

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

“EFECTO EN EL CRECIMIENTO E ÍNDICES NUTRITIVOS DE LA SUSTITUCIÓN DE HARINA DE PESCADO POR HARINA DE INSECTO PARA LUBINA (*Dicentrarchus Labrax*)”

Mención: Explotaciones Agropecuarias

Modalidad: Trabajo Técnico-Experimental

Curso 2019/2020

Alumno/a: María Reyes Ruiz

Director/es:

María José Sánchez-Muros Lozano
Juan Montes López

AGRADECIMIENTOS

Ésta es la parte emotiva del proyecto... comencemos con los agradecimientos.

En primer lugar he de agradecerle todo el trabajo, tiempo, conocimiento y la ayuda que me ha aportado mi gran cotutor en este trabajo JUAN, sin él, el acuario no funcionaría, porque sin sus arreglos, sus diseños y su gran conocimiento... imposible que yo hubiera realizado todo... los días que me ayudó con la alimentación, los problemas técnicos, los problemas eléctricos, los problemas... concluyendo: EN EL ACUARIO NUNCA VA TODO PERFECTO. GRACIAS.

Debo agradecer también a la cabecilla de este experimento PEPA, el dejarme formar parte de este fantástico grupo de investigación, gracias a ti, me he dado cuenta que esto a mí me gusta, el tema de investigar... de los pecesillos... de los insectillos... el laboratorio... he de decir que me ha enganchado, el procedimiento de laboratorio, he de ser sincera, se me ha hecho cortísimo, voy a proponerte una cosa ¿Me dejaríais formar parte del grupo para el trabajo fin de máster? A mí ya me habéis enganchado. Te considero una excelente investigadora. GRACIAS.

A continuación quería dedicarle unas palabras a la increíble, maravillosa y fantástica CARMEN, técnico de laboratorio a la que tanto "coñazo" he dado con todas las preguntas y todas las cosas que he necesitado del laboratorio... la verdad es que he aprendido mogollón a la hora de manejarme en un laboratorio y a la hora de llevar un procedimiento minucioso sobre cómo hacer diferentes tipos de análisis y sobre cómo manejar máquinas que parecen objeto del demonio... GRACIAS.

Por último y no menos importantes quiero agradecer, que una ayudita nunca viene mal a FERNANDO, DIMITRI Y MARIA, a los que aunque no he estado y tratado demasiado con ellos, hubo ratos de laboratorio y hubo conversaciones de Pokemones y frikadas varias que molaron y esos días de laboratorio hasta las tantas de la tarde, se pasaron un poquito más rápidos y amenos. GRACIAS.

PD: No son enaltecimientos, son verdades.

Índice

Índice general.....	1
Índice de tablas.....	3
Índice de figuras.....	5
1. Memoria descriptiva.....	8
1.1 Acuicultura actualmente.....	9
1.2 Acuicultura en la UE y el mundo.....	9
1.3 Acuicultura en España.....	13
1.4 Importancia proteica en dietas de humanos.....	15
1.5 Importancia proteica en peces.....	16
1.6 Harina de pescado. Problemáticas y soluciones.....	20
1.7 Alternativas a la harina de pescado.....	21
1.7.1 Proteína de origen animal.....	22
1.7.2 Proteína de origen vegetal.....	23
1.7.3 Proteína de animales unicelulares.....	24
1.8 Harina de insectos.....	25
2. Lubina (<i>Dicentrarchus Labrax</i>).....	27
2.1 Características morfo-biológicas.....	30
2.2 Adaptación del apartado digestivo.....	31
2.3 Mercado.....	31
2.4 Explicación del empleo de la lubina. Oportunidades.....	33
3. Objetivos.....	34
4. Especificaciones y requerimientos técnicos.....	36
4.1 Diseño experimental.....	37
4.2 Toma de muestras.....	39
4.3 Animales y mantenimiento.....	40
4.4 Métodos analíticos.....	41
4.4.1 Determinación de la composición de muestras.....	41
4.4.2 Biometrías.....	42
4.4.3 Índices nutricionales y crecimiento.....	42

4.5 Tratamiento estadístico de datos.....	43
5. Resultados y discusión.....	44
5.1 Composición de los peces.....	45
5.1.1 Macronutrientes de los peces.....	45
5.1.1.1 Humedad.....	45
5.1.1.2 Cenizas y materia orgánica.....	46
5.1.1.3 Grasa bruta.....	48
5.1.1.4 Proteína bruta.....	49
5.2 Índices productivos y biometría.....	50
5.2.1 Ingesta.....	50
5.2.1.1 Ingesta total.....	50
5.2.1.2 Ingesta diaria.....	51
5.2.2 Medidas e índices biométricos de los peces.....	52
5.2.2.1 Longitud total.....	52
5.2.2.2 Peso total.....	52
5.2.2.3 Peso filete.....	53
5.2.2.4 Peso hígado.....	54
5.2.2.5 Peso digestivo.....	55
5.2.2.6 Peso grasa.....	55
5.2.2.7 Resumen estadístico de los peces de los órganos.....	56
5.2.2.8 Resumen índices nutritivos y crecimiento interno.....	57
5.2.2.9 Incremento (%) de peso.....	59
5.2.2.10 Tasa de crecimiento instantánea.....	60
5.3 Discusión General.....	61
6. Fases de realización, cronograma y competencias.....	65
7. Conclusiones.....	68
8. Bibliografía.....	70
9. Anexo I.....	83

Índice de tablas

- **Tabla 1** Principales países productores de acuicultura por toneladas anuales en 2017 y tasa de variación interanual (FAO 2019)..... 11
- **Tabla 2** Principales especies producidas mediante acuicultura en el mundo (en toneladas) en 2017 (FAO 2019)..... 12
- **Tabla 3** Principales especies producidas mediante acuicultura en la unión europea, por toneladas, en 2017 (FAO 2019).....13
- **Tabla 4** Comparación en los componentes nutritivos entre el pescado y la carne (Stansby, 1962; Love, 1970)..... 19
- **Tabla 5** Constituyentes minerales del pescado. Fuente: Murray y Burt, 1969..... 19
- **Tabla 6** Valor nutritivo de las harinas de insecto..... 27
- **Tabla 7** Principales especies producidas mediante acuicultura en la unión europea, por toneladas, en 2017 (FAO (2019) Dirección general de aduanas)..... 32
- **Tabla 8** Precios en origen del trienio 2014-2016 en lubina extractiva y de acuicultura. Fuente: Secretaría general de pesca. Observatorio de cadena alimentaria MAPAMA..... 32
- **Tabla 9** Composición de los diferentes piensos empleados para la alimentación de los peces..... 38
- **Tabla 10** Peso de los órganos de los diferentes grupos de peces..... 57
- **Tabla 11** Índices nutritivos y crecimiento de órganos internos.....58

- **Tabla 12** Composición proximal media de los peces alimentados con las diferentes dietas..... 58

Índice de figuras

- **Figura 1** Utilización y suministro mundial de pescado. Fuente: FAO.....10

- **Figura 2** Evolución de la producción acuática mundial (acuicultura + pesca) en el periodo 1950-2017. Fuente: Apromar.....10

- **Figura 3** Evolución de la producción de la acuicultura mundial (millones de t.), por grupos, para el periodo 1950 – 2017 (FAO: 2019).....12

- **Figura 4** Evolución de la cosecha de peces de acuicultura en España, en toneladas y para las principales especies, periodo 1975-2018 (MAPA Y APROMAR).....14

- **Figura 5** Evolución de la cosecha de peces (toneladas) de pescados marinos de acuicultura. Fuente: APROMAR (2019).....15

- **Figura 6** Descripción taxonómica de la lubina (Linnaeus, 1758).....30

- **Figura 7** Descripción morfológica de la lubina (Linnaeus, 1758). Ilustración: A.M. Arias.....31

- **Figura 8** Porcentaje de humedad que contienen los diferentes músculos experimentales45

- **Figura 9** Porcentaje de cenizas (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.....47

- **Figura 10** Porcentaje de materia orgánica (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.....47

- **Figura 11** Porcentaje de lípidos (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.....49
- **Figura 12** Porcentaje de proteína bruta (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.....50
- **Figura 13** Ingesta total/pez (%) para los diferentes piensos experimentales durante el experimento.....51
- **Figura 14** Ingesta diaria/pez para los diferentes piensos experimentales durante el experimento.....52
- **Figura 15** Longitud de los diferentes grupos de peces.....52
- **Figura 16** Peso total de los diferentes grupos de peces.....53
- **Figura 17** Peso de la musculatura de los diferentes grupos de peces.....54
- **Figura 18** Peso de los hígados de los diferentes grupos de peces.....55
- **Figura 19** Peso del aparato digestivo de los diferentes grupos de peces.....56
- **Figura 20** Peso del aparato digestivo de los diferentes grupos de peces.....56
- **Figura 21** Índice de conversión de los peces alimentados con los diferentes piensos.....60
- **Figura 22** Incremento de peso para los peces alimentados con los diferentes piensos.....60
- **Figura 23** Incremento instantáneo de peso para los peces alimentados con los diferentes piensos.....61

- **Figura 24** Diagrama de Gantt con los principales procesos llevados a cabo en el proyecto.....67

Memoria descriptiva

1. MEMORIA DESCRIPTIVA

1.1 LA ACUICULTURA ACTUALMENTE

La acuicultura, según aparece definida en la FAO, es el cultivo de organismos acuáticos tanto en zonas costeras como del interior que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción. Actualmente alrededor de 580 especies acuáticas son las que se cultivan en todo el mundo, lo que representa una enorme riqueza de diversidad genética. Según se recoge en el Informe de Apromar 2019, la segunda especie más producida ha sido la lubina con respecto a las demás. La producción alcanzó un total de 22.460 toneladas de lubinas.

En siguientes epígrafes se hace referencia a la situación actual de la acuicultura a nivel mundial y en los territorios de mayor interés

1.2 ACUICULTURA EN LA UNIÓN EUROPEA Y EL MUNDO

Según datos recogidos de la FAO y de Asociación Empresarial de Acuicultura de España (APROMAR), la producción mundial de acuicultura alcanzó los 111,9 millones de toneladas, un 3,5 % más que el año anterior.

La producción de acuicultura de la UE fue de 1.353.201 toneladas. Las principales especies producidas en la UE mejillón, seguidos por el salmón atlántico y la trucha arco iris.

España es el estado miembro de la Unión Europea con una mayor producción de acuicultura, con 311.032 toneladas. Sin embargo, cuando se considera el valor de la producción, ocupa la cuarta posición, con 466,4 millones (12,2 %). España es el tercer país productor de pescado de la UE, con 66.591 toneladas (9,1 %) por detrás de Reino Unido y Grecia.

El ritmo de crecimiento de la acuicultura de la UE total (esencialmente peces y moluscos) ha decrecido desde el año 2000 una media del -0,5 % anual mientras que en mundo la acuicultura ha crecido en ese tiempo una media del 11,2 %.

La producción acuícola total de lubina en Europa y el resto del arco Mediterráneo ha sido de 196.573 toneladas, un -2,1 % inferior a la del año anterior.

Tal y como se aprecia en la figura 1, a lo largo de los años últimos la producción acuícola ha ido creciendo continuamente, e incluso el suministro de pescado per cápita se ha visto superado en los últimos años por el suministro de peces de acuicultura.

Figura 1 Utilización y suministro mundial de pescado. (FAO (2019))

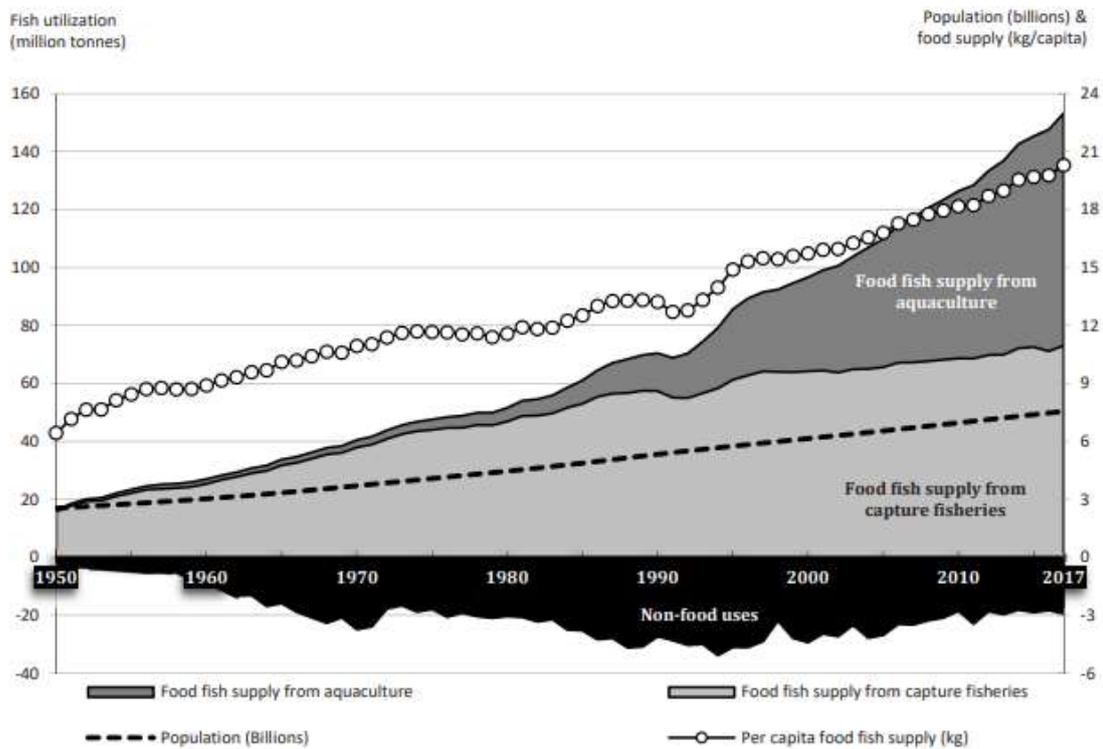


Figura 2 Evolución de la producción acuática mundial (acuicultura + pesca) en el periodo 1950-2017. (Apromar (2018))

EFFECTO EN EL CRECIMIENTO E ÍNDICES NUTRITIVOS DE LA SUSTITUCIÓN DE HARINA DE PESCADO POR HARINA DE INSECTO EN LUBINA (*Dicentrarchus Labrax*)

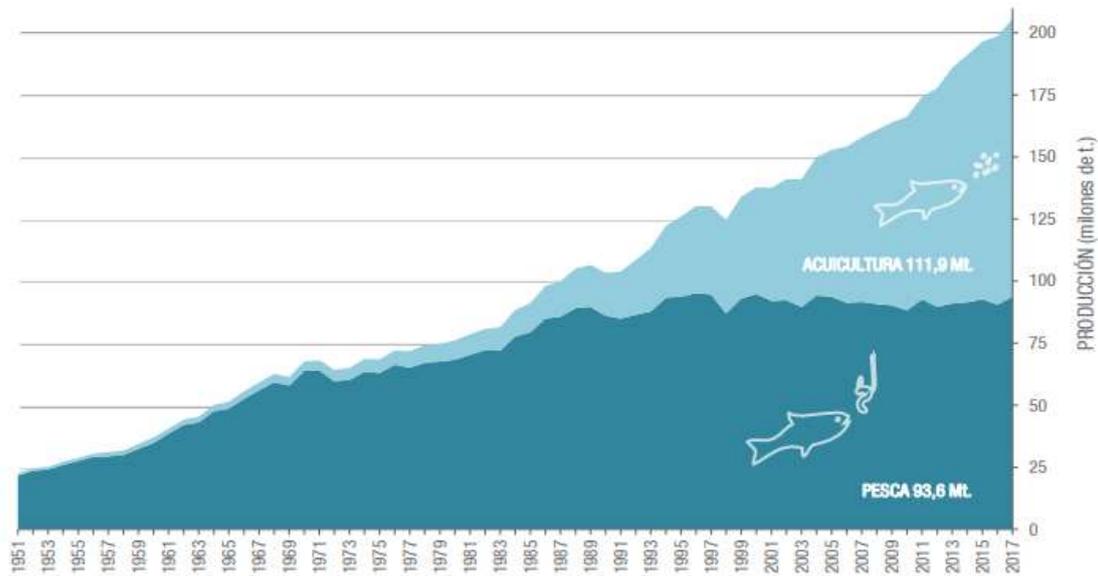


Tabla 1 Principales países productores de acuicultura por toneladas anuales en 2017 y tasa de variación interanual (FAO (2019))

País	Cantidad (t)	% Var.anual
China	64.358.481	3.3%
Indonesia	15.896.100	-0.7%
India	6.182.000	8.4%
Viet Nam	3.831.241	7.0%
Bangladesh	2.333.352	5.9%
República de Corea	2.306.280	24.0%
Filipinas	2.237.787	1.7%
Egipto	1.451.841	5.9%
Noruega	1.308.634	-1.3%
Chile	1.219.747	16.2%
Total 10 países productores	101.125.463	3.6%
Resto de países	10.821.160	2.9%
Total mundial	111.9466.623	3.5%
España	311.032	9.6%

Tabla 2 Principales especies producidas mediante acuicultura en el mundo (en toneladas) en 2017 (FAO (2019))

Espece	Nombre científico	Toneladas
Laminaria japonesa	(<i>Saccharina japónica</i>)	11.174.505
Alga Eucheuma	(<i>Eucheuma</i> <i>Kappaplycus</i>)	y 8.637.534
Ostión japonés	(<i>Crassostrea gigas</i>)	5.544.245
Carpa china	(<i>Ctenopharyngodon</i> <i>idella</i>)	5.519.487
Carpa plateada	(<i>Hypophthalmichthys</i> <i>molitrix</i>)	4.704.673
Langostino blanco	(<i>Litopenaeus vannamei</i>)	4.456.603
Alga Gracilaria	(<i>Gracilaria sp.</i>)	4.311.040
Almeja japonesa	(<i>Ruditapes philippinarum</i>)	4.228.206
Tilapia del Nilo	(<i>Oreochromis niloticus</i>)	4.120.281
Carpa común	(<i>Cyprinus carpio</i>)	4.129.100
Total 10 países especies		56.835.674
Resto de especies		55.110.949
Total acuicultura mundial		111.946.623
Trucha arco iris	(<i>Oncorbynchus mykiss</i>)	811.590
Mejillones europeos	(<i>Mytilus galloprovincialis</i> <i>y edulis</i>)	268.061
Dorada	(<i>Sparus aurata</i>)	218.099
Lubina	(<i>Dicentrarcuhs labrax</i>)	215.636
Rodaballo	(<i>Psetta máxima</i>)	57.072

Figura 3 Evolución de la producción de la acuicultura mundial (millones de t.), por grupos, para el periodo 1950 – 2017 (FAO (2019))

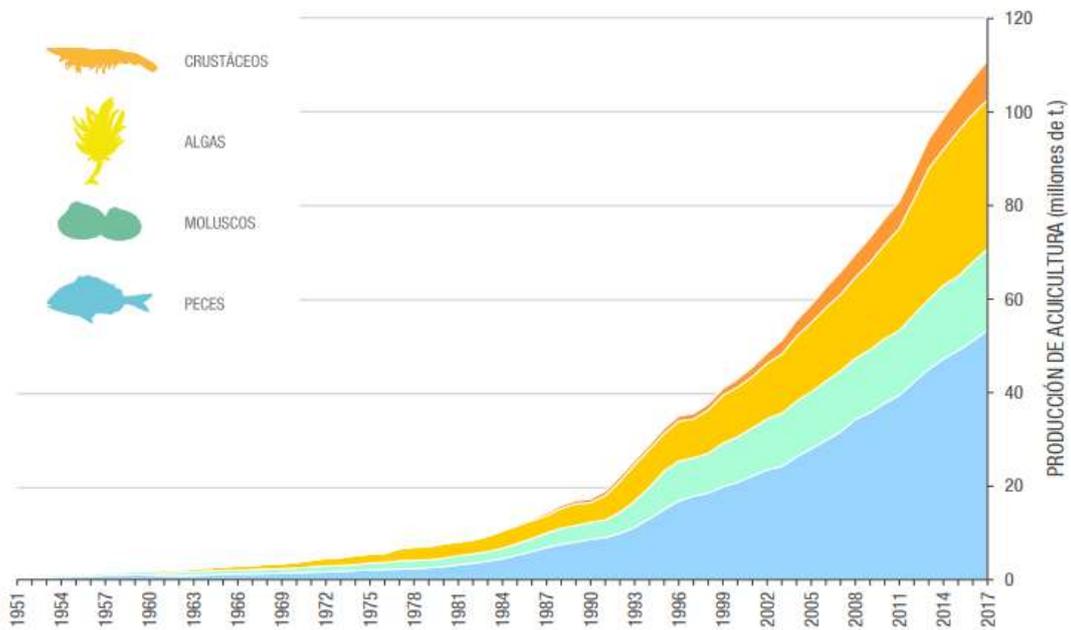


Tabla 3 Principales especies producidas mediante acuicultura en la unión europea, por toneladas, en 2017 (FAO (2019))

Especie	Nombre científico	Toneladas
Mejillones	(<i>Mytilus spp</i>)	493.844
Salmón del Atlántico	(<i>Salmo salar</i>)	209.180
Trucha arco iris	(<i>Oncorbynchus mykiss</i>)	185.316
Dorada	(<i>Sparus aurata</i>)	95.390
Lubina	(<i>Dicentrarcuhs labrax</i>)	79.350
Ostión japonés	(<i>Crassotrea gigas</i>)	77.947
Carpa común	(<i>Cyprinus carpio</i>)	73.911
Almeja japonesa	(<i>Ruditapes philippinarum</i>)	35.114
Rodaballo	(<i>Psetta máxima</i>)	11.571
Pez-gato	(<i>Clarias gariepinus</i>)	8.821

1.3 ACUICULTURA EN ESPAÑA

La acuicultura en España en los 60 era una actividad importante en la economía del país y a medida que han pasado los años ha ido decreciendo, debido a la disminución de

las opciones de pesca, según expone la Asociación Empresarial de Acuicultura de España (APROMAR (2018)).

La cosecha de acuicultura en España en 2018 sumó un total de 348.395 toneladas, y de las especies recogidas fueron la dorada con supuso un 21%, la lubina que supuso un 5,6% más por lo que se encuentra en valores de 34%; la producción de rodaballo que se sitúa en valores menores en comparación con los otros o de la corvina que se encuadra en valores similares a los del rodaballo.

La lubina cosechada en España ha sido de 22.460 toneladas. La región donde más cantidad se recogió fue en Murcia (34%), seguida de Canarias (26%), Comunidad Valenciana (21%) y Andalucía (20%). Con respecto a la producción de juveniles se ha incrementado con respecto al año anterior en un 35,1%, en las diferentes comunidades que se realiza su cría. También se cosechan otros pescados como la dorada, el rodaballo o la corvina.

Se estima que para el próximo año las producciones de juveniles de lubina en España decrecerán hasta un -11,2%.

España comparado con el resto de la unión europea es el tercer país productor de pescado, con 66.591 toneladas.

Figura 4 Evolución de la cosecha de peces de acuicultura en España, en toneladas y para las principales especies, periodo 1975-2018 (MAPA Y APROMAR, (2019))

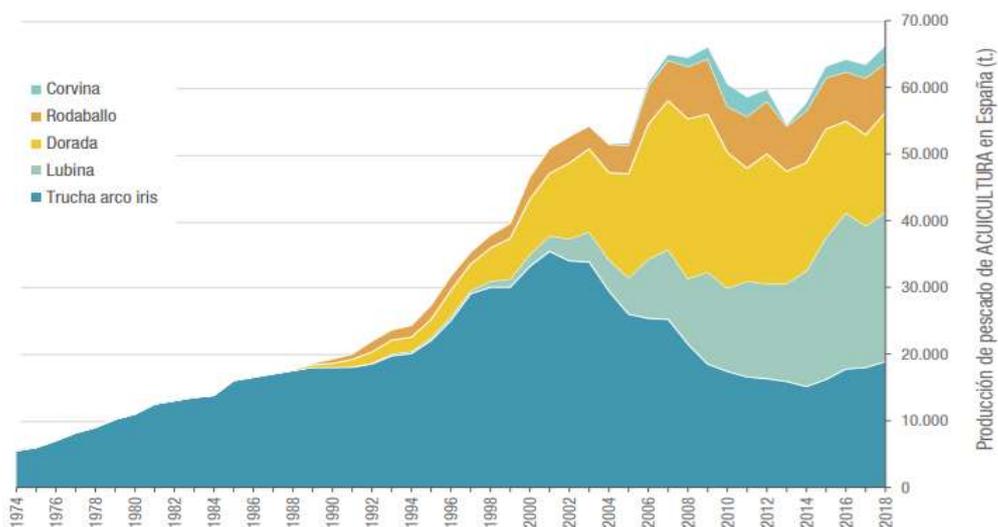
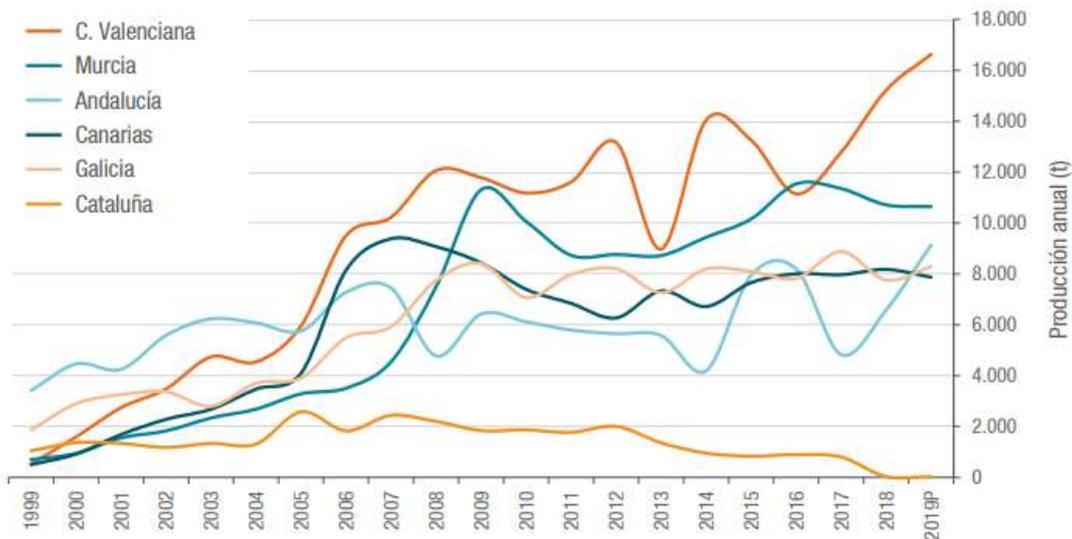


Figura 5 Evolución de la cosecha de peces (toneladas) de pescados marinos de acuicultura. (APROMAR (2019))



Para concluir con este epígrafe se puede añadir que se ha llevado a cabo un estudio realizado por el ministerio, en el que se predijo que los factores que están limitando el desarrollo de la acuicultura principalmente es la falta de tecnología, también las barreras financieras y la formación de los trabajadores, la pérdida de empleo en este sector, otro de los factores de los que actualmente se está empezando a hablar es el de la mala coordinación entre las distintas empresas.

1.4 IMPORTANCIA DE LA PROTEÍNA EN LA DIETA EN HUMANOS

El “*National Genome Research Institute*” (Bruce Alberts et al. (2002)), expone que las proteínas son unas moléculas importantes que se encuentran en todas las células vivas, éstas se componen de una o más cadenas largas de aminoácidos llamadas polipéptidos, que se definen como un conjunto de veinte tipos distintos de moléculas que constituyen las piezas básicas para construir la proteína, cuya secuencia corresponde a la secuencia de ADN del gen que la codifica, es decir, la secuencia de aminoácidos que forma una proteína está codificada en un gen. Existen dos tipos de aminoácidos, los llamados esenciales que son aquellos que no son sintetizados a partir del organismo y los no esenciales que son aquellos que pueden ser metabolizados por el organismo. Como un subgrupo se puede añadir los aminoácidos semiindispensables que son aquellos que solo

se pueden formar a partir de los esenciales, un ejemplo es el de la cistina, que solo puede ser sintetizada a partir de metionina.

Las proteínas desempeñan gran variedad de funciones en la célula, incluidas estructurales, mecánicas, bioquímicas, y de señalización celular. Son una parte esencial de la dieta de cualquier especie.

Los alimentos de origen acuático son una de las más importantes fuentes de proteína animal del mundo. Según FAO, los productos acuáticos suponen el 17,0 % de la ingesta de proteína animal mundial y el 6,7 % de toda la proteína consumida. Además de ofrecer proteína de alta calidad, fácilmente digestible y conteniendo todos los aminoácidos esenciales, los alimentos de origen acuático contienen ácidos grasos esenciales Omega-3 (EPA y DHA), vitaminas (D, A y B) y minerales (calcio, iodo, zinc, hierro y selenio). Con estos valores nutricionales, el pescado y demás especies acuáticas juegan un papel importante en la corrección de dietas.

La producción acuática mundial (acuicultura + pesca) en 2017 fue de 205,6 millones de toneladas, un 3,5 % más que el año anterior.

Del total de productos de origen acuático, la proporción dirigida al consumo humano directo ha pasado del 67 % en 1960 hasta más del 88 % en 2016. El resto se emplea principalmente como materia prima para alimentación animal, incluida la acuicultura.

Estos datos verifican que crece el consumo de proteína animal en todo el planeta, lo hace de manera incontrolada y por encima de las necesidades biológicas y de sostenibilidad. Actualmente la carne roja o la leche de vaca se encuadran en el top del sector alimentario con respecto a proteína, pero se están buscando alternativas como pueden ser los insectos, acuicultura o las plantas. Este consumo desmedido de proteínas se debe al crecimiento de los países en vías de desarrollo, especialmente Brasil, India y China. (FAO (2019))

1.5 IMPORTANCIA DE LA PROTEÍNA EN LA DIETA EN PECES

Las necesidades nutritivas de los peces son similares a las de los animales terrestres.

Se necesita una cierta cantidad de proteína para asegurar el ritmo de crecimiento y una variedad de funciones metabólicas y reguladoras fundamentales. Los lípidos son fuente de energía y ácidos grasos esenciales, y se necesitan para la absorción de las vitaminas liposolubles, la estructura de las membranas y la síntesis de compuestos reguladores y hormonas. Las vitaminas y los minerales de la dieta son esenciales para asegurar el mantenimiento de funciones de las que depende también el estado de salud y el crecimiento. Los hidratos de carbono no son nutrientes esenciales aunque, según la especie, pueden ser utilizados en cantidades relevantes como fuente de energía y contribuir así, junto a los lípidos, a optimizar la utilización de los aminoácidos para crecimiento. Hay, sin embargo, importantes diferencias entre los peces y vertebrados terrestres de interés ganadero. Los peces necesitan mucha menos energía (40kJ/kg/día) para el mantenimiento de sus funciones que los homeotermos (300kJ/kg/día), lo que les hace energéticamente más eficientes. Esto significa que un pez que consume una dieta normal podrá dedicar un promedio del 85% de la energía digestible para crecimiento, mientras que un homeotermo del mismo peso dedicaría del 30 al 50%. (Castelló O., (1993)).

Lo primordial de la nutrición de las especies acuáticas es la obtención de una mixtura de ingredientes equilibrados nutricionalmente para mantener, crecer, reproducir y obtener una óptima calidad de la carne y una buena sanidad de los peces con un coste relativamente bajo.

En la actualidad, la proteína es uno de los elementos de mayor interés para la dieta de los peces y crustáceos aunque, a su vez, uno de los más problemáticos. Es necesario el aumento de la proteína para un máximo crecimiento y simultáneamente necesitan menor energía para su mantenimiento y crecimiento (lo que se traduce en menores necesidades calóricas). Muchos autores exponen que al ser el componente de la dieta más caro, es un limitante de la rentabilidad del cultivo (Panchian y Vivekanandan, (1985); Knights, (1985)). Se debe tener el mayor ajuste económico y nutritivo posible. Las necesidades proteicas son la suma de las necesidades de los aminoácidos esenciales y los no esenciales, intentando conseguir las mejores condiciones de síntesis proteica para crecimiento, para esto se debe conseguir un valor lo más próximo al óptimo, con respecto al balance proteína/energía, en la que lípidos e hidratos de carbono juegan un papel fundamental.

Con respecto a las necesidades proteicas de los peces: tienen mayores requerimientos de proteína en su etapa inicial, con respecto a la fase final de engorde. Si un pez tiene una dieta deficiente en energía, el pez usará parte de la proteína para cubrir sus necesidades energéticas. (Sánchez-Muros et al., (1998))

Las necesidades de proteína de los peces oscilan entre el 35 y 55% de la dieta, según la especie y otras circunstancias como la edad, condiciones ambientales y aporte energético de la dieta. (De la Higuera, M. et all. ((1987). La varianza con la edad y tamaño, los individuos más jóvenes necesitan mayor concentración de proteínas a la dieta que peces de mayor tamaño (Satia, (1994); Cho et al., (1985); Vergara, (1992)) se relaciona con la disminución de la capacidad sintética de proteína corporal.

Los peces ingieren alimento hasta saciar sus necesidades calóricas, por lo que lo ideal es conseguir un equilibrio entre proteína y energía cubriendo las necesidades de aminoácidos esenciales, energía. Actualmente uno de los factores que determinan la cantidad de proteína a usar en la dieta es el costo y la disponibilidad de las fuentes de proteína

Para racionar la alimentación del animal, es importante conocer bien que aminoácidos son esenciales para la especie, en el caso de este proyecto, se tratará de animales monogástricos, y para ellos hay dos condiciones que tenemos que tener en cuenta:

- La cantidad global de proteína que se le debe aportar a la dieta debe permitir la síntesis de aminoácidos no esenciales.
- A su vez, es necesario que los aminoácidos esenciales queden cubiertos en su totalidad.

Siempre debe de haber una relación constante entre la cantidad de proteína con la cantidad de energía aportada, de modo que si aumenta o disminuye algún valor, el otro debe afectarse en igual proporción.

La composición nutricional del pescado varía de una especie a otra.

La tabla siguiente muestra valores generales de la composición química del pescado en comparación con la carne de vacuno (porcentaje de materia fresca).

Tabla 4 Comparación en los componentes nutritivos entre el pescado y la carne (Stansby, (1962); Love, (1970))

Constituyente	Pescado (filete)			Carne (músculo aislado)
	Min.	Variación normal	Max.	
Proteínas	6	16-21	28	20
Lípidos	0.1	0.2-25	67	3
Carbohidratos		<0.5		1
Cenizas	0.4	1.2-1.5	105	1
Agua	28	66-81	96	75

El pescado es una fuente natural de vitaminas y minerales, variando las cantidades dependiendo de la especie y la estación del año. Se puede afirmar, que el pescado aporta vitaminas A, B y D en cantidades similares a la carne de los mamíferos, aunque el aporte de las vitaminas liposolubles es mayor cuanto mayor nivel de grasa tengan los peces, concentrándose especialmente en el hígado. Haciendo referencia a los minerales, el pescado es una fuente importante de hierro, cobre, calcio y fósforo aportando además yodo los peces de agua salada.

Tabla 5 Constituyentes minerales del pescado. (Murray y Burt, (1969))

Elemento	Valor promedio	
	(mg/100g)	Rango (mg/100g)
Sodio	72	30 - 134
Potasio	278	19 - 502
Calcio	79	19 - 881
Magnesio	38	4,5 - 452
Fósforo	190	68 - 550

1.6 HARINA DE PESCADO, PROBLEMÁTICA Y SOLUCIONES.

La harina de pescado es un producto obtenido del procesamiento de pescados, donde se elimina su contenido de agua y aceite. Ésta harina de pescado, proporciona una fuente concentrada de proteína de alta calidad y una grasa rica en ácidos grasos omega-3, DHA y EPA.

Es un producto que ofrece muchos beneficios en la nutrición animal ya que aporta muchos proteínas y nutrientes; como ingrediente de alimentos para aves, aves ponedoras, cerdos, rumiantes, vacas lecheras, ganado vacuno, ovino, y animales acuáticos (camarón, pescado y otros), promoviendo su rápido crecimiento, su mejor nutrición, la mejora de la fertilidad y la notoria disminución de posibilidades de enfermedades.

Otras de las características que posee este alimento es la buena palatabilidad para los peces, lo que asegura que la ingesta sea adecuada y a su vez, aporta gran cantidad de minerales (como fósforo asimilable). (Castelló, O. (1993))

La harina de pescado se produce de la captura de peces para los cuales existe poca o ninguna demanda para el consumo humano y también de desechos de pescado generados durante el procesamiento de pescado para la alimentación humana, por ejemplo, la anchoveta, el jurel, el menhaden, el capelán y el lanzón. Entre el 10% y 15% de la harina de pescado del mundo es producida de desechos, utilizándose las partes más grasas, como el hígado, para para la producción de aceite, por ejemplo, el hígado de bacalao. Su aspecto es normalmente un polvo o harina marrón compuesto normalmente por entre 60% y 72% de proteína, entre 5% y 12% de grasa y entre 10% y 20% de ceniza. Prácticamente toda la harina de pescado se utiliza como ingrediente de alto valor proteico en la alimentación de animales terrestres de crianza y para peces de criadero. Estas harinas suponen una buena fuente de energía en la alimentación. (Mariño, S., et all. (2012))

Sin embargo, actualmente la harina de pescado presenta serios problemas que la hacen una fuente económicamente y medioambientalmente insostenible.

Por un lado, se fueron introduciendo especies nuevas, de las que la mayoría se usaba para la elaboración de harina de pescado, lo que provocó un incremento acusado del precio.

Otro de los graves problemas es que la industria de la acuicultura está agotando las especies clave y causando problemas ambientales al pescar más abajo en la cadena alimentaria. El “*wasteful fishmeal and fish oil*” (“industria de la harina de pescado y el aceite de pescado”) FMFO utilizado en alimentos acuícolas utiliza pequeños peces forrajeros (incluidas sardinas, anchoas, caballas y arenques) y crustáceos (principalmente krill) que constituyen un vínculo crítico en las redes alimentarias marinas. Casi el 70% de los peces forrajeros desembarcados se transforman en FMFO, lo que representa aproximadamente el 20% de la captura total mundial de peces silvestres.

Las pesquerías forrajeras están afectando a la seguridad alimentaria y a los medios de vida de las comunidades costeras. El 90% del pescado utilizado en FMFO podría usarse directamente para consumo humano, ya que proviene de pescado alimenticio principalmente. La producción de FMFO para peces de cultivo es insostenible y no se justifican las afirmaciones de mejorar las credenciales ambientales. A pesar de los compromisos para reducir la dependencia de la proteína del pescado y aumentar la sostenibilidad y la transparencia, los productores de harina de pescado y las principales compañías de alimentos acuícolas divulgan poca información sobre el origen, la cantidad o la sostenibilidad del pescado capturado en la naturaleza (Statista (2019)). Anualmente, se producen 52 millones de toneladas de pescado en todo el mundo en sistemas de acuicultura intensiva. (Baishaw, S. et al. (2007)).

1.7 ALTERNATIVAS DE LA HARINA DE PESCADO.

Para conseguir la mayor semejanza posible con respecto a la harina de pescado, se debe de tener en cuenta los siguientes criterios (Higuera y Cardenete, (1987)):

- Para la sustitución de la harina de pescado se debe de tener suficiente proteína, sin que suponga desequilibrios para el resto de componentes de la dieta.
- Debe de haber un equilibrio entre los aminoácidos esenciales y sus digestibilidades, para la especie en cuestión.
- Control del alimento a medida que pasa por los procesos tecnológicos y el modo en que afecta a la disponibilidad de la proteína.

- Debe ser medioambientalmente sostenible y económica (Sánchez-Muros et. al., (2014))

1.7.1 Proteínas de origen animal.

Son compuestos de subproductos de industrias y que son inutilizables para los humanos. Se usan como fuente de proteína secundaria, y en una mezcla de alrededor el 20% de contenido. Normalmente son productos de matadero que tienen una elevada concentración de proteína lo que conlleva a una menor digestibilidad y a su vez también tiene una menor concentración de ácidos esenciales (Moshen y Lovell, (1990); Fawler, (1990)).

Otro de los compuestos que cabe destacar son las harinas de invertebrados, que se encuentran entre las proteínas animales menos convencionales, como por ejemplo el Krill, que ha llevado a considerar el uso de harinas de crustáceos en dietas para peces con resultados muy buenos (Steffens y Albreteb, (1985); Akiyama et al, (1984); Shimizu et al., (1990)), pero depende de la productividad del medio natural y de la pesca.

Otros invertebrados usados experimentalmente han sido lombrices en especial *Eisenia fetida*, pero se ha llegado a la conclusión que en grandes cantidades no son bien toleradas, aunque en niveles más bajos si tiene un efecto positivo ya que promueve el crecimiento de los peces (Akiyama et all., (1984); Stafford y Tacon, (1985); Velasquez et al., (1991))

La harina de lombriz tiene por ejemplo, una menor palatabilidad y puede tener factores antinutritivos o contaminantes (Cardenete et all., (1991)).

Otra de las harinas que actualmente despierta mucho interés es la harina de subproductos avícolas (PMB), que es una fuente alta en proteínas comúnmente utilizada en alimentos para animales domésticos.

La “*Association of American Feed Control Officials*” define PBM como el ‘molido, renderizado, de partes limpias de la carcasa de aves de corral sacrificadas, como cuellos, cabezas, pies, huevos no desarrollados, mollejas e intestinos (sin contenido), sin incluir plumas (excepto en cantidades mínimas que inevitablemente se procesen) ”(AAFCO (2010)).

En los últimos años, principalmente dos PBM están disponibles en el mercado: calidad del alimento y para la calidad del alimento de mascotas. El primero, menos costoso, generalmente se considera producido a partir de fracciones de subproductos de baja calidad y

contiene un mayor nivel de cenizas y menor contenido de proteínas (Aldrich (2006); Dozier y Dale (2005)). El último, debido a su alto precio y calidad, se utiliza principalmente en alimentos para mascotas.

Hoy en día, debido a su alta calidad nutricional, gran disponibilidad y palatabilidad, la PBM tiene un potencial considerable como ingrediente alimenticio para la acuicultura, proporcionando un ahorro sustancial en el costo del alimento (Hernández et al. (2010)).

1.7.2 Proteínas de origen vegetal

Los vegetales son un grupo de materias primas de alta competitividad para incluir en piensos. Dos de los factores para su uso como principal sustitutivo de harina de pescado son su alta productividad y su aprovechamiento. Sin embargo, presentan varios inconvenientes, en primer lugar su contenido en proteína en comparación con la harina de pescado es bastante inferior y son deficientes en aminoácidos esenciales. Otro inconveniente es una inferior palatabilidad, lo que produce un menor nivel de ingesta.

Las materias vegetales con mayor aptitud para sustituir la harina de pescado son las leguminosas, las oleaginosas y los concentrados proteicos procedentes de subproductos industriales. En cualquier caso, la inclusión de productos vegetales en piensos queda limitado al aporte energético y aporte de proteína secundario, esto es, que no suministre más de 25% de la proteína de la ración. En caso contrario, el crecimiento del pez queda restringido (Murai, (1992)) debido, a un mal balance de aminoácidos, baja palatabilidad y presencia de factores antinutritivos.

Con respecto al uso de la harina de soja, ya que es la más usada en la alimentación piscícola, puede decirse que posee un alto contenido en proteína y un buen perfil aminoacídico. Todo esto unido a un tratamiento adecuado de su semilla para eliminar factores antinutritivos garantiza una disponibilidad de aminoácidos suficiente para conseguir un desarrollo aceptable. Sin embargo, el precio al que se comercializa la harina de soja es demasiado elevado para que sea rentable.

Otras materias vegetales probadas como fuentes de proteínas son la colza (Hilton y Slinger, (1981)), la semilla de algodón (Anwar et al., (1982)) y el gluten de maíz (Moyano et

al., (1992)). Los principales inconvenientes de estos casos, son la mala digestibilidad, la baja palatabilidad y mal balance de los aminoácidos.

Las fuentes de proteínas vegetales son reconocidas como la mejor fuente para reemplazar la harina de pescado; pero tienen una serie de características contrastantes con las de la harina de pescado debido a que: los ingredientes de las plantas son deficientes en ciertos Aminoácidos esenciales (EAA), tienen baja digestibilidad de nutrientes, menor biodisponibilidad de nutrientes y palatabilidad debido a los excesivos grados de carbohidratos no solubles que consisten en fibra y almidón. Estos caracteres de evaluación atribuidos a las proteínas vegetales han generado la controversia entre los nutricionistas de piensos, así como en la manera de poder reemplazar la harina de pescado. De acuerdo con las evidencias disponibles de los resultados de la investigación, se descubrió que las proteínas vegetales pueden reemplazar la harina de pescado, ya sea en parte o por completo, en algunas especies omnívoras.

Se han experimentado con piensos de proteínas vegetales en varios animales acuáticos como la trucha arcoíris (Gomes et al., (1995); Adelizi et al., (1998); De Francesco et al., (2004); Snyder et al., (2012)), Lubina europea (Días et al., (1997)), dorada (Gómez-Requeni et al., (2004)) y varias especies marinas más.

Actualmente la soja es la fuente vegetal más usada y permite una sustitución de la harina de pescado hasta del 40% (Lim, C y Dominy, W., (1990)).

1.7.3 Proteínas de animales unicelulares.

De forma alternativa, las proteínas unicelulares, principalmente levaduras, microalgas y bacterias, muestran un gran potencial para la acuicultura. En la actualidad, las células de levaduras que son comúnmente mezclados con granos secos de las destilerías para su uso en piensos de animales terrestres; sin embargo, su alto contenido de fibra limita su uso en la acuicultura.

La biomasa bacteriana tiene un gran potencial como proteína de reemplazo para la acuicultura. Actualmente se está usando *Methylobacterium extorquens* (bacteria), en una nueva plataforma de biocatálisis de alta producción, como una fuente efectiva de proteína para los piensos acuícolas. Los científicos probaron esta fuente de proteína unicelular en la alimentación en algunas especies acuícolas. Como conclusión puede añadirse que la

producción de proteínas unicelulares es una proteína alternativa potencial de alta calidad a la harina de pescado, y tiene el potencial de estabilizar el aumento de los costos de los piensos acuícolas y resolver el problema de sobrepesca de peces pelágicos para su uso en la harina de pescado (Tlustý M, et al. ((2017))

Los microorganismos unicelulares presentan una serie de ventajas como fuentes de proteínas (Kihlberg, (1972)):

- Su contenido en proteína se encuentra en torno a un 40-70%
- Presentan una alta velocidad de reproducción.
- Su manipulación genética es sencilla, lo que permite que se modifique su valor nutritivo.
- Constituyen una fuente de vitamina C y de ácidos grasos esenciales importante (Kauschik, (1990)).

Por otro lado, se observa que un aporte de nitrógeno procedente de ácidos nucleicos produce alteraciones a nivel hepático y hematológico, acumulaciones anormales de ácido úrico. Además, muchas bacterias son deficientes en aminoácidos azufrados y la mayoría requieren de un tratamiento especial para romper su pared celular y poder mejorar su digestibilidad (Murray y Marchant, (1986))

1.8 HARINA DE INSECTOS

A lo largo de los años, la entomofagia practicada por las culturas de en diversas partes del mundo ha llevado a muchos nutricionistas a evaluar sus aportes como alimento (Ramos-Elorduy, J. et al, (1998)), concluyendo que la mayoría de los insectos poseen, un aporte similar al de la carne.

El valor de una serie de especies de insectos se ha evaluado como alimento potencial para aves de corral u otros animales productores de alimentos. Se han publicado análisis exhaustivos, que incluyen ensayos de alimentación con ratas, aves y peces, utilizando larvas de mosca doméstica *Musca domestica* (L.), pupas de gusanos de seda *Bombyx mori* (L.) y grillos mormones, *Anabrus simplex* (H). En estos estudios se ha evaluado el valor nutricional de las harinas de insectos secas cuando fueron alimentadas como la fuente primaria o única de la dieta. Estos datos son especialmente importantes ya que representan evaluaciones de la

calidad de la proteína del insecto. La mayoría de estos datos han sido publicados en revistas de nutrición y ciencia animal. (Barker et al., (1998))

El nutriente en mayor concentración generalmente es la proteína, lo cual se explica por el exoesqueleto rico en proteínas de los insectos. Contenido de proteínas crudas, varían del 21% para las larvas de Traqui del rimador de *Oileus pasalidas*, al 80% para las polillas gitanas hembras adultas, *Lymantria dispar* (L.) (Bukkens, (1997)).

Wang et al. ((2007)) han estudiado el valor nutritivo del saltamontes *Acrida cinerea*, (DeFoliart et al., (1982)) han estudiado el grillo mormón *Anabrus simplex*, (Nakagaki y DeFoliart, (1987)) el grillo doméstico *Acheta domesticus* y seis especies de larvas de lepidópteros (Landry et al., (1986)).

Por otra parte, Ramos-Elorduy et al. ((1998)), ha analizado 104 especies distintas de insectos tanto acuáticos como terrestres, pertenecientes a diez órdenes diferentes. El contenido proteico variaba desde el 9,5% (*Myrmecosistus melliger*) al 77% (*Melanoplus mexicanus*). En general, las fases larvarias de los insectos se caracterizan por contener menor proporción de proteína y mayor de grasa que los adultos.

También se ha descrito que el contenido de aminoácidos más similar al de la harina de pescado (metionina 1,6%, lisina 0,5% y cisteína 1,6%) es el de la harina del saltamontes *Acrida cinerea* (metionina 1,7%, lisina 0,7% y cisteína 3,8%) (Wang et al, (2007)).

El valor nutritivo de las harinas de las dos especies de insectos en este trabajo se contempla en la siguiente tabla:

Tabla 6 Valor nutritivo de las harinas de insecto. (USDA National Nutrient Databas, (2015); Bukkens, (1997); Finke, (2007); Finke, (2013); Ramos-Elorduy et al., (1997))

Nombre	Preparación	Humedad %	Proteína	Grasa	Fibra	Ceniza
<i>Hermetia illucens</i>	Secado, molido y no ayuno	3.8	49.0	32.6	6.7	8.6
<i>Tenebrio</i>	Crudo,	63.7	65.3	14.9	20.4	3.3

<i>molitor</i> (adulto)	ayuno					
<i>Tenebrio</i>	Crudo,	61.9	49.1	35.0	6.6	2.4
<i>molitor</i> (larva)	ayuno					

Uno de los inconvenientes que presenta la harina de insectos es el perfil de ácidos grasos. Mientras que la harina de pescado es rica en ácidos grasos de cadena larga n-3 los insectos son ricos en ácidos grasos n-6 (21) y esto limita el nivel de sustitución de la harina de pescado en piensos para peces. Sin embargo el perfil de ácidos grasos del insecto se puede manipular a través de la alimentación (22). Barroso et al., (23, 11) aumentaron el contenido de en ácidos grasos de cadena larga n-3 en hermetia alimentada con desperdicios de peces (22)

Haciendo una mayor referencia a los insectos a tratar se resume con respecto a cada uno:

La mosca soldado negra *H. illucens* (Linnaeus (1758)) es una mosca (Díptera) de la familia Stratiomyidae. Es nativa de lo tropical, Zonas templadas subtropicales y templadas de América, aunque ahora está muy extendida en zonas tropicales y templadas más cálidas,

La mosca adulta es negra, con forma de avispa y 15–20 mm de largo (Hardouin y Mahoux, (2003)). Las larvas pueden alcanzar hasta 27 mm de longitud y 6 mm de ancho y pesar hasta 220 mg en su última etapa larval. Tienen un color opaco y blanquecino (Díclaro y Kaufman, (2009)). Las larvas pueden alimentarse rápidamente, de 25 a 500 mg de materia fresca / larva / día, y de una amplia gama de materiales orgánicos en descomposición, como frutas y verduras podridas, granos de café pulpa, granos destiladores, despojos de pescado y particularmente estiércol animal y excreta humana (Hardouin y Mahoux, (2003); Diener et al., (2011); van Huis et al., (2013))

La mosca soldado negra es extremadamente resistente, es una especie capaz de lidiar con condiciones ambientales exigentes, como sequía, escasez de alimentos o deficiencia de oxígeno (Diener et al., (2011)). Una ventaja importante de *H. illucens* sobre otras especies de insectos utilizadas para la producción de biomasa es que el adulto no se alimenta y, por lo tanto, no requiere un cuidado particular y no es portador de enfermedades. Un aspecto muy importante es que las larvas pueden reducir la acumulación de estiércol de gallina ponedora o de cerdo en un 50% o más sin usar recursos adicionales incluyendo energía (Sheppard et al., (1994); Barry, (2004); Newton et al., (2005)).

Con respecto al otro insecto sobre el que se desarrolla este proyecto es el tenebrio.

Los escarabajos del gusano de la harina son autóctonos de Europa, aunque ahora están distribuidos en todo el mundo. *T. molitor* es una plaga, pero a menudo no tienen mucha importancia ya que sus poblaciones son bastante pequeñas (Ramos-Elorduy et al., (2002)). Los gusanos de la harina son fáciles de criar y alimentar y tienen un valioso perfil de proteínas. Por estas razones, se producen industrialmente como alimento para mascotas, incluidos pájaros, reptiles, pequeños mamíferos, anfibios y peces. Por lo general, se alimentan en vivo, pero también en seco o en polvo (Aguilar-Miranda et al., (2002); Hardouin y Mahoux, (2003); Veldkamp et al., (2012)). El ciclo de vida de *T. molitor* es de longitud variable, de 280 a 630 días. Las larvas eclosionan después de 10–12 días (a 18–20 ° C) y maduran después de un número variable de etapas (8 a 20), generalmente después de 3 a 4 meses (a temperatura ambiente).

La etapa de larva puede durar hasta 18 meses. La larva madura es de un color amarillo-marrón claro, mide 20–32 mm de largo y pesa 130-160 mg. Los productores comerciales de gusanos de la harina a veces incluyen una hormona juvenil en el alimento para prevenir que las larvas muden a adultos, dando lugar a gusanos de la harina "gigantes" que pueden alcanzar una longitud de 2 cm o más. (Finke, (2002)).

Los gusanos de la harina son omnívoros y pueden comer todo tipo de material vegetal, así como productos animales, como carne y plumas. (Ramos-Elorduy et al., (2002)). Por lo general, se alimentan con salvado de cereal o harina (trigo, avena, maíz) (Aguilar-Miranda et al., (2002); Hardouin y Mahoux, (2003))

Lubina (Dicentrarchus Labrax)

2. LUBINA (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

La lubina, lobina, róbalo o robaliza (*Dicentrarchus labrax*) es una especie de pez, sin que tenga reconocidas ninguna subespecie. Su lugar de encuentro está en el mar Mediterráneo y el océano Atlántico, y desde las costas africanas (Senegal) hasta Noruega. Se trata de un pescado blanco muy apreciado por su valor culinario y por su pesca deportiva.

Figura 6 Descripción taxonómica de la lubina (Linnaeus, (1758))

Taxonomic Hierarchy	
Kingdom	Animalia – Animal, animaux, animals
Subkingdom	Bilateria
Infrakingdom	Deuterostomia
Phylum	Chordata – cordés, cordado, chordates
Subphylum	Vertebrata – vertebrado, vertèbrés, vertebrates
Infraphylum	Gnathostomata
Superclass	Actinopterygii – ray-finned fishes, spiny rayed fishes, poisson épineux, poissons à nageoires rayonnées
Class	Teleostei
Superorder	Acanthopterygii
Order	Perciformes – perch-like fishes
Suborder	Percoidae
Family	Moronidae – temperate basses, bairs, lobinas norleñas
Genus	Dicentrarchus Gill, 1860
Species	Dicentrarchus labrax (Linnaeus, 1758) – European seabass, sea bass, white salmon

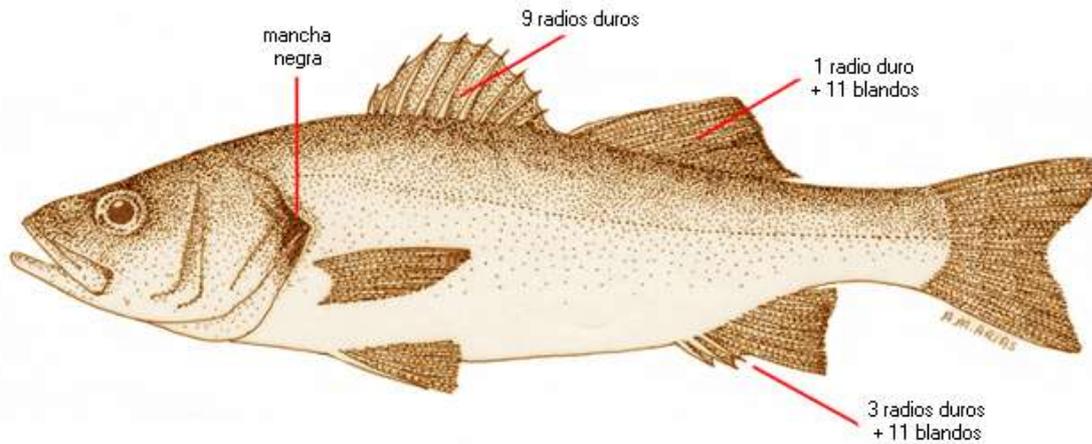
* Se describe y desglosa la clasificación jerárquica de la especie de la que se basa este estudio, recogida en el ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

2.1 Características morfo-biológicas:

La especie de la que trata este estudio, tiene un cuerpo alargado, poco comprimido y rechoncho. Posee dos espinas planas en el opérculo, preopérculo con espinas grandes hacia adelante. Tienen un aparato bucal terminal con dientes vomerianos en una banda semicircular. Con respecto a las aletas, consta de dos dorsales separadas; la primera con 8 a 10 espinas y la segunda con 1 espina y 12 o 13 rayos blandos, una aleta anal con 3 espinas y de 10 a 12 rayos blandos y una aleta caudal moderadamente bifurcada. Escamas pequeñas con la línea lateral completa con 62 a 74. Su coloración es gris-plateado con reflejos azulados por el dorso, y flancos y vientre plateados. Los juveniles pueden tener algunos puntos oscuros sobre la parte superior del cuerpo y los adultos nunca presentan estas punteaciones. Parte superior del opérculo con mancha negruzca. Según la publicación Manual de identificación de especies

pesqueras de interés comercial en Andalucía de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (2004) y según FAO.

Figura 7 Descripción morfológica de la lubina (Linnaeus, (1758)). Ilustración: A.M. Arias.



2.2 Adaptaciones del aparato digestivo

Dicentrarchus labrax es una especie carnívora muy voraz que se alimenta de invertebrados, peces y crustáceos. Suele cazar por las noches (Stickney, R.R. (2000)). Además, la lubina está dotada de branquias cortantes, con las que golpean a sus presas con el fin de dejarlas moribundas. Otro punto fuerte de la lubina es la amplitud de su boca, capaz de ingerir presas de gran tamaño, mediante la succión de grandes cantidades de agua que purga mediante la apertura simultánea de sus agallas. (Prieto, C. (2016))

2.3 Mercado.

La lubina (*Dicentrarchus labrax*) ocupa un lugar importante en los primeros puestos de especies cultivadas en el mundo.

Su hábitat se encuentra muy repartido, por lo que es común que su mercado sea muy amplio, los principales mercados mundiales son Francia, Reino Unido y España con 3428, 682 y 559 Tm. En general las capturas de lubina se han reducido a medida que iban pasando los años, un ejemplo lo tenemos en la disminución de lubina de 2013 a 2015 que fue de un 33%.

Se puede aportar un balance comercial en el que se aprecian las importaciones y las exportaciones, tanto en cantidad como en valor monetario.

Tabla 7 Principales especies producidas mediante acuicultura en la unión europea, por toneladas, en 2017 (FAO (2019) Dirección general de aduanas)

Años	Importaciones		Exportaciones		Tasa de cobertura (%)
	Cantidad (t)	Valor (miles €)	Cantidad (t)	Valor (miles €)	
2014	9.587	40.074	5.753	39.936	99,66
2015	8.078	34.974	6.710	45.349	129,66
2016	9.262	39.732	8.154	56.947	143,33

* La balanza comercial es solo de lubina fresca o refrigerada, de lubina congelada no hay datos significativos.

En el año 2016, el 90% de la exportación de lubina fresca o refrigerada va destinada a la Unión Europea, entre los países que destacan: Portugal con un 48%, Francia con un 18% e Italia 12% del volumen total.

Con respecto a los precios en origen que ha adquirido en el mercado la lubina, presentan un aumento a lo largo de todo el periodo, en 2016 aumentó un 8% en comparación con el año 2014, pasando de 5,60 €/Kg. a 6,08 €/Kg.

Tabla 8 Precios en origen del trienio 2014-2016 en lubina extractiva y de acuicultura. Fuente: Secretaría general de pesca. Observatorio de cadena alimentaria MAPAMA (2018)

Precios en origen (€/Kg)	2014	2015	2016
Lubina extractiva	11,44	12,18	12,58
Lubina acuicultura	5,60	5,57	6,08

Se ha de añadir que el consumo de pescado en los hogares se encuentra en aumento año tras año.

En el mercado se debe añadir el valor extra que tiene su crianza ya que, técnicamente, la cría de la lubina requiere de unas temperaturas medias-altas, lo cual obliga a disponer de sistemas para calentar el agua en las instalaciones en las que no se alcance el valor necesario para la supervivencias de las especies.

Como conclusión la lubina tiene un buen mercado tanto nacional como internacional y su valor se ve incrementado a medida que pasan los años, ya es tiene una relativa facilidad de manipulación.

2.4 Explicación del empleo de lubina. Oportunidades.

Existen varios motivos por los que se eligió la lubina como especie para llevar a cabo este estudio. En primer lugar, su alimentación no es muy compleja, ya que se alimenta de gran variedad de animales de su hábitat. Además de esto, se trata de una especie con una gran capacidad para adaptarse a ambientes muy diversos, lo cual hace posible su cría en muchos sistemas y se debe señalar que tiene una elevada supervivencia en jaulas.

Con respecto a las oportunidades que tiene en Almería, al tratarse de una provincia con una gran cantidad de costa, dispone de un sistema eficiente y completo de producción intensiva de lubina. Actualmente se especula que Almería producirá 3000 toneladas de lubina en 24 jaulas para la cría y engorde, según recoge la revista “*Europa Azul*” (revista de economía Marítima)

Objetivos

3. OBJETIVOS

Con respecto a la problemática actual en el aumento de la explotación intensiva de animales de carne y leche, el desarrollo de la producción piscícola, y la prohibición de incluir harinas de carne en los piensos de animales, han creado una fuerte demanda de harina de pescado, como fuente de proteínas de alto valor biológico. Por otra parte, la sobreexplotación de los caladeros y degradación del medio marino han provocado una disminución en la producción de esta materia prima. La sustitución por fuentes proteicas de origen vegetal sólo es posible en parte, por lo que se proponen los insectos como una nueva alternativa a la harina de pescado. Este TFG se realiza dentro de un proyecto de investigación titulado “ESTUDIO DEL APROVECHAMIENTO DE LOS DESCARTES DE LA FLOTA DE ARRASTRE Y CERCO PARA SU USO EN AGROGANADERÍA”.

Se utilizará concretamente una de las larvas más usadas para la alimentación, en forma de harina de tenebrio (*Tenebrio molitor*) y 2 tipos de harina de *Hermetia* (*Hermetia illucens*) y para la evaluación de dicha harina se empleará la especie acuícola: Lubina (*Dicentrarchus labrax*).

El objetivo principal que se ha propuesto es:

- Estudiar el efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de insecto (*Tenebrio molitor* y *Hermetia illucens*) para lubina (*Dicentrarchus labrax*)

Para lo que se desarrollan los siguientes objetivos parciales:

- Evaluar los índices de crecimiento y nutritivos
- Determinar el efecto de los piensos en la composición del músculo de las lubinas.
- Determinar si la harina de larva obtenida de hermetia criada de descartes de pescado mejora los índices de crecimiento del pez.

Especificaciones y requerimientos técnicos

4. ESPECIFICACIONES Y REQUERIMIENTOS TÉCNICOS

4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar la harina de insectos se formularon 5 dietas sustituyendo la harina de pescado por diferentes niveles de harina de insecto, obtenida a partir de larvas de *Tenebrio molitor*, más conocido como gusano de la harina y de *Hermetia* (*Hermetia illucens*). Además se utilizó larvas de hermetia alimentada con descartes de pescado para mejorar el perfil de ácidos grasos de la harina obtenida, ya que el perfil de ácidos grasos de los insectos es pobre en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

La elección de estas larvas se debió a:

- La comercialización fácil: se comercializa en tiendas de animales como alimento de otros animales como aves o reptiles.
- Una producción sencilla: con poco alimento que se le proporciona (salvado de cereal o pan) y un poco de fruta (como manzana) por el tema de obtención de líquido.
- Es una vía de salida para la sobreexplotación pesquera y abriría nuevas puertas a la acuicultura.
- Es uno de los insectos que se encuentran permitidos por el Reglamento (UE) 2015/2283 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de noviembre de 2015 relativo a los nuevos alimentos, por el que se modifica el Reglamento (UE) n° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan el Reglamento (CE) n° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) n° 1852/2001 de la Comisión.

Se prepararon seis piensos diferentes para las lubinas:

- Pienso control (C)
- Pienso comercial (Com): Cedido por la empresa que proporcionó las lubinas.
- Pienso de 50% de *Tenebrio* (T50)

- Pienso de 30% de Hermetia (H30)
- Pienso de 50% de Hermetia (H50)
- Pienso de 50 % de Hermetia mejorada (H50m)

En la tabla 9 se detalla la composición de las dietas experimentales.

Tabla 9 Composición de los diferentes piensos empleados para la alimentación de los peces.

	Control	T50	H30	H50	H50m
Harina de pescado LT	35,9	18	25,3	17,95	17,95
H. illucens	0,0	0,0	10,9	17,95	0,0
H. illucens mejorada	0,0	0,0	0,0	0,0	17,95
T. Molitor	0,0	18	0,0	0,0	0,0
Gluten trigo	10,5	11,9	13	15,4	15
Torta de soja	15,5	17	17,5	18,3	18,3
Aceite pescado	12,2	9	10,4	9,5	9,7
Lecitina soja	1,3	0,5	1,0	0,5	0,5
Harina trigo	16,6	17,6	13,9	12,4	12,6
Vitaminas y minerales	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Goma guar	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Hemoglobina	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Proteína	42,49	42,50	42,48	42,51	42,52
Lípidos	18,49	18,46	18,54	18,49	18,53
HC	16,43	17,65	15,30	18,49	14,814
Energía	16,83	17,02	16,66	16,54	16,57
Composición (g Kg ⁻¹ DM)					
Materia seca (%)	94.0 ± 0.14	93.7 ± 0.07	92.2 ± 0.14	90.6 ± 0.07	90.7 ± 0.07

Ceniza (%)	8.49 ± 0.07	6.60 ± 0.14	6.85 ± 0.49	7.65 ± 0.07	7.50 ± 0.00
Materia orgánica (%)	85.6 ± 0.07	87.7 ± 0.21	85.4 ± 0.35	82.9 ± 0.14	83.2 ± 0.07
Proteína cruda (%)	57.6 ± 0.04	57.9 ± 0.35	58.9 ± 1.21	57.7 ± 0.59	59.0 ± 0.11

* T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: Hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los valores representados están con sus respectivos errores.

La tabla se encuentra recogida en el Anexo I de este documento, perteneciente al artículo publicado en relación a este estudio con título “Nutritional and Growth Effect of Insect Meal Inclusion on Seabass (*Dicentrarchus labrax*) Feeds”

Cada tratamiento se realizó por triplicado. El pienso fue suministrado de manera manual durante un periodo de 49 días. Los peces se encuentran en cubas de 250L repartidos en lotes de 20 peces por cada cuba. Durante el periodo de alimentación se mantuvo la temperatura del agua constante (20°C). Los peces fueron alimentados “*ad libitum*” (a voluntad) una vez al día.

4.2 TOMA DE MUESTRAS

Para el estudio de los efectos de la dieta sobre cada pez, se realizaron dos muestreos: al principio de la experiencia (día 0) para pesar y tallar los peces y el segundo al final, día 49. En el muestreo final todos los peces fueron tallados y pesados y 360 fueron sacrificados por sobredosis de anestesia. Se procedió posteriormente a la extracción y pesado de varias partes del pescado, como fueron el hígado, el intestino y la grasa perivisceral. Previa a cualquier manipulación los peces fueron sedados.

Las pesadas se llevaron a cabo en una balanza monoplato con una precisión de 0.01g y las tallas, con un ictiómetro de 0.1 cm de precisión, en ambos muestreos la toma de datos fue similar. En el muestro final se debe añadir que se del mismo modo se pesaron ambos filetes del pescado. Para los posteriores análisis de los hígados y el intestino, una vez pesados y separados en bolsas de monodosis, se introdujeron rápidamente en nitrógeno líquido y se conservaron a una temperatura de -20°.

4.3 ANIMALES Y MANTENIMIENTO

Las especies acuícolas empleadas en este proyecto han sido lubinas (*Dicentrarchus labrax*), suministradas por la empresa “Predomar S.L.” de Carboneras. Estos animales fueron transportados desde la piscifactoría hasta los tanques del acuario del Servicio Experimental de Acuicultura (código REGA UAL/02) de la Universidad de Almería. Durante el periodo experimental se mantuvo el oxígeno en niveles óptimos y la renovación del agua que fue aproximadamente en torno a los 300L/hora en cada cuba. Estas cubas estaban conectadas entre sí mediante tuberías, formando un circuito cerrado por donde circulaba el agua. El sistema estaba provisto de un complejo circuito de depuración mediante un skymer, un filtro de arena, un filtro biológico y una lámpara ultravioleta. El circuito de tuberías de las cubas estaba conectado a un calentador que mantenía el agua a una temperatura próxima a los 20-22°C. Cada cuba de manera individualizada fue etiquetada con letras para su tratamiento y con números para diferenciar las repeticiones.

Las labores que se desarrollaron con respecto a la alimentación de las lubinas fue la siguiente:

- Alimentación manual una vez al día, a primeras horas de la mañana.
- Temperatura constante y controlada.
- Medición de los niveles de amonio y nitritos del agua
- Limpieza del agua para la eliminación de los excrementos de los animales y del posible resto de comida sobrante.

En todo momento, los animales se han tratado con respecto a la Ley 32/2007 del 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio y al Real Decreto 1386/2018, del 19 de noviembre que modifica al Real Decreto 53/2013 del 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

4.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.4.1 Determinación de la composición de muestras

Para la obtención de los componentes de las muestras, se tomó como referencia el método WENDEE. El perfil nutricional de BSFL, MWL y peces utilizados en experimentos se caracterizó de acuerdo con los procedimientos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, (2005))

Para la preparación de las muestras de los filetes para su análisis, primero se desecaron en la estufa a 50°C, liofilizándolos. El siguiente paso fue homogeneizarlos en un molino de malla de 1mm.

A continuación se explican los métodos que se emplearon para la medición de los diferentes macronutrientes de las muestras:

- Humedad: En una estufa las muestras se secaron a una temperatura de $105 \pm 0,5$ °C durante 24 horas aproximadamente. Además, se realizó un proceso de liofilización, que consiste en congelar la muestra y posteriormente extraer el agua en una cámara de vacío.
- Cenizas: Se colocaron las muestras de un peso en tornos al medio gramo en un horno mufla a 500°C durante 12 horas programadas, (AOAC, (2005); #942,05)
- Proteínas: Se usó el método Kjeldahl, donde las muestras se mineralizaron con ácido sulfúrico usando un digestor Büchi, formando sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, por eso siempre se trabaja en la campana extractora. Como proceso final, este compuesto se valora con ácido clorhídrico para la determinación total del nitrógeno recogido. A la cantidad obtenida se le aplica el factor de 6.25 para calcular la proteína bruta de la muestra. (AOAC, (2005); #954.01) (Nx6.25)
- Grasa bruta (EE): se determinó mediante extracción de éter etílico (técnica Soxhlet) en el DET-GRAS N. (AOAC, (2005); #920.39). Se debe programar con 3 etapas:

“Boling”, “Rising” y “Recuperación”. Son necesarios unos cartuchos blancos y unos vasos de aluminio donde se recogen las muestras.

Los resultados experimentales se expresaron como medias \pm DE para tres determinaciones diferentes. La prueba de Kruskal-Wallis y las comparaciones entre parejas que utilizan las pruebas de HSD Tukey-Kramer, se realizaron para comparar los resultados de los índices de rendimiento de los peces, la composición proximal, el peso de los órganos y la hidrólisis de proteínas in vitro.

4.4.2 Biometrías

- Longitud total
- Peso total
- Peso tras eviscerar los peces
- Peso del hígado
- Peso del intestino + estómago + gónadas + bazo
- Peso del músculo

4.4.3 Índices nutricionales y de crecimiento

Los índices nutricionales y biométricos fueron los que se usaron para la valoración de cada una de las dietas:

- Incremento del peso = Peso final (pf)– peso inicial (pi)
- Ingesta total por pez = ingesta total por tanque / nº peces del tanque
- Ingesta diaria por pez = ingesta total del pez / días totales del proyecto (t)
- Longitud del pez = longitud final (Lf) – longitud inicial (Li)
- Coeficiente de crecimiento diario (DGC) = $((\text{raiz}^3 \text{ pf} - \text{raiz}^3 \text{ pi})/\text{días}) * 100$
- Ingesta de alimento (FI) = (Ingesta diaria pez / peso medio pez) * 100
- Incremento del peso como porcentaje del Po = $((\text{Pf} - \text{Po})/\text{t}) * 100$
- Tasa de crecimiento instantánea (SGR) = $(\text{Ln Pf} - \text{Ln Po})/\text{t} * 100$
- Factor de conversión (FCA) = alimento ingerido / incremento peso (medido en gramos)
- Eficiencia alimentaria (FCE) = incremento peso pez / peso ingerido total
- Incremento peso pez por ingesta proteica (CEC) = incremento pez / ingesta proteica
- Ingesta proteica por pez = ingesta total por pez * PB del pienso (PB = proteína bruta)

4.5 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los resultados se han expresado como la media con el error estándar correspondiente a la estimación.

El tratamiento de los datos se ha realizado mediante una estadística aplicada para la comparación de grupos de datos, se han aplicado un análisis de la varianza usando el programa Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics Corp., Rockville, Maryland).

Para la correcta estimación de las posibles diferencias entre las poblaciones de datos se ha usado un análisis multifactorial de la varianza de vía simple (multifactor ANOVA).

Resultados y discusión

5. RESULTADOS Y DISCUSION

La investigación de la sustitución de la harina de pescado por la de insecto, no está muy estudiada actualmente, y concretamente para la harina de tenebrio y de hermetia no hay muchas referencias bibliográficas como uso alimenticio para animales, excepto para reptiles. El insecto es aceptado como alimento, pero dependiendo de unas características específicas, como las químicas, las nutricionales y las físicas, en éstas últimas, se pueden incluir el tamaño, la apariencia y la disponibilidad que se ven relacionadas con los principales criterios de aceptación por el pez del alimento, relacionándose con las propiedades organolépticas del mismo: olor, sabor y textura (Jobling et al. (2001)). En algunas fuentes de proteína de origen animal con buen potencial de inclusión en piensos para peces, como es la harina de lombriz, se han detectado sustancias que disminuyen la ingesta (Tacon et al. (1983), Mackie and Mitchell, (1985)), concretamente, compuestos como la quinina o la cafeína se han comprobado que disminuyen la ingesta en varias especies de peces (Mackie and Mitchell, (1985); Lamb and Finger, (1995)).

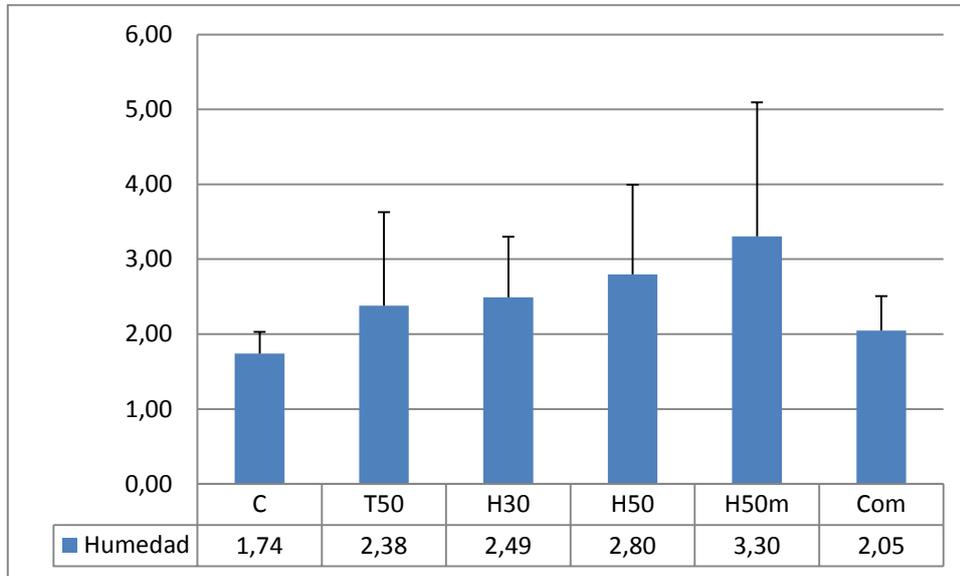
5.1 Composición de los peces

5.1.1 Macronutrientes de la musculatura de los peces

5.1.1.1 Humedad

Aunque el parámetro de la humedad no es muy relevante, de manera general, inversa al contenido de lípidos, como es este caso, donde el músculo control ha mostrado un contenido en humedad menor con respecto a los otros músculos. Como se aprecia en la figura 8, los valores de “control” y de “comercial” se asemejan y presenta valores bajos similares, mientras que el músculo “H50m” (Hermetia 50 % mejorada) es el que presenta mayor porcentaje.

Figura 8 Porcentaje de humedad que contienen los músculos de los peces alimentados con las dietas experimentales.



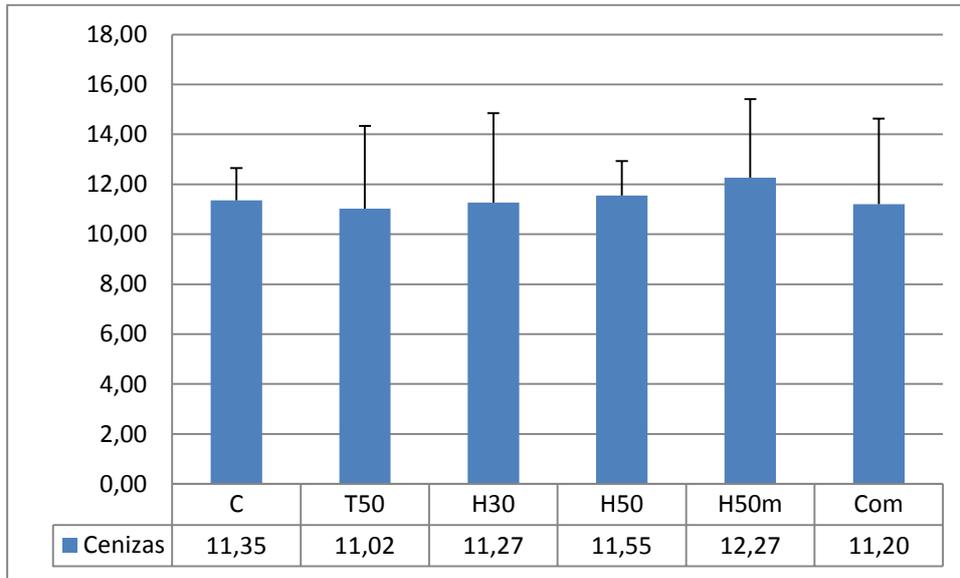
* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

Una vez que se conoce la humedad es posible expresar los resultados de los otros análisis en función de la materia seca (MS).

5.1.1.2 Cenizas y materia orgánica

Haciendo un previo análisis sobre este valor, se podría llegar a la conclusión de que el exoesqueleto de los insectos haría que se alcanzasen valores bajos de cenizas (minerales). El exoesqueleto externo es aquello que recubre todo el cuerpo de los insectos y de los artrópodos, y está formado por una sucesión de capas: la epidermis (unicapa celular), la membrana basal y la cutícula (quitina, antropodina, esclerotina, cera y melanina) (Merzendorfer y Zimoh, (2003)). Haciendo referencia a los datos obtenidos de los análisis de las cenizas, en la figura 9, se observan que todos los valores son relativamente similares menos los obtenidos en el tratamiento H50m, que como anteriormente en la humedad son ligeramente más elevados (alrededor del 11%), aunque esta diferencia no es significativa ($p > 0.05$).

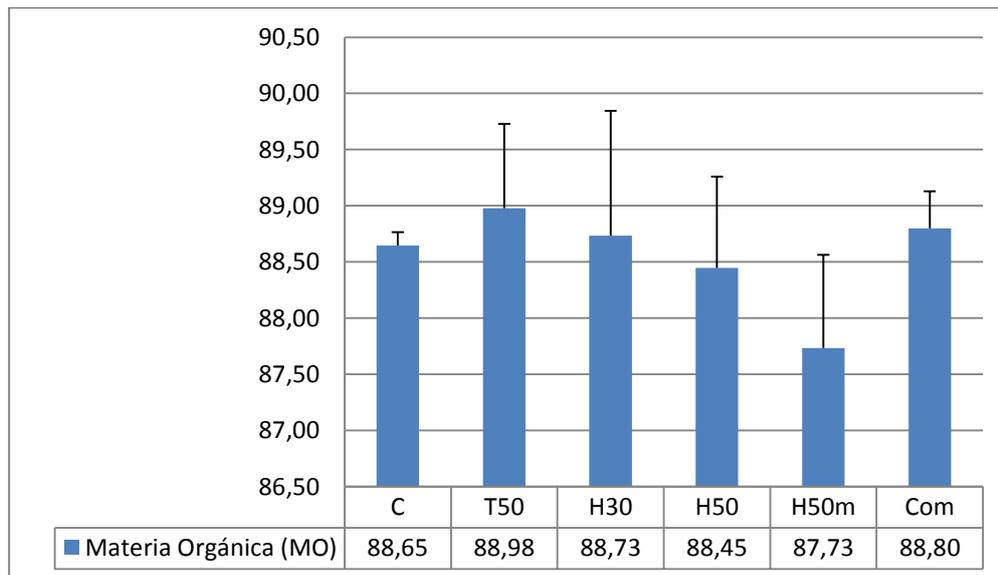
Figura 9 Porcentaje de cenizas (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.



* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

La harina de pescado es un producto obtenido por desecación de partes de pescado, pescados enteros o de restos de la industria conservera, por eso, es posible que el contenido similar de los piensos sea debido a que en todos los casos se realizó el mismo procedimiento.

Figura 10 Porcentaje de materia orgánica (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.



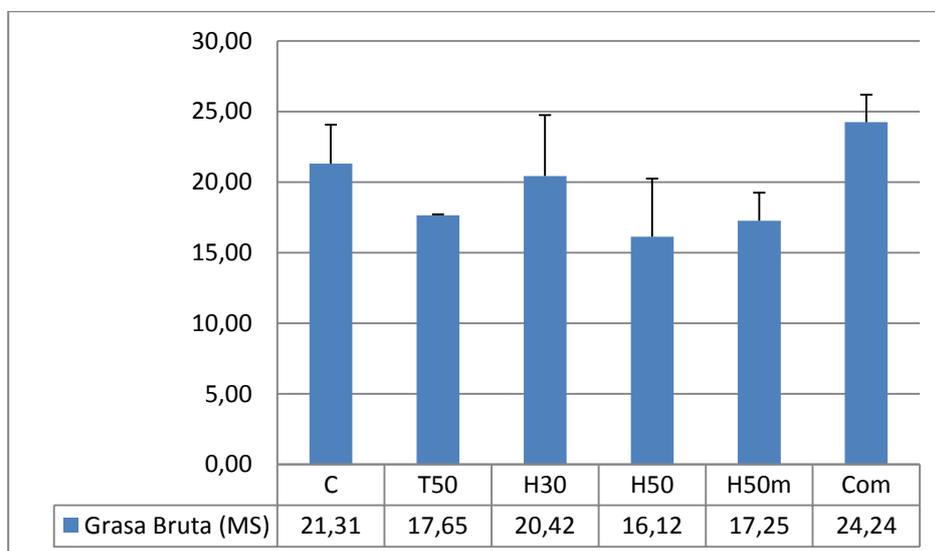
* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

En la figura anterior (fig. 10), se muestra el contenido en materia orgánica obtenido en los análisis. Como es de esperar, al ser complementario al contenido de cenizas, el músculo de “H50m” es el que menor contenido tiene, mientras que los otros músculos contienen un contenido muy similar, aunque estas diferencias no son significativas ($p > 0.05$).

5.1.1.3 Grasa bruta

Los valores obtenidos de lípidos se encuentran en torno a porcentajes de entre 16 y 24. El mayor valor lo recoge el músculo comercial, ya que en él se busca con el pienso correspondiente una mayor palatabilidad y una mejor absorción de las vitaminas esenciales, a su vez también puede mejorar la ganancia de peso, el rendimiento energético del animal y como consecuencia un retorno económico. El valor más bajo es el del músculo con H50, se pudo comprobar que era uno de los piensos que menos gustaban a las lubinas en la fase de alimentación. No se ha encontrado diferencias significativas entre los valores. Se ha comprobado que los diferentes tipos de lípidos dietarios no afecta al contenido total de lípidos musculares (Justi et al. 2003; Karapanagiotidis et al. (2007))

Figura 11 Porcentaje de lípidos (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.

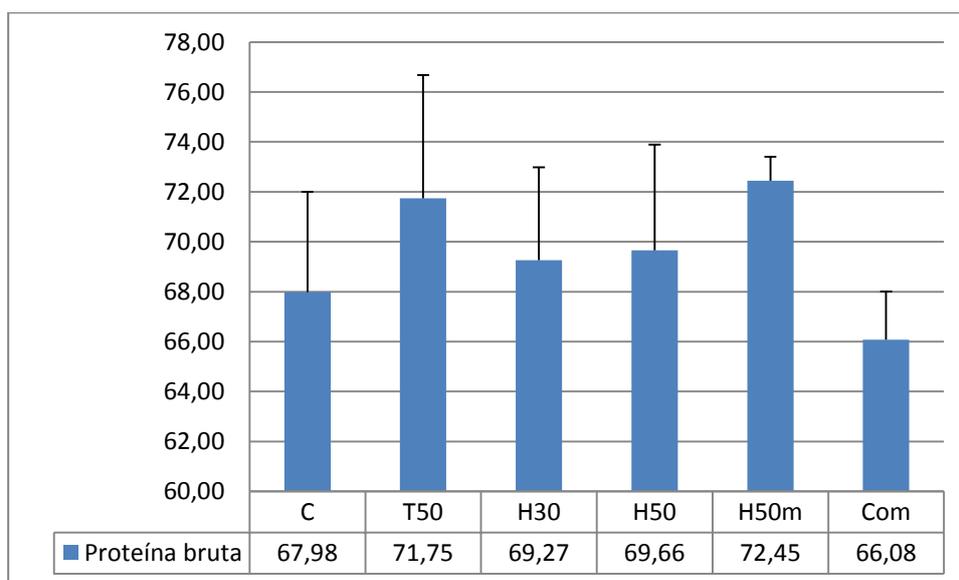


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.1.1.4 Proteína bruta

Como se observa en la siguiente gráfica (fig. 12) los valores de proteínas de los músculos tienen una varianza del alrededor del 6% entre el de mayor y menor valor, se observa una varianza entre los valores de 72,4% en H50m respecto a los de control, que tienen un 67,9%, aunque esta diferencia estadística no es significativa. El contenido proteico obtenido es de gran porcentaje, ya que los insectos poseen valores elevados de proteínas, aunque tienen efectos negativos en la digestibilidad (Barroso et al. (2014)). El nivel de proteína de las dietas experimentales supera las necesidades de proteína para crecimiento y turn-over. Una vez satisfechas las necesidades de crecimiento el exceso de proteína es utilizado con fines energéticos y gluconeogénicos (Sánchez-Muros et al., (1996)) Según lo expuesto, la diferencia de porcentaje de proteína entre las dietas no será un factor que influya en el uso de proteína por parte del animal, pues a partir de un nivel de inclusión serán usadas como nutriente energético. Los valores se encuentran dentro de lo normal en Lubina.

Figura 12 Porcentaje de proteína bruta (MS) que contienen los diferentes músculos experimentales.



* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores

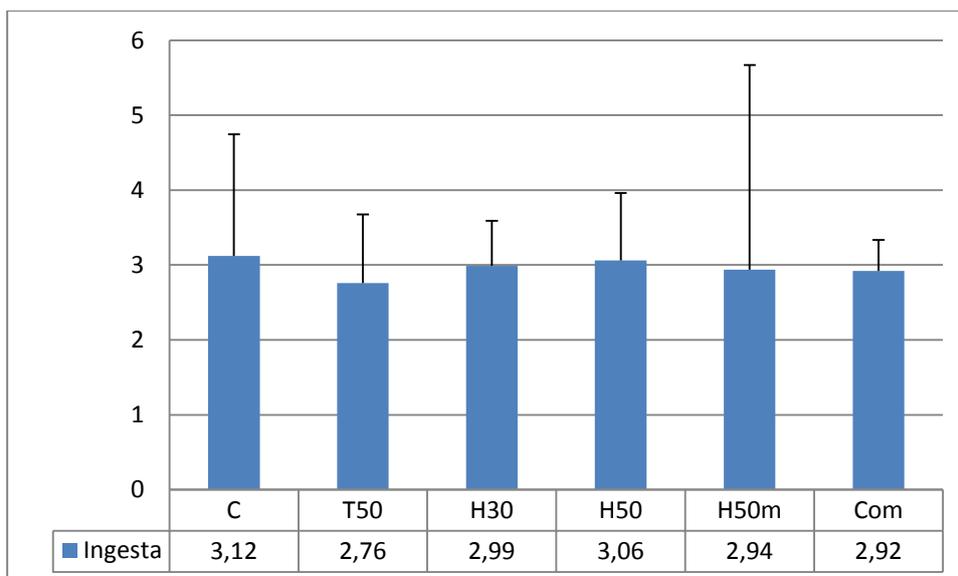
5.2 Índices productivos y biometría

5.2.1 Ingesta

5.2.1.1 Ingesta total

Como se aprecia en la figura 13, los peces que más cantidad de pienso ingirieron fueron los del grupo “control”, ya que fuera posible que tuvieran mejores propiedades organolépticas, como olor, sabor o textura (Joblinn et al. 2001) por lo que pudimos pensar que dichos factores podían influir en su ingesta. Los resultados obtenidos parecen corroborar la hipótesis propuesta. Pero no ocurre lo mismo con el grupo “T50” ya que son los que menores índices de ingesta han alcanzado, 2.76, con diferencias significativas respecto al grupo control ($p < 0,05$). Respecto a los otros tratamientos se llega a la conclusión de que se obtienen valores relativamente similares, en torno al 2.92 y 3.06.

Figura 13 Ingesta total/pez (%) para los diferentes piensos experimentales durante el experimento.



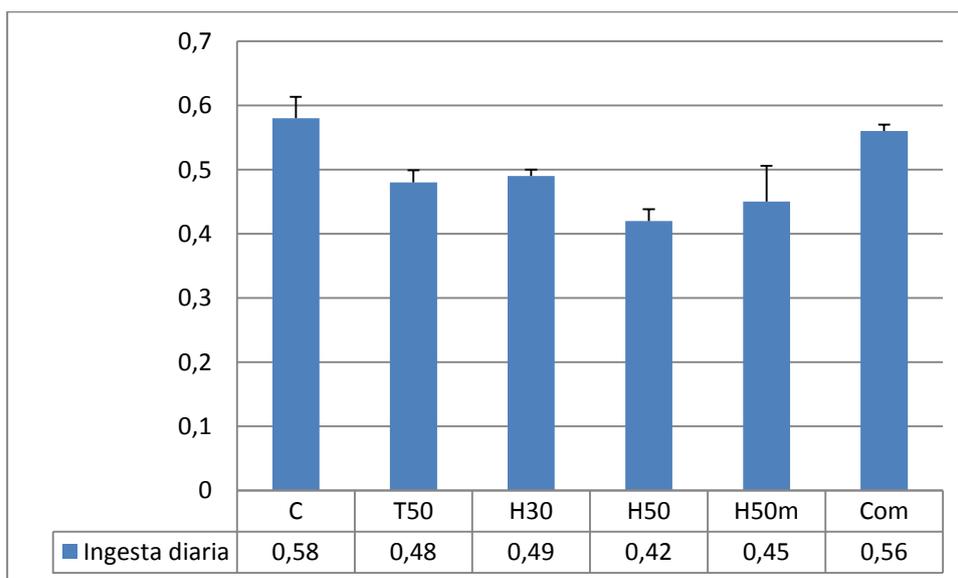
* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

Existe un mecanismo de control de la ingesta relacionado con el nivel de nutrientes circulantes en el animal y con contenidos en la dieta, produciéndose una disminución de la ingesta si contiene poco o mucho de alguno de los nutrientes esenciales (Carter et al., (2001)). Dada la poca habilidad que tienen los peces para regular la glucosa plasmática y las bajas concentraciones de glucosa en tejidos es lógico llegar a la conclusión que no va a ser un nutriente, decisivo, en el control de la ingesta (Peter, (1979); Wilson (1996)).

5.2.1.2 Ingesta diaria

La ingesta diaria, como es lógico, sigue una pauta similar a la que se expresa en el apartado anterior. Los peces que más alimento ingerían eran los del grupo “control” pero muy seguidos de los del grupo “comercial”, los demás grupos se observa que se mantienen en unos valores muy similares. Se intentó que todos los grupos comieran más o menos lo mismo, para el correcto análisis muscular.

Figura 14 Ingesta diaria/pez para los diferentes piensos experimentales durante el experimento.



* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

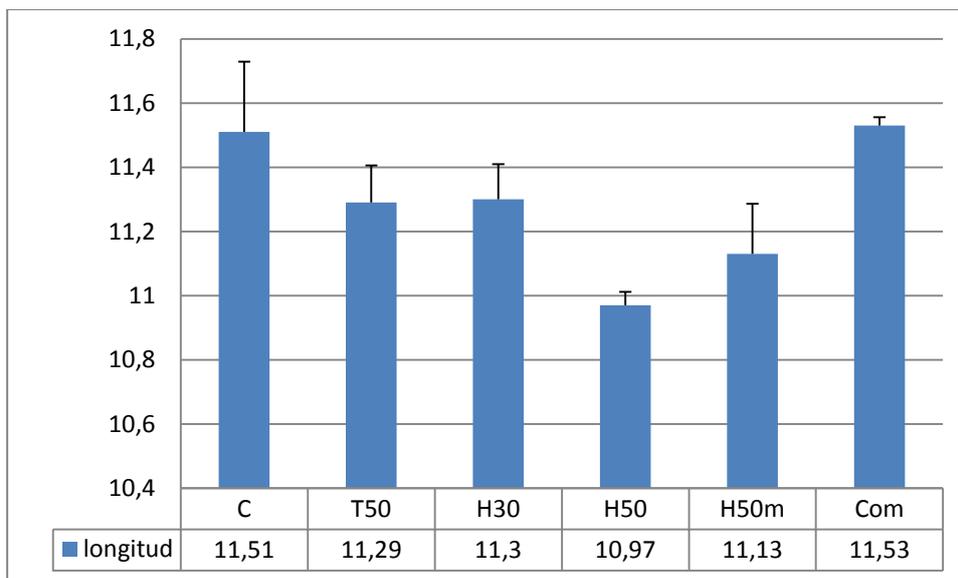
5.2.2 Medidas e índices biométricos de los peces

Uno de los factores que nos indican el desarrollo armónico del animal, son las medidas y los índices biométricos.

5.2.2.1 Longitud total

La tendencia en la ingesