04	16.70	0.19	5.28	0.40
Guerreiro et al.	2020	Portugal	<i>Argyrosomus regius</i>	24.49	22.4	0.0033	0.000038	1.05	0.17	16.80	0.62	6.15	0.60
Hu et al.	2020	China	<i>Monopterus albus</i>	0	28	0.0021	0.000007	2.04	0.01	17.25	0.12	16.6	0.14
Hu et al.	2020	China	<i>Monopterus albus</i>	1.2	28	0.0025	0.000012	1.54	0.07	17.36	0.01	16.38	16.38
Hu et al.	2020	China	<i>Monopterus albus</i>	2.44	28	0.0024	0.000004	1.77	0.15	17.48	0.10	16.06	16.06
Hu et al.	2020	China	<i>Monopterus albus</i>	3.71	28	0.0022	0.000009	1.86	0.09	17.27	0.03	13.3	13.3
Mastoraki et al.	2020	Greece	<i>Dicentrarchus labrax</i>	0	19.3	0.0028	0.000003	0.99	0.02	17.79	0.16	13.65	0.43
Mastoraki et al.	2020	Greece	<i>Dicentrarchus labrax</i>	29.09	19.3	0.0037	0.000011	1.03	0.01	17.86	0.01	11.91	0.10
Xu et al.	2020	China	<i>Cyprinus carpio</i>	0	27.5	0.0044	0.000025	1.22	0.06	20.43	3.03	7.20	0.33
Xu et al.	2020	China	<i>Cyprinus carpio</i>	15.01	27.5	0.0044	0.000030	1.24	0.07	20.05	2.09	5.61	0.39

Xu et al.	2020	China	<i>Cyprinus carpio</i>	34.63	27.5	0.0044	0.000022	1.26	0.06	21.70	0.04	5.70	0.77
Xu et al.	2020	China	<i>Cyprinus carpio</i>	61.38	27.5	0.0043	0.000035	1.33	0.07	19.63	1.90	5.81	0.00
Xu et al.	2020	China	<i>Cyprinus carpio</i>	100	27.5	0.0043	0.000044	1.24	0.1	21.00	2.40	5.79	0.54
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	20	0.0035	0.000012	0.77	0	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	9.55	20	0.0035	0.000014	0.78	0.01	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	20.41	20	0.0034	0.000008	0.78	0.01	na	na	na	na
Fabrikov et al.(Fabrikov et al., 2020)	2020	Spain	<i>Tinca tinca</i>	9.55	20	0.0014	0.000003	1.82	0.04	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Tinca tinca</i>	20.41	20	0.0013	0.000013	1.90	0.08	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Tinca tinca</i>	9.55	20	0.0014	0.000007	1.77	0.04	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Sparus aurata</i>	20.41	20	0.0027	0.000004	1.02	0.00	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Sparus aurata</i>	9.55	20	0.0027	0.000007	0.98	0.01	na	na	na	na
Fabrikov et al.	2020	Spain	<i>Sparus aurata</i>	20.41	20	0.0025	0.000008	0.92	0.12	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	0	20.3	0.0049	0.000039	0.88	0.01	na	na	na	na

Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	2.89	20.3	0.0054	0.000037	0.79	0.01	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	6.61	20.3	0.0058	0.000038	0.89	0.01	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	9.09	20.3	0.0058	0.000038	0.7	0.01	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	12.4	20.3	0.0059	0.000039	0.68	0.01	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	15.88	20.3	0.0058	0.000039	0.68	0.01	na	na	na	na
Rawski et al.	2020	Poland	<i>Acipenser baerii</i>	19.53	20.3	0.0059	0.000040	0.68	0.01	na	na	na	na
Madibana et al.	2020	South africa	<i>Argyrosomus japonicus</i>	0	25	0.0015	0.000011	1.73	0.14	na	na	na	na
Madibana et al.	2020	South africa	<i>Argyrosomus japonicus</i>	5.92	25	0.0004	0.000011	1.20	0.14	na	na	na	na
Madibana et al.	2020	South africa	<i>Argyrosomus japonicus</i>	11.73	25	0.0020	0.000012	1.20	0.14	na	na	na	na
Madibana et al.	2020	South africa	<i>Argyrosomus japonicus</i>	23.02	25	0.0051	0.000012	1.66	0.14	na	na	na	na
Melenchón et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	15	0.0035	0.000053	0.77	0.02	18.61	0.2	1.28	0.04



Melenchón et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	7.32	15	0.0035	0.000052	0.78	0.02	19.16	0.2	1.66	0.04
Melenchón et al.	2020	Spain	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	16.1	15	0.0034	0.000054	0.78	0.02	19.06	0.2	1.27	0.04
Adeoye et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	0	30.34	0.0025	0.000002	1.22	0.10	na	na	na	na
Adeoye et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	16.47	30.34	0.0020	0.000011	1.41	0.24	na	na	na	na
Adeoye et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	37.17	30.34	0.0022	0.000002	1.29	0.05	na	na	na	na
Adeoye et al.	2020	Nigeria	<i>Clarias gariepinus</i>	100	30.34	0.0009	0.000003	2.96	0.30	na	na	na	na
Stejskal et al.	2020	Czech Republic	<i>Perca fluviatilis</i>	0	22.5	0.0030	0.000010	1.00	0.07	24.10	3.10	10.10	1.30
Stejskal et al.	2020	Czech Republic	<i>Perca fluviatilis</i>	17.18	22.5	0.0032	0.000017	0.91	0.05	21.80	0.90	9.50	0.20
Stejskal et al.	2020	Czech Republic	<i>Perca fluviatilis</i>	35.61	22.5	0.0032	0.000015	0.91	0.04	21.60	0.60	8.70	0.50
Stejskal et al.	2020	Czech Republic	<i>Perca fluviatilis</i>	55.45	22.5	0.0027	0.000026	1.12	0.06	20.70	0.30	8.50	0.80
Weththasinghe et al.	2021	Poland	<i>Salmo salar</i>	0	14.8	0.0033	0.000071	0.77	0.07	8.72	0.17	9.52	0.11

Weththasinghe et al.	2021	Poland	<i>Salmo salar</i>	6.25	14.8	0.0032	0.000076	0.78	0.07	8.69	0.17	9.46	0.11
Weththasinghe et al.	2021	Poland	<i>Salmo salar</i>	12.5	14.8	0.0033	0.000072	0.76	0.07	8.47	0.17	9.13	0.11
Weththasinghe et al.	2021	Poland	<i>Salmo salar</i>	25	14.8	0.0031	0.000075	0.81	0.07	8.33	0.17	8.80	0.11
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	0	28.93	0.0027	0.000034	2.22	0.17	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	4.15	28.93	0.0027	0.000049	2.15	0.27	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	8.88	28.93	0.0029	0.000029	2.15	0.10	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	20.63	28.93	0.0030	0.000040	2.14	0.31	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	36.9	28.93	0.0029	0.000041	2.16	0.42	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	60.93	28.93	0.0028	0.000043	2.16	0.17	na	na	na	na
Tippayadara et al.	2021	Thailand	<i>Oreochromis niloticus</i>	100	28.93	0.0027	0.000031	2.23	0.15	na	na	na	na
Hoc et al.	2021	Belgium	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	12	0.0039	0.000049	1.12	0.00	39.23	0.13	14.74	0.33

Hoc et al.	2021	Belgium	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	57.44	12	0.0039	0.000045	1.23	0.03	38.78	0.18	15.97	0.27
Hoc et al.	2021	Belgium	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	58.97	12	0.0038	0.000053	1.24	0.04	38.90	0.13	15.17	0.46
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0	13	0.0048	0.000078	1.08	0.06	na	na	na	na
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2.54	13	0.0048	0.000077	1.09	0.06	na	na	na	na
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	5.1	13	0.0049	0.000079	1.09	0.06	na	na	na	na
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	7.68	13	0.0048	0.000082	1.12	0.06	na	na	na	na
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10.3	13	0.0046	0.000079	1.13	0.06	na	na	na	na
Caimi et al.	2022	Italy	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12.93	13	0.0045	0.000080	1.18	0.06	na	na	na	na
Agbohessou et al.	2022	Benin	<i>Oreochromis niloticus</i>	0	28.74	0.0042	0.000005	na	na	57.3	0.5	21.26	0.57
Agbohessou et al.	2022	Benin	<i>Oreochromis niloticus</i>	100	28.74	0.0035	0.000004	na	na	57.69	1.7	26.46	0.74
Agbohessou et al.	2022	Benin	<i>Oreochromis niloticus</i>	100	28.74	0.0034	0.000004	na	na	56.76	0.89	27.54	0.19

Agbohessou et al.	2022	Benin	<i>Oreochromis niloticus</i>	100	28.74	0.0035	0.000002	na	na	56.42	0.4	25.67	0.17
-------------------	------	-------	------------------------------	-----	-------	--------	----------	----	----	-------	-----	-------	------

---

## Appendix B

Example of an imputation of missing variance for continuous data

# nstudies = total number of studies (with and without missing information)

model

```
{  
for (i in 1: nstudies)  
{  
trueVar[i]~dlnorm(tmu, tau)  
shape[i]<-(num[i]-1)/2  
scale[i]<-(num[i]-1)/(2*trueVar[i])  
obsVar[i]~dgamma(shape[i], scale[i])  
}  
tmu~dnorm (0,0.001)  
tau<-1/(sd*sd)  
sd~dunif (0.01,1)  
}
```

INITS

```
list (tmu=0.01, sd=0.12)
```

DATA

```
list(nstudies=31  
,num=c(60,30,30,120,90,4500,60,60,30,120,5748,60,120,90,270,270,90,390,60,120,  
87,90,60,88,45,120,54,150,90,60,54),obsVar=c(NA,NA,0.01,NA,NA,0.04,0.004,0.0  
03,NA,NA,0.003,0.004,NA,0.02,0.03,NA,0.01,0.002,0.03,NA,0.0001,0.0004,0.03,0.  
02,0.04,0.03,NA,NA,0.001,0.0004,0.005))
```

## Appendix C

Example of standard deviation simulation for each TGC

#Pmi

```
mu1<-55
```

```
sd1<-1
```

```
X1<- rnorm(1000, mean = mu1, sd = sd1)
```

```
Y1<-X1^1/3
```

```
postmu1<-mean(Y1)
```

```
postsd1<-sd(Y1)
```

#Pmf

```
mu2<-139
```

```
sd2<-8
X2<- rnorm(1000, mean = mu2, sd = sd2)
Y2<-X2^1/3
postmu2<-mean(Y2)
postsd2<-sd(Y2)
ΣTXD=3000
var1<- postsd1* postsd1
var2<- postsd2* postsd2
TXD2=TXD*TXD
mean<-(1/TXD)*(postmu2-postmu1)
var<-(1/(TXD2))*(var2+var1)
sd<-sqrt(var)
sd
```

## 6. References

Abdel-Tawwab, M., Khalil, R.H., Metwally, A.A., Shakweer, M.S., Khallaf, M.A., Abdel-Latif, H.M., 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522, 735136.

Adeoye, A.A., Akegbejo-Samsons, Y., Fawole, F.J., Davies, S.J., 2020. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *J. World Aquac. Soc.*, 51, 1024–1033.

Agbohessou, P.S., Mandiki, S.N.M., Goubédji, A., Megido, R.C., Hossain, M.S., De Jaeger, P., Larondelle, Y., Francis, F., Lalèyè, P.A., Kestemont, P., 2021. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. *Aquac. Nutr.*, 27, 880–896.

Barragan-Fonseca, K.B., Dicke, M., van Loon, J.J.A. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L. 1758) and its suitability as animal feed – a review., 2017. *J. Insects as Food Feed*, 3, 105–120.

Barroso, F.G., Haro, C. De, Sánchez-muros, M., Venegas, E., Martínez-sánchez, A., Pérez-bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422–423, 193–201.

Biasato, I., Chemello, G., Oddon, S.B., Ferrocino, I., Corvaglia, M.R., Caimi, C., Resconi, A., Paul, A., Spankeren, M. Van, Capucchio, M.T., 2022. *Hermetia illucens* meal inclusion in low-fishmeal diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on the growth performance, nutrient digestibility coefficients, selected gut health traits, and health status indices. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 290, 115341.

Caimi, C., Renna, M., Lussiana, C., Bonaldo, A., Gariglio, M., Meneguz, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Gai, F., Elia, A.C., et al., 2020. First insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L. 1758) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. *Aquaculture*, 515, 734539.

Cardinaletti, G., Randazzo, B., Messina, M., Zarantoniello, M., Giorgini, E., Zimbelli, A., Bruni, L., Parisi, G., Olivotto, I., Tulli, F., 2019. Effects of Graded Dietary Inclusion Level of Full-Fat *Hermetia illucens* Prepupae Meal in Practical Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals*, 9, 251.

Devic, E., Leschen, W., Murray, F., Little, D., 2018. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquac. Nutr.*, 416–423.

Egger, M., Smith, G.D., Schneider, M., Minder, C., 1997 Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*, 315, 629–634.

Fabrikov, D., Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Tomás-Almenar, C., Melenchón, F., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Rodríguez-Rodríguez, M., Montes-Lopez, J., 2020. Comparative study of growth performance and amino acid catabolism in *Oncorhynchus mykiss*, *Tinca tinca* and *Sparus aurata* and the catabolic changes in response to insect meal inclusion in the diet. *Aquaculture*, 529, 735731.

FAO. 2018. La Situation Mondiale Des Pêches et de l'aquaculture. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome, Italie, ISBN 978-92-5-130692-5.

FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture, Rome, Italy, ISBN 9789252091851.

Fawole, F.J., Adeoye, A.A., Tihamiyu, L.O., Ajala, K.I., Obadara, S.O., Ganiyu, I.O., 2020. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. *Aquaculture*, 518, 734849.

Guerreiro, I., Castro, C., Antunes, B., Coutinho, F., Rangel, F., Couto, A., Serra, C.R., Peres, H., Pousão-Ferreira, P., Matos, E., et al., 2020. Catching black soldier fly for meagre: Growth, whole-body fatty acid profile and metabolic responses. *Aquaculture*, 516, 734613.

Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol*, 203, 1–22.

Higgins, J.P.T., Thompson, S.G., 2002. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat. Med*, 21, 1539–1558.

Hoc, B., Genva, M., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Francis, F., Caparros Megido, R., 2020. About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Sci. Rep*, 10, 11916.

Hoc, B., Tomson, T., Malumba, P., Blecker, C., Jijakli, M.H., Purcaro, G., Francis, F., Caparros Megido, R., 2021. Production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae-based formulations with

differentiated fatty acid profiles. *Sci. Total Environ*, 794, 148647–148647.

Hu, Y., Huang, Y., Tang, T., Zhong, L., Chu, W., Dai, Z., Chen, K., Hu, Y., 2020. Effect of partial black soldier fly (*Hermetia illucens* L. 1758) larvae meal replacement of fish meal in practical diets on the growth, digestive enzyme and related gene expression for rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquac. Reports*, 17, 100345.

Hua, K., 2021. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture*, 530, 735732.

Józefiak, A., Nogales-Mérida, S., Mikołajczak, Z., Rawski, M., Kierończyk, B., Mazurkiewicz, J., 2019. The Utilization of Full-Fat Insect Meal in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Nutrition: The Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota and Gastrointestinal Tract Histomorphology. *Ann. Anim. Sci*, 19, 747–765.

Katya, K., Borsra, M.Z.S., Ganesan, D., Kuppusamy, G., Herriman, M., Salter, A., Ali, S.A., 2017. Efficacy of insect larval meal to replace fish meal in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* reared in freshwater. *Int. Aquat. Res*, 9, 303–312.

Kroeckel, S., Harjes, A.E., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute — Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364–365, 345–352.

Liland, N.S., Araujo, P., Xu, X.X., Lock, E.J., Radhakrishnan, G., Prabhu, A.J.P., Belghit, I., 2020. A meta-analysis on the nutritional value of insects in aquafeeds. *J. Insects as Food Feed*, 7, 743–759.

Lin, L., Chu, H., 2018. Quantifying publication bias in meta-analysis. *Biometrics*, 74, 785–794, doi:10.1111/biom.12817.

Madibana, M.J., Mwanza, M., Lewis, B.R., Fouché, C.H., Toefy, R., Mlambo, V., 2020. Black Soldier Fly Larvae Meal as a Fishmeal Substitute in Juvenile Dusky Kob Diets: Effect on Feed Utilization, Growth Performance, and Blood Parameters. *Sustainability*, 12, 9460.

Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R.S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 476, 79–85.

Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 528, 735511.

Melenchón, F., LarráMen, A., de Mercado, E., Hidalgo, M., Cardenete, G., Barroso, F., Fabrikov, D., Lourenço, H., Pessoa, M., Tomás-Almenar, C., 2020. Potential use of black soldier fly (*Hermetia illucens*) and mealworm (*Tenebrio molitor*) insectmeals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr*, 27, 491–505.

Moula, N., Detilleux, J., 2019. A Meta-Analysis of the Effects of Insects in Feed on Poultry Growth Performances. *Animals*, 9, 201.



National Research Council. 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, National A. Washington, DC, ISBN 9781626239777.

Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kierończyk, B., Józefiak, D., 2020. Black Soldier Fly Full-Fat Larvae Meal as an Alternative to Fish Meal and Fish Oil in Siberian Sturgeon Nutrition: The Effects on Physical Properties of the Feed, Animal Growth Performance, and Feed Acceptance and Utilization. *Animals*, 10, 2119.

Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., Biasibetti, E., et al., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 8, 1–13.

Röver, C., 2020. Bayesian Random-Effects Meta-Analysis Using the bayesmeta R Package. *J. Stat. Softw.*, 93.

Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F., 2014. Insect Meal as Renewable Source of Food for Animal Feeding: A Review. *J. Clean. Prod.*, 65, 16–27.

Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.J., Sauvant, D., Schmidely, P., Les, J.J.D., 2005. Les méta-analyses des données expérimentales : applications en nutrition animale. *INRA, Prod. Anim.*

Stejskal, V., Tran, H.Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P.T., Gai, F., Gasco, L., 2020. Partially Defatted *Hermetia illucens* Larva Meal in Diet of Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) Juveniles. *Animals*, 10, 1876.

Sterne, J.A.C., Gavaghan, D., Egger, M., 2000. Publication and related bias in meta-analysis: Power of statistical tests and prevalence in the literature. *J. Clin. Epidemiol.*, 53, 1119–1129.

Sung, L., Beyene, J., Hayden, J., Nathan, P.C., Lange, B., Tomlinson, G.A., 2006. A Bayesian meta-analysis of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in children with cancer. *Am. J. Epidemiol.*, 163, 811–817.

Terova, G., Rimoldi, S., Ascione, C., Gini, E., Ceccotti, C., Gasco, L., 2019. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gut microbiota is modulated by insect meal from *Hermetia illucens* prepupae in the diet. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 29, 465–486.

Tippayadara, N., Dawood, M.A.O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H. Van, Paolucci, M., 2021. Replacement of Fish Meal by Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal: Effects on Growth, Haematology, and Skin Mucus Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals*, 11, 193.

Tschirner, M., Kloas, W., 2017. Increasing the Sustainability of Aquaculture Systems: Insects as Alternative Protein Source for Fish Diets. *GAIA - Ecol. Perspect. Sci. Soc.*, 26, 332–340.

van Huis, A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.*, 58, 563–583.

Wang, G., Peng, K., Hu, J., Yi, C., Chen, X., Wu, H., Huang, Y., 2019. Evaluation

of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture*, 507, 144–154.

Wang, Y.S., Shelomi, M., 2017. Review of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Animal Feed and Human Food. *Foods*, 91-.

Weththasinghe, P., Hansen, J., Nøkland, D., Lagos, L., Rawski, M., Øverland, M., 2021. Full-fat black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) meal and paste in extruded diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect on physical pellet quality, nutrient digestibility, nutrient utilization and growth performances. *Aquaculture*, 530, 735785.

Wiebe, N., Vandermeer, B., Platt, R.W., Klassen, T.P., Moher, D., Barrowman, N.J., 2006. A systematic review identifies a lack of standardization in methods for handling missing variance data. *J. Clin. Epidemiol*, 59, 342–353.

Xiao, X., Jin, P., Zheng, L., Cai, M., Yu, Z., Yu, J., Zhang, J., 2018. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal protein as a fishmeal replacement on the growth and immune index of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquac. Res.* 49, 1569–1577.

Xu, X., Ji, H., Yu, H., Zhou, J., 2020. Influence of dietary black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus, 1758) pulp on growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquac. Nutr.* 432–443.



---

## **Discussion générale, perspectives et conclusion**



## 1. Discussion et perspectives

Cette recherche doctorale s'est intéressée à un problème d'actualité mondiale. La problématique de l'utilisation de la farine et de l'huile de poisson comme source de protéines et d'acides gras dans l'alimentation des poissons d'élevage est devenue préoccupante à bien des égards. La surpêche d'espèces de la faune sauvage ichtyologique menace chaque année l'équilibre écologique des milieux exploités. Par ailleurs, la technologie de production de ces intrants piscicoles induit un coût élevé de l'aliment et par conséquent, du poisson marchand. Cet impact économique est encore plus marqué dans certains pays comme le Bénin où l'aliment utilisé par les pisciculteurs n'est pas produit localement, mais importé. L'intérêt pour l'utilisation de la farine d'insecte, plus précisément, celle de la mouche-soldat noire, comme alternative à la farine et à l'huile de poisson s'est accru au vu des avantages biologiques et nutritionnels qu'offre ce diptère recycleur de matières organiques. La maîtrise de l'élevage de l'espèce est un impératif déterminant d'un projet de substitution mais peu d'informations existent sur la technologie complète d'un élevage au Bénin. De même, la qualité nutritionnelle de l'insecte produit doit permettre un remplacement optimal des ingrédients problématiques. Cette recherche a premièrement visé le développement d'une méthode d'élevage adéquate aux conditions locales puis a modulé la qualité nutritionnelle des asticots produits afin d'évaluer les effets sur le tilapia du Nil.

### 1.1. Choix des modèles biologiques

Le choix du tilapia du Nil dans le cadre de ce travail a été principalement motivé par son statut actuel en pisciculture béninoise puisque c'est l'espèce principalement élevée par les pisciculteurs pour la consommation nationale (Rurangwa et al., 2014). Son intérêt provient du fait qu'elle a été domestiquée depuis plus de 4000 ans (Lévêque et al., 2006), qu'elle possède une reproduction facile, une fécondité élevée, une croissance rapide et que les techniques d'élevage sont maîtrisées. De plus, la plupart des programmes de promotion et de développement de l'aquaculture au Bénin se sont concentrés sur cette espèce en parallèle du poisson-chat africain (*C. gariepinus*). Les aliments importés tels que ceux des marques BioMar, Le Guessan, Raanan et Topfeed sont exclusivement destinés à ces deux espèces (Aizonou, 2022). En 2016, la production nationale de *C. gariepinus* représentait 46,7% des poissons marchands fournis par la pisciculture (BBIA, 2017). Ainsi, le poisson-chat africain aurait pu être tout aussi intéressant et nécessaire comme modèle biologique pour évaluer l'effet de la substitution de la farine de poisson par la farine d'insecte. Sur le plan biologique, il apparaît même davantage plus adapté pour une telle étude dans la mesure où c'est une espèce carnivore au contraire d'*O. niloticus* qui est omnivore à forte tendance herbivore. En effet, les besoins en protéines digestibles de *O. niloticus* sont de l'ordre de 29% (NRC, 2011) tandis que *C. gariepinus* requiert environ 40% de protéines pour une croissance optimale (Fawole, 2020, Adeoye). Néanmoins, ce sont les préférences organoleptiques du consommateur béninois qui ont dicté le choix du tilapia du Nil puisque ce dernier est consommé à hauteur de 53% de la production

piscicole en 2016 (BBIA, 2017). Alors que le poisson-chat africain est fortement produit à des fins commerciales pour soutenir la demande nigériane (Rurangwa et al., 2014).

En-dehors de ces deux espèces principales de la pisciculture béninoise, d'autres espèces sont identifiées dans les stocks des fermes piscicoles. Il s'agit principalement du Clariidae *Heterobranchus longifilis* Valenciennes 1840; du Claroteidae *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacepède 1803) et de l'Osteoglossidae *Heterotis niloticus* (Cuvier 1829). Ces espèces sont souvent pêchées en milieu naturel et stockées dans les étangs pour une autoconsommation dans la plupart des cas (BBIA, 2017). Ces espèces pourraient faire l'objet de projets de recherches dans le cadre d'une diversification des espèces piscicoles au Bénin.

Le choix de l'espèce d'insecte dans le cadre de cette recherche devait répondre à certains impératifs. L'espèce doit pouvoir se développer aisément dans un milieu tropical comme le Bénin. Elle doit avoir une fécondité élevée pour envisager un élevage industriel capable, à long terme, de satisfaire les besoins en ressources protéiques de l'industrie aquacole. De plus, son cycle de développement doit être assez court pour garantir une offre continue et régulière de la farine d'insecte. Une espèce comme *Gryllus bimaculatus* De Geer 1773 est difficilement envisageable en considérant uniquement ce paramètre de la durée. En effet, son cycle dure approximativement 65 jours, à partir des œufs jusqu'au dernier stade larvaire et nécessite environ 10 jours supplémentaires pour atteindre le stade adulte (Ibler et al., 2009). Afin de répondre aux fortes demandes pour une telle espèce, un investissement plus important en infrastructures et en matériels serait nécessaire en comparaison à la mouche-soldat noire dont le cycle entier ne dure qu'un mois au maximum dans la présente étude. Un autre critère déterminant dans le choix de l'espèce est son régime alimentaire. Elle doit pouvoir tolérer une diversité de matières organiques afin de mieux gérer les éventuelles pénuries. Son alimentation doit être peu coûteuse afin de produire des insectes économiquement viables. De plus, l'espèce doit pouvoir réagir positivement à une modulation de son régime alimentaire afin de répondre aux objectifs d'enrichissement nutritionnel chez le poisson.

Outre la mouche-soldat noire, le vers de farine (*T. molitor*) et la mouche domestique (*M. domestica*) peuvent constituer des alternatives, comme certaines études l'ont déjà suggéré, chez les poissons (Belforti et al., 2015; Gasco et al., 2016; Sánchez-Muros et al., 2016; Iaconisi et al., 2017; Liu et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Ido et al., 2019). Le vers de farine possède des propriétés nutritives très intéressantes. Ses larves sont particulièrement riches en protéines (47,2 - 60,3%) et en lipides (31,1 - 43,1%) avec un excellent équilibre en acides aminés et possèdent une efficacité de conversion alimentaire (3,9 - 19,1) plus importante que *H. illucens* (1,8 - 2,6) (Rumpold et al., 2013; Makkar et al., 2014; Oonincx et al., 2015). De plus, elle contient un niveau élevé d'acide gras LA (23,1-31%) et une proportion non négligeable d'ALA (1,1-1,4%). Si ses caractéristiques nutritionnelles surplangent globalement celles de la mouche-soldat noire, son développement optimal n'est possible que sur des substrats secs composés de farines nutritives (van Broekhoven et al., 2015). De plus, l'espèce est déjà fortement promue en entomophagie (Caparros Megido et al., 2015). L'adopter

pour l'alimentation animale pourrait à long terme créer une compétition avec l'alimentation humaine.

Le cycle de la mouche domestique est plus rapide que celui de la mouche-soldat noire ; son temps de développement larvaire ne dure que 4 à 9 jours (van Huis et al., 2020). Elle a une plus grande tolérance quant aux variations des conditions abiotiques comme la température et l'humidité (Kenis et al., 2018). Les taux de protéines rapportés pour les larves varient de 42,3 à 60,4% (Makkar et al., 2014) et sont plus élevés que ceux des prépuces de la mouche-soldat noire (42 à 48% dans la présente étude). Au niveau des acides gras, il a été rapporté chez les larves de *M. domestica* des niveaux élevés de LA (16,4-23,1%) et une absence de l'acide laurique retrouvé en proportions importantes (32-44% dans la présente étude) chez la mouche-soldat noire. Avant d'envisager de l'adopter comme substitut, certains facteurs doivent être considérés. Premièrement, le poids moyen larvaire en fin de croissance de la mouche domestique ( $\pm 0,02$ g) représente environ le dixième de celui de la mouche-soldat noire ( $\pm 0,2$ g) en matière fraîche. Cette fraction est encore plus élevée en considérant le taux de matière sèche qui est plus faible ( $\pm 25\%$ ) chez *M. domestica* (Ganda et al., 2022) en comparaison à *H. illucens* ( $\pm 35\%$  dans la présente étude). Ainsi la substitution (1:1, matière sèche) de la farine de poisson par la farine de mouche domestique nécessiterait des quantités plus importantes que la farine de mouche-soldat noire. Le risque de transmission d'agents pathogènes doit également être pris en compte. Les adultes de la mouche domestique sont des vecteurs de plusieurs agents pathogènes (bactéries, protozoaires, helminthes, virus) de maladies infectieuses (Iqbal et al., 2014). Ce risque constitue souvent un handicap majeur à l'utilisation de cette mouche en alimentation animale. Toutefois, la transmission de ces agents à l'insecte se fait souvent par la contamination des substrats nourriciers et de l'environnement. Ainsi, le risque infectieux peut être fortement réduit lorsque l'espèce est élevée sur des substrats saints et conservée en toute sécurité dans son enceinte d'élevage. Les infrastructures pour un tel élevage devront donc être conçues pour éviter les échanges permanents avec l'extérieur.

## ***1.2. Elevage et production de masse de la mouche-soldat noire au Bénin***

### **1.2.1. Infrastructures**

Les premiers essais de l'élevage de la mouche-soldat noire étaient basés sur des systèmes qui exposaient à l'état naturel des déchets agro-alimentaires ou organiques afin d'attirer les populations naturelles de femelles pour la ponte (Newton et al., 2005; Nyakeri et al., 2017). Les limites de ce système se sont rapidement révélées, car il ne pouvait assurer une production régulière et massive des larves. Le système adopté dans cette thèse est caractérisé par une structuration de l'élevage, basée sur les phases de développement de l'insecte. Ainsi, le cycle de production est subdivisé en quatre étapes : la reproduction, le pré-grossissement, le grossissement et la gestion des prépuces.

Toutes les expériences d'élevage ont été conduites dans un bâtiment (10 x 3,7 x 2,8 m) construit en béton dont les façades avant et arrière disposaient de fenêtres



grillagées et la toiture, réalisée en feuilles de tôles. Les grilles étaient disposées pour empêcher l'accès aux éventuels rongeurs et reptiles. Avec un tel bâtiment, les paramètres environnementaux (température, humidité relative) sont difficilement contrôlables, contrairement aux systèmes développés dans les régions à climats contrastés (Hoc, 2021). La structure d'élevage aménagée par Hoc (2021) était un conteneur de transport maritime de marchandises. Sa structure hermétique permet un contrôle et une stabilisation des paramètres environnementaux. Toutefois, les dispositifs installés et indispensables au traitement de l'air, à la maintenance du chauffage et de l'humidité sont énergivores et pourraient compromettre la rentabilité économique de la production à grande échelle. Puisque les exigences environnementales diffèrent de la reproduction au grossissement, l'idéal serait de concevoir des unités distinctes pour la reproduction, le pré-grossissement et le grossissement. Des auteurs comme Caruso et al. (2014) l'ont déjà suggéré en nommant l'unité de reproduction « insectarium » et celle du grossissement « larvarium ». Puisque les deux unités sont interdépendantes, il serait plus avantageux de les distinguer en sections dans un même bloc. En revanche, le lieu d'implantation des unités de production de la mouche-soldat noire ne doit pas être pris à la légère. Le processus de décomposition des matières organiques par les larves de mouche engendre une émission d'odeurs peu agréables et qui s'accompagne d'un dégagement d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et de  $\text{CO}_2$  même si les teneurs de ces éléments sont fortement réduites à la fin de la croissance larvaire (Chen et al, 2019). Ainsi, dans une perspective d'industrialisation, il est important d'installer les unités de production dans des lieux isolés des habitations.

### **1.2.2. Reproduction**

La reproduction représente l'étape la plus délicate du cycle de production et détermine la productivité finale. Les paramètres identifiés dans cette étude pour un succès de la reproduction sont la luminosité, la température, la densité et la nature de l'attractant de ponte.

L'exposition d'au moins 12h à la lumière naturelle et l'atteinte des températures optimales (26-27 °C) ne constituent pas une limite dans les zones tropicales comme le Bénin. Ces types d'installations basés sur un système ouvert sont également rencontrés au Kenya (Münke-svendsen et al., 2017) ou en Indonésie (Caruso et al., 2014). Même si ces paramètres permettent d'entrevoir une production continue sur toute l'année au Bénin, les variations de température doivent être prises en compte. En saison pluvieuse, les températures peuvent baisser jusqu'à 22°C (DM, 2022) en moyenne selon les régions et la luminosité peut également faiblir. Si ces conditions ne sont pas suffisantes pour arrêter le cycle de production, les processus biologiques peuvent ralentir, et les rendements ainsi que les durées d'élevage peuvent s'en trouver affectés. De plus, les variations de température sont plus importantes dans le Nord du pays. Des recherches concernant l'effet de ces variations sur les rendements pourront être menées dans le futur. L'humidité relative recommandée pour une reproduction optimale est en moyenne de 70% (Holmes et al., 2012). Ce facteur est assez difficile à contrôler dans un système ouvert qui échange en permanence avec l'atmosphère extérieure. Afin de garantir des conditions minimales d'humidité pour les adultes de

cette étude, les cages ont été périodiquement arrosées au moyen d'un arrosoir en spray. Dans les systèmes fermés, un humidificateur automatique permet de réguler ce paramètre (Hoc et al., 2019). En région tropicale, la question de la gestion de l'humidité relative doit être davantage approfondie surtout pour les périodes de haute chaleur. L'humidification périodique (qui est généralement en moyenne 3 fois dans la journée) des volières avec un spray peut rapidement devenir fastidieuse dans un contexte industriel et l'installation d'arrosiers automatiques réglables peut être envisagée. Par ailleurs, la scission des unités de reproduction et de grossissement prend tout son sens ici. L'activité alimentaire des larves s'accompagne d'un dégagement important de chaleur (Chen et al., 2019); ce qui augmente la température ambiante de la salle et par conséquent réduit le taux d'humidité relative. Séparer les deux unités pourrait donc atténuer les problèmes d'humidité.

Dans cette étude, les résidus d'ananas fermentés issus de la production de jus ont permis d'avoir les meilleurs taux de ponte. D'autres auteurs ont également démontré l'influence des substrats de ponte sur le rendement en œufs (Nyakeri et al., 2017; Sripontan et al., 2017; Boafo et al., 2022). Selon Sripontan et al. (2017), les résidus de fruits constituent les meilleurs attractants. Parmi les résidus identifiés dans le chapitre 3, figurent les résidus de gingembre et de mangue. Ces coproduits peuvent être testés isolément ou en association pour évaluer les rendements de ponte.

Les pré-pupes utilisées pour la reproduction dans cette étude proviennent directement d'une partie du stock destiné à la production de la farine d'insecte. Dans un système de production de masse, il serait plus avantageux de produire des pré-pupes spécifiquement destinées à la reproduction. En effet, les femelles ont besoin d'accumuler une grande réserve énergétique pour la ponte (Tomberlin et al., 2009). Dans ce cas, la formulation des substrats destinés à la production de ces pré-pupes doit tenir compte de ces besoins. Des recherches évaluant l'effet de la composition des substrats d'élevage larvaire sur la durée de vie des adultes, ainsi que la fécondité des femelles et la viabilité des œufs pourraient être entreprises. Un autre paramètre susceptible d'influencer la productivité est la souche de l'espèce. Des investigations pour identifier les souches d'*H. illucens* présentes au Bénin afin de comparer leurs performances pourraient être menées dans le futur.

### 1.2.3. Production larvaire

L'étape de pré-grossissement définie dans la présente étude est très importante dans la gestion pérenne de l'élevage. Elle permet de garantir continuellement l'approvisionnement en jeunes larves de stade 1 ( $\pm 0,01g$ ). Le substrat de pré-grossissement doit donc être choisi de façon à maintenir les larves à ce stade le plus longtemps possible. Les coproduits agricoles ou résidus organiques qui composent ce substrat doivent être peu nutritifs pour éviter une croissance trop rapide des larves. Ainsi, les tourteaux reconnus pour leur haute teneur en protéines, doivent être évités. Le dosage nutritionnel des autres coproduits permettra de réaliser des choix appropriés, mais le groupe des résidus (chapitre 3) peut déjà servir de base. Il contient des coproduits, globalement, à faibles valeurs protéiques et sont les moins coûteux. L'étape de pré-grossissement peut permettre de réduire considérablement les problèmes d'hétérogénéité des tailles. Pour y parvenir, les dispositifs d'incubation des

œufs doivent être prévus pour conduire des cohortes de même âge et de tailles homogènes. A l'instar de pisciculteurs qui ne produisent que des alevins de poissons, des unités de spécialisation en jeunes larves de mouche-soldat noire peuvent être envisagées afin de les fournir aux producteurs désireux de produire uniquement les prépupes sans s'encombrer des étapes délicates et chronophages de la reproduction. Une telle stratégie pourrait intéresser les industries ou structures de transformations agroalimentaires confrontés à des problématiques de gestion des déchets issus de leurs activités.

Les dispositifs de grossissement des larves dans cette étude sont constitués d'unités mobiles en plastique qui permettent une auto-récolte des prépupes. Les producteurs désireux d'utiliser ces modèles doivent prendre en compte la résistance des bacs aux chocs et aux déplacements. Certains modèles industriels basés sur l'auto-récolte sont généralement fixes et constitués de bassins en bétons (Caruso et al., 2014; Philip, 2016; Kenis et al., 2018). Ces dispositifs permettent la gestion simultanée de grands volumes de déchets organiques par les larves. Cependant, ils nécessitent l'utilisation d'un grand espace alors que les modèles mobiles peuvent être empilés et permettre une optimisation de l'espace. Toutefois, certaines contraintes sont liées à l'utilisation du modèle de cette thèse. L'auto-récolte des prépupes nécessite une humidification des substrats à environ 90% d'eau. Pendant cette période d'auto-récolte qui peut durer quelques jours, les bacs de grossissement ne sont pas utilisables, la migration des prépupes n'est pas souvent complète et nécessite parfois des tris ultérieurs. Une solution serait de conduire les larves jusqu'au stade 5 (stade avant les prépupes) et de procéder à un tamisage pour les séparer du substrat asséché. L'efficacité de ce tri dépendra de la nature physique des substrats comme la capacité de rétention de l'eau, la granulométrie ou la texture. Des coproduits fibreux comme la drêche de brasserie peuvent être difficiles à séparer des larves. Des recherches peuvent donc s'orienter vers l'étude physique des coproduits pour une facilité de tamisage de la production larvaire. Cette option permet de repenser les structures de grossissement des larves. Ces bacs avec le système d'auto-récolte peuvent être uniquement destinés à la production de prépupes pour la reproduction et des structures plus simplistes peuvent être envisagées pour la production de larves destinées à l'alimentation animale.

Les résultats du chapitre 4 ont montré des taux de réduction des substrats de plus de 80%. Cependant, un substrat résiduel persiste après le grossissement des larves. Ce substrat affiche des niveaux importants de N, P et K avec des taux élevés de chitine (Gärttling et al., 2020). Les caractéristiques de ces résidus en font d'excellents fertilisants en production végétale (Choi et al., 2009; Gärttling et al., 2020; Kawasaki et al., 2020; Klammsteiner et al., 2020; Quilliam et al., 2020). Une autre piste de recherche serait de les envisager comme des fertilisants dans les étangs piscicoles. Il faudra réaliser les analyses physico-chimiques pour déterminer dans quelle mesure ils peuvent améliorer la productivité primaire des étangs piscicoles.

#### **1.2.4. Choix des coproduits agricoles et influence sur la qualité nutritionnelle des larves**

Le choix des coproduits agricoles pour constituer les substrats d'élevage de la mouche-soldat noire dépend de plusieurs facteurs comme la valeur nutritionnelle, la disponibilité et le prix.

La composition nutritionnelle des larves ou prépuces de la mouche-soldat noire en protéines, acides aminés, lipides totaux et acides gras est intrinsèquement liée à la valeur nutritionnelle de son régime alimentaire et a été démontrée dans cette thèse (chapitre 4) ainsi que par d'autres auteurs (Spranghers et al., 2017; Scala et al., 2020; Fuso et al., 2021). Les taux de protéines, dans cette étude, ont varié de 42 à 48% en fonction des substrats d'élevage. Les teneurs en lipides totaux ont également varié de 23 à 33%. Bien que ces valeurs soient supérieures à celles de prépuces produits dans d'autres études, il est encore envisageable d'obtenir des taux de protéines plus élevés comme les prépuces nourries avec des foies de porc qui contenaient 63% de protéines (Nguyen et al., 2015). Les taux de protéines dans les substrats constituent donc un critère qui doit orienter le choix d'un coproduit pour la formulation du substrat nourricier. Parmi les groupes de coproduits inventoriés au chapitre 3, les tourteaux entrent parfaitement dans cette catégorie avec des teneurs en protéines de plus de 35%. Parmi les résidus, la drêche de brasserie est un choix idéal à tester avec un taux de protéines de 29,5% (Adéyèmi et al., 2020). Les limites actuelles dans la composition des substrats proviennent du fait que les besoins nutritionnels réels de l'espèce ne sont pas connus. Les variations de valeurs nutritionnelles dans la littérature indiquent bien que les seuils de valorisation des régimes alimentaires par les insectes restent à déterminer. L'identification de ces besoins aiderait grandement à la formulation de substrats efficaces.

La qualité nutritionnelle ne suffit pas à elle seule à opérer le choix d'un coproduit. Sa disponibilité en matière de quantités produites et accessibles est nécessaire dans un schéma industriel. Cependant, connaître les quantités produites ne suffit pas. La vraie question est : les quantités disponibles, suffisent-elles à produire la quantité de farine d'insecte nécessaire à la satisfaction de la demande piscicole ? Cette question devra être traitée dans le cadre de l'actualisation des données de cette thèse, car de nouvelles industries de transformation agroalimentaires ont été créées depuis cette enquête réalisée en 2018.

Les coproduits utilisés comme substrats exigent parfois des traitements préliminaires. Les abats de poissons doivent être séchés et broyés au préalable. Les tourteaux, résidus ou fruits doivent également subir un broyage pour faciliter l'ingestion chez les larves. Ces processus peuvent être contraignants lorsqu'ils deviennent répétitifs surtout à grande échelle. Des industries ou des sections d'une grande unité de production devraient se spécialiser dans la production d'un substrat d'élevage standard. Un tel substrat pré-formulé, possède l'avantage de réduire la charge de travail pour les producteurs et pourrait réduire le coût de production. Un autre avantage serait d'avoir la même qualité nutritionnelle de prépuces ou farines produites à chaque cycle. Il est important que pour une substitution de la farine de

poisson en pisciculture, les variations nutritionnelles ne soient pas significatives entre les prépupes produits.

L'idée originale qui sous-tendait l'utilisation de la mouche-soldat noire est la gestion des déchets organiques, des déjections animales issues des fermes de production et des rejets industriels (Newton et al., 2005; van Huis, 2013; Liu et al., 2019) avant d'être promu en alimentation animale pour ses caractéristiques nutritionnelles. Un projet intégrant ce paramètre serait économiquement et écologiquement plus viable. Dans cette optique, une production industrielle de mouche-soldat noire pourrait être envisagée à partir de déchets organiques ménagers et de restaurants. Des systèmes de tri des déchets peuvent être instaurés auprès des fournisseurs pour obtenir uniquement les résidus organiques. Les quantités pourront être estimées et les analyses nutritionnelles réalisées afin de définir les bases de leurs utilisations.

Les teneurs élevées en lipides ainsi que les profils déséquilibrés en acides gras des prépupes de mouche-soldat noire élevées sur des régimes standards limitent leur inclusion dans le régime des poissons. Ces profils en acides gras ont donc été modulés en composant les substrats des insectes avec des sources de AGPI tels que la plante *Euphorbia heterophylla* riche en LA et ALA et les abats de poissons marins contenant des niveaux élevés en EPA et DHA. Les prépupes nourries avec ces régimes ont accumulés les acides gras, LA, ALA, EPA et DHA en proportions variables, ce qui confirme l'hypothèse que ces AG ne sont pas synthétisés par l'insecte. Les niveaux de LA et ALA étaient plus élevés dans les prépupes des régimes exclusivement végétaux et étaient dépourvus des EPA et DHA. Les prépupes des régimes à base d'abats de poisson contenaient des niveaux significatifs d'EPA et de faibles proportions de DHA. Bien que le transfert des AGPI des régimes vers l'insecte soit réel, les proportions d'AGS demeurent très importantes avec l'acide laurique (C12:0) qui excède 30% des acides gras. Certains auteurs ont démontré la tendance de l'espèce à privilégier la synthèse de ces AGS (Hoc et al., 2020). Ils pourraient donc constituer des acides gras indispensables dans le cycle biologique de l'espèce et dont les rôles sont encore mal connus.

Les abats de poissons utilisés comme source d'EPA et de DHA doivent être mieux étudiés. Le procédé de séchage à l'étuve pourrait altérer une partie des acides gras polyinsaturés. Certains auteurs ont déjà démontré que différents traitements thermiques ont influencé de façon diverse les profils en acides gras dans les tissus du brochet, de la carpe, de la morue et du hareng (Schneedorferová et al., 2015). L'étude devra donc comparer les profils et les teneurs en acides gras avant et après séchage. De plus, les abats séchés ont été directement utilisés dans les études réalisées dans cette thèse. L'effet de la conservation au cours du temps sur leur qualité nutritionnelle doit être étudié en prévision des stockages de grands volumes dans un contexte industriel.

Les sources d'enrichissement en AGPI-LC sont assez limitées et presque toutes d'origine marine (Tocher et al., 2003). Dans les écosystèmes marins, les AGPI-LC sont synthétisés par les producteurs primaires, spécialement les phytoplanctons. Ils sont, ensuite, incorporés aux lipides des zooplanctons qui les transfèrent aux poissons

(NRC, 2011). La production de ces algues peut donc être envisagée si elle permet de substituer nutritionnellement l'huile de poisson et permet de garantir une production peu coûteuse.

### 1.2.5. Perspectives de production industrielle

Les projets de production industrielle de la farine de la mouche-soldat noire pour satisfaire la demande en farine de poisson doivent tenir compte des objectifs de production nationale estimée à 20.000 t/an. En considérant un indice de conversion de l'aliment de 1,4, les quantités d'aliments nécessaires pour une telle production devraient être en moyenne de 28.000 t/an. En considérant les données de l'étude 1 du chapitre 5, il faut 0,2 Kg de farine d'insecte à un taux de protéines de 48% pour substituer 100% de la farine de poisson à un taux de protéines de 89% dans 1kg d'aliment. Par conséquent, il faudrait donc 5600 t de farine d'insecte par an pour satisfaire une telle demande. Une production mensuelle reviendrait à produire 467 t de farine d'insecte.

Le tableau 21 présente les paramètres de base, issus des résultats de cette thèse, à considérer pour une production de 467 t de farine d'insecte par mois. Les calculs montrent qu'il faudrait disposer d'environ 5.337 t de substrat (matière sèche) par mois. Cependant, les chiffres doivent probablement être reconsidérés si l'on décide de passer à une échelle industrielle. En effet, passer de l'échelle de laboratoire ou d'un élevage à petite échelle à une production industrielle de plusieurs tonnes n'est pas forcément linéaire. Il serait donc utile de réaliser des tests complémentaires avec de plus grands volumes de substrats afin d'ajuster les données de la présente étude.

**Tableau 21** : Simulation d'une production de farine d'insecte à l'échelle industrielle pour satisfaire la demande en annuelle nationale

<b>Paramètres de base</b>	
Quantité de farine d'insecte à produire (t/mois)	467
Matière sèche des Prépupes (%)	35
Superficie des bacs de grossissement (m <sup>2</sup> )	0,5
Densité de larves par bacs (individus)	10.000
Quantité d'œufs produits par cage (g)	12
<b>Résultat Reproduction</b>	
Dimensions des cages de reproduction	90x90x90 cm
Nombre de cages de reproduction	13343
<b>Résultat Grossissement</b>	
Quantité de prépupes (t/mois)	1.335
Quantité de substrat en matière sèche (t/mois)	5.337
Nombre de bacs de grossissement	555957

Afin de garantir la sécurité de la production, il serait intéressant d'envisager une multiplication des unités de production. En effet, centraliser toute la production en un seul lieu reviendrait à exposer le système à une perte complète en cas de maladie ou d'aléas néfastes.

### ***1.3. Nutrition du tilapia du Nil à partir de prépuces de mouche-soldat noire enrichies***

Les expériences sur les poissons ont été conduites sur des alevins du tilapia du Nil pendant approximativement 60 jours. Dans les aliments formulés, la farine et l'huile de poisson ont été totalement remplacées par les farines de mouche-soldat noire produites et enrichies ou non en LA, ALA et EPA. Deux différents tests nutritionnels ont été réalisés avec des aliments témoins contenant 100% de farine de poisson. Dans la première expérience, les poissons ont été nourris avec deux farines de mouche-soldat noire enrichies ou non en LA+EPA. Dans la seconde expérience, les deux farines expérimentales sont enrichies respectivement en LA+ALA et en EPA+DHA avec des niveaux d'accumulation plus élevés que dans la première expérience. La croissance des poissons de la première expérience n'a pas été affectée contrairement à la seconde expérience dans laquelle les croissances des poissons nourris avec les régimes expérimentaux étaient plus faibles que les témoins. Dans les deux expériences, la digestibilité des protéines était plus basse chez les poissons nourris avec la mouche-soldat noire. Il a été démontré dans les expériences que l'enrichissement en AG des farines de mouche-soldat noire se reflétait chez les poissons et que les niveaux d'EPA n'étaient pas différents de ceux des poissons témoins. En revanche, les niveaux de DHA dans les poissons nourris aux insectes étaient plus faibles que chez les témoins. Les différents résultats ont démontré l'importance de moduler le profil lipidique des prépuces de mouche-soldat noire pour espérer une substitution efficace de la farine de poisson. Cependant, les expériences de nutrition des poissons ont été conduites pendant 2 mois. Or, la taille marchande pour *O. niloticus* est atteinte généralement en 6 mois. Vu que les réponses physiologiques chez les poissons dépendent généralement de l'espèce, mais également du stade de développement (NRC, 2011), les conclusions tirées dans cette étude peuvent ne pas s'appliquer aux stades ultérieurs de développement. Les expériences pourraient donc être poursuivies.

La digestibilité des protéines chez les poissons nourris aux régimes à base d'insectes était plus faible. Le facteur probable mis en cause est la teneur élevée en chitine des prépuces. L'ajout de chitinase aux farines de mouche-soldat noire pourrait augmenter la digestibilité des aliments et améliorer la vitesse de croissance des poissons. Toutefois, ce procédé est assez coûteux et ne conviendrait pas dans un contexte de rentabilité en entreprise. Le meilleur compromis serait d'utiliser les larves du stade 5 au lieu des prépuces comme substituts. Sur le plan nutritionnel, les différences entre les deux stades sont peu significatives (Giannetto et al., 2020). Ces auteurs ont même enregistré chez les larves du stade 5 des taux d'AGPI supérieurs (11,57%) à ceux des prépuces (7,13%) avec des niveaux de ALA deux fois plus importants dans les larves. Utiliser les larves améliorerait la digestibilité des aliments, mais permettrait également

de raccourcir la durée du cycle de production de la farine de mouche-soldat noire. Il faudra cependant trier les larves du stade 5, ce qui augmenterait significativement la charge de travail.

#### ***1.4. Considérations économiques de la production de poissons à partir de la farine de mouche-soldat noire***

Les coûts des farines de mouche-soldat noire produites dans le chapitre 4 ont été évalués et varient de 1,84\$ à 4,33\$ par kg. Les prix résultants de ces coûts prendraient forcément des valeurs supérieures puisque d'autres facteurs tels que la demande et la concurrence devront être intégrés. Avec les données actuelles, le prix prévisionnel de la farine de mouche-soldat noire est bien supérieur au prix de la farine de poisson (0,5\$/kg) disponible au Bénin (Adéyèmi et al., 2020). Cependant, la qualité de cette farine de poisson reste moyenne (29% de protéines et 77% de lipides) pour celle provenant du Sénégal (Adéyèmi et al., 2020). Le principal facteur de variation du coût de production est le coût du substrat. Les abats de poisson utilisés dans cette étude sont obtenus gratuitement, mais constituent un substrat de complément pour apporter des AGPI à l'insecte. La base du substrat reste d'origine végétale et les prix actualisés des coproduits listés dans le chapitre 3 devront orienter les tests futurs. Par ailleurs, des analyses économiques de rentabilité de la filière entière de production du poisson doivent être réalisées. Les aliments à base de farine de mouche-soldat noire devraient être testés à l'échelle d'une production commerciale de poissons.

## **2. Conclusion**

La filière piscicole au Bénin est un secteur d'avenir qui connaît plusieurs défis. La problématique de l'alimentation en pisciculture a été traitée dans cette thèse à travers le tilapia du Nil qui est l'une des deux espèces principales du secteur aquacole au Bénin. La recherche d'un substitut efficace et peu coûteux a conduit à s'intéresser à la mouche-soldat noire qui suscite un intérêt grandissant en alimentation animale. C'est une espèce extrêmement prometteuse de par ses qualités biologiques et nutritionnelles.

Ce travail a permis de développer un élevage fonctionnel au Bénin en définissant les paramètres de base de sa réussite. Ainsi, la technique de reproduction et de production larvaire a été maîtrisée à l'échelle expérimentale de laboratoire. Il faudra cependant revoir les estimations à une plus grande échelle. Bien qu'une diversité de coproduits agricoles soit identifiée pour cet élevage, des choix raisonnables doivent être encore faits en intégrant les aspects nutritionnels, de disponibilité et de coûts.

Les farines d'insectes ont été enrichies avec succès en acides gras polyinsaturés à partir de coproduits végétaux et animaux. La production massive de l'euphorbe utilisée peut être envisagée après des analyses de toxicité. Les abats de poisson utilisés dans cette étude comme source d'EPA et de DHA doivent être encore étudiés au niveau des aspects sanitaires et nutritionnels avant de pouvoir les adopter.



Les poissons nourris avec les régimes à base de farines d'insecte enrichies ont présenté de bonnes performances de croissance bien que globalement inférieures aux poissons nourris avec les régimes à base de farine et d'huile de poisson. Toutefois, la digestibilité des aliments à base d'insecte était plus faible et des solutions d'amélioration doivent être recherchées. Les résultats sur le plan nutritionnel sont également encourageants avec un enrichissement des poissons en acides gras polyinsaturés et permettent d'entrevoir une substitution totale de la farine et de l'huile de poisson. Cependant, les sources alternatives à l'huile de poisson étant limitées, il serait plus justifié de tendre vers une substitution partielle.

Les insectes ne sont pas une source de protéines commune dans les régions du Bénin et constitueraient une innovation alimentaire. Des études d'acceptation par le consommateur devront être effectuées avant de produire des poissons à partir de mouche-soldat noire pour la consommation des populations béninoises.

### 3. Références

Adéyèmi A.D., Kayodé A.P.P., Chabi I.B., Odouaro O.B.O., Nout M.J.R. & Linnemann A.R., 2020. Screening local feed ingredients of Benin, West Africa, for fish feed formulation. *Aquac. Reports* 17(January), 100386.

Aizonou R., 2022. Optimisation de la production piscicole en cages dans les écosystèmes aquatiques du Sud-Bénin : cas du Complexe lagunaire Toho-Todounga. Thèse de Doctorat, Université Nationale d'Agriculture, Bénin, 167 p

BBIA, 2017. Projet de vulgarisation de l'aquaculture continentale en republique du benin (provac-2), Rapport d'activité, 260p.

Belforti M., Gai F., Lussiana C., Renna M., Malfatto V., Rotolo L., De Marco M., Dabbou S., Schiavone A., Zoccarato I. & Gasco L., 2015. *Tenebrio Molitor* Meal in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Diets: Effects on Animal Performance, Nutrient Digestibility and Chemical Composition of Fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* (4), ijas.2015.4170-ijas.2015.4170.

Boafo H.A., Gbemavo D.S.J.C., Timpong-Jones E.C., Eziah V., Billah M., Chia S.Y., Aidoo O.F., Clotey V.A. & Kenis M., 2022. Substrates most preferred for black soldier fly *Hermetia illucens* (L.) oviposition are not the most suitable for their larval development. *J. Insects as Food Feed* 1–10.

Caparros Megido R., Alabi T., Larreché S., Alexandra L., Haubruge É. & Francis F., 2015. Risques et valorisation des insectes dans l'alimentation humaine et animale. *Ann. la Société Entomol. Fr.* 51(3), 215–258.

Caruso D., Devic E., Subamia I.W., Talamond P. & Baras E., 2014. *Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (BSF)*, IPB Press, Bogor, Indonesia, 141.

Chen J., Hou D., Pang W., Nowar E.E., Tomberlin J.K., Hu R., Chen H., Xie J., Zhang J., Yu Z. & Li Q., 2019. Effect of moisture content on greenhouse gas and NH<sub>3</sub> emissions from pig manure converted by black soldier fly. *Sci. Total Environ.* 697, 133840.

Choi Y., Choi J., Kim J., Kim M., Kim W., Park K. & Bae S., 2009. Potential Usage of Food Waste as a Natural Fertilizer after Digestion by *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Int. J. Ind. Entomol.* 19(1), 171–174.

DM, 2022. Données mondiales. <https://www.donneesmondiales.com/afrique/benin/index.php>, (13/07/2022).

Fuso A., Barbi S., Macavei L.I., Luparelli A.V., Maistrello L., Montorsi M., Sforza S. & Caligiani A., 2021. Effect of the rearing substrate on total protein and amino acid composition in black soldier fly. *Foods* 10(8), 1–15.

Ganda H., Zannou E.T., Kenis M., Abihona H.A., Houndonougbo F.M., Chrysostome C.A.A.M., Chougourou D.C. & Mensah G.A., 2022. Effect of four rearing substrates on the yield and the chemical composition of housefly larvae, *Musca domestica* L. 1758 (Diptera: Muscidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 42(2), 1331–1339.

Gärttling D., Kirchner S.M. & Schulz H., 2020. Assessment of the N- and P-Fertilization Effect of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) By-Products on Maize. *J. Insect Sci.* 20(5), 1–11.

Gasco L., Henry M., Piccolo G., Marono S., Gai F., Renna M., Lussiana C., Antonopoulou E., Mola P. & Chatzifotis S., 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.* 34–45.

Giannetto A., Oliva S., Ceccon Lanes C.F., de Araújo Pedron F., Savastano D., Baviera C., Parrino V., Lo Paro G., Spanò N.C., Cappello T., Maisano M., Mauceri A. & Fasulo S., 2020. *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *J. Biotechnol.* 307(October 2019), 44–54.

Hoc B., 2021. Development of artificial black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.1758)) rearing from agricultural by-products to produce aquaculture feed ingredients.

Hoc B., Genva M., Fauconnier M.-L., Lognay G., Francis F. & Caparros Megido R., 2020. About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Sci. Rep.* 10(1), 11916.

Hoc B., Noël G., Carpentier J., Francis F. & Megido R.C., 2019. Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction. *PLoS One* 14(4), 1–13.

Holmes L.A., Vanlaerhoven S.L. & Tomberlin J.K., 2012. Relative Humidity Effects on the Life History of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Environ. Entomol.* 41(4), 971–978.

Iaconisi V., Marono S., Parisi G., Gasco L., Genovese L., Maricchiolo G., Bovera F. & Piccolo G., 2017. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture* 49–58.

Ibler B., Makert G.R. & Lorenz M.W., 2009. Larval and adult development and organisation of a systemic breeding of the Mediterranean field cricket (*Gryllus*

*bimaculatus* de Geer, 1773). *Der Zool. Garten* 78(81–101).

Ido A., Hashizume A., Ohta T., Takahashi T., Miura C. & Miura T., 2019. Replacement of Fish Meal by Defatted Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in Diet Improves Growth Performance and Disease Resistance in Red Seabream (*Pargus major*). *Anim.* (3), 100-.

Iqbal W., Faheem M.M., Kaleem S.M., Iqra A., Iram N. & Rashda A., 2014. Role of housefly (*Musca domestica*, Diptera; Muscidae) as a disease vector; a review. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2(2), 159–163.

Kawasaki K., Kawasaki T., Hirayasu H., Matsumoto Y. & Fujitani Y., 2020. Evaluation of fertilizer value of residues obtained after processing household organic waste with black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Sustain.* 12(12).

Kenis M., Bouwassi B., Boafu H., Devic E., Han R., Koko G., Koné N., Maciel-Vergara G., Nacambo S., Pomalegni S.C.B., Roffeis M., Wakefield M., Zhu F. & Fitches E., 2018. Small-Scale Fly Larvae Production for Animal Feed. In: Halloran, A., Flore, R., Vantomme, P., Roos, N. eds. *Edible Insects in Sustainable Food Systems*. Springer International Publishing, Cham, 239–261.

Khosravi S., Kim E., Lee Y.-S. & Lee S.-M., 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Entomol. Res.* (3), 214–221.

Klammsteiner T., Turan V., Juárez M.F.D., Oberegger S. & Insam H., 2020. Suitability of black soldier fly frass as soil amendment and implication for organic waste hygienization. *Agronomy* 10(10 October).

Lévêque C. & Paugy D., 2006. Les poissons des eaux continentales africaines: Diversité, écologie, utilisation par l'homme, 59–74, Paris, France. ISBN : 2-7099-1589-8

Liu T., Awasthi M.K., Chen H., Duan Y., Awasthi S.K. & Zhang Z., 2019. Performance of black soldier fly larvae (Diptera: Stratiomyidae) for manure composting and production of cleaner compost. *J. Environ. Manage.* 251(March).

Liu X., Chen X., Wang H., Yang Q., ur Rehman K., Li W., Cai M., Li Q., Mazza L., Zhang J., Yu Z. & Zheng L., 2017. Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. *PLoS One* 12(8), e0182601.

Makkar H.P.S., Tran G., Heuzé V. & Ankers P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197(November 2017), 1–33.

Münke-svendsen C. & Halloran A., 2017. Insect production systems for food and feed in Kenya (June).

Newton L., Sheppard C., Watson W.D., Burtle G. & Dove R., 2005. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. *J. Korean Entomol. Appl. Sci.* 36(12), 17 pp.

Nguyen T.T.X., Tomberlin J.K. & Vanlaerhoven S., 2015. Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste. *Environ. Entomol.* 44(2), 406–410.

NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp, Washington, DC, 376p.,

ISBN 9781626239777

Nyakeri E.M., Ogola H.J.O., Amimo F.A. & Ayieko M.A., 2017. Comparison of the performance of different baiting attractants in the egg laying activity of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) 5(6), 1583–1586.

Ooninx D.G.A.B., van Broekhoven S., van Huis A. & van Loon J.J.A., 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLoS One* 10(12), e0144601.

Philip B., 2016. En Malaisie , une ferme de mouches pour nourrir l'aquaculture 11–14.

Quilliam R., Nuku-Adeku C., Maquart P., Little D., Newton R. & Murray F., 2020. Integrating insect frass biofertilisers into sustainable peri-urban agro-food systems. *J. insects as food Feed* (3), 315–322.

Rumpold B.A. & Schlüter O.K., 2013. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 17, 1–11.

Rurangwa E., van den Berg J., Laleye P., van Duijn A. & Rothuis A., 2014. Mission exploratoire : Pêche , Pisciculture et Aquaculture au Bénin, un quick scan du secteur pour des possibilités d'interventions, 27.

Sánchez-Muros M., de Haro C., Sanz A., Trenzado C., Villareces S. & Barroso F., 2016. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquac. Nutr.* (5), 943–955.

Scala A., Cammack J.A., Salvia R., Scieuzo C., Franco A., Bufo S.A., Tomberlin J.K. & Falabella P., 2020. Rearing substrate impacts growth and macronutrient composition of *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) larvae produced at an industrial scale. *Sci. Rep.* 10(1), 19448.

Schneedorferová I., Tomčala A. & Valterová I., 2015. Effect of heat treatment on the n-3/n-6 ratio and content of polyunsaturated fatty acids in fish tissues. *Food Chem.* 176, 205–211.

Spranghers T., Ottoboni M., Klootwijk C., Owyn A., Deboosere S., De Meulenaer B., Michiels J., Eeckhout M., De Clercq P. & De Smet S., 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J. Sci. Food Agric.* (8), 2594–2600.

Sripontan Y. & Chiu C., 2017. Egg-trapping of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera : Stratiomyidae) with various wastes and the effects of environmental factors on egg-laying. *Khon kaen agr. j.*45 (1): 179-184

Tocher D.R., Bell J.G., Mcghee F., Dick J.R. & Fonseca-Madrigal J., 2003. Effects of dietary lipid level and vegetable oil on fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) over the whole production cycle, *Fish Physiology and Biochemistry*, 193–209.

Tomberlin J.K., Adler P.H. & Myers H.M., 2009. Development of the Black Soldier Fly (Diptera : Stratiomyidae) in Relation to Temperature. *Environ. Entomol.* 38(Hogsette 1992), 930–934.

van Huis A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.* 58(1), 563–583.

van Huis A., Oonincx D.G.A., Rojo S. & Tomberlin J., 2020. Insects as feed: house fly or black soldier fly? *J. Insects as Food Feed* 6(3), 221–229.

van Broekhoven S., Oonincx D.G.A.B., van Huis A. & van Loon J.J.A., 2015. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *J. Insect Physiol.* 73, 1–10.

Wilson R.P., 2003. Amino Acids and Proteins. *In: Fish Nutrition*. Elsevier, 143–179.



# Appendices

---

**Fiches techniques et Productions  
scientifiques**





# 1. Fiche chronologique de la production de la mouche-soldat noire au Bénin

Activités/Événements		Jours																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Reproduction	Préparation des volières	■																													
	Introduction des prépuces dans des cages exposées à la lumière du soleil (8500 ind/m <sup>3</sup> )	■																													
	Émergence des imagos					■	■																								
	Introduction de substrat attractif dans les cages (500g de déchets d'ananas)				■																										
	Introduction d'un tissu imbibé d'eau dans les cages				■																										
	Mise en place des pondoirs				■																										
	Ponte des œufs							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Mise en place des bacs d'incubation avec les drêches de soja				■																										
	Collecte et incubation des œufs							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Éclosion des œufs									■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Grossissement	Tri des larves (poids moyen 0,01g) avec un tamis de 2mm de maille.																														
	Mise en place des bacs de croissance																														
	Introduction du substrat de croissance (0,5g/larve)																														
	Humidification du substrat à ± 70%.																														



## 2. Photothèque



Unité de production de la mouche-soldat noire, Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture, Université d'Abomey-Calavi



Etapes de la reproduction chez la mouche-soldat noire



Grossissement et récolte des prépuces de la mouche-soldat noire

### 3. Production scientifique

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Megido R.C., 2020. Inventaire des coproduits agricoles potentiellement utilisables pour la production de pupes de mouche *Hermetia illucens* (L. 1758) pour l'alimentation piscicole au Bénin. *Tropicultura* 38 (3–4), 1–18.

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2021. Technical basis for the small-scale production of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L. 1758), meal as fish feed in Benin. *J. Agric. Food Res.* 4, 100153.

Gougbedji A., Detilleux J., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2022. Can Insect Meal Replace Fishmeal? A Meta-Analysis of the Effects of Black Soldier Fly on Fish Growth Performances and Nutritional Values. *Animals* 12(13), 1700.

Agbohessou PS, Mandiki SN, Gougbedji A, et al., 2021. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole-body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. *Aquacult Nutr.* 00:1-17.

Agbohessou PS, Mandiki SN, Gougbedji A, et al., 2021. Efficiency of fatty acid-enriched Dipteran-based meal on husbandry, digestive activity and immunological responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *Aquaculture*; 545: 737193.

Gougbedji A., Agbohessou P., Lalèyè P.A., Francis F. & Caparros Megido R., 2021. Technical basis for the small-scale production of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L. 1758), meal as fish feed in Benin. *Session de posters présentée à INSECTA 2018*

*" 4th International Symposium on Insects " qui s'est déroulé du 5 au 7 septembre 2018 à Giessen, Allemagne.*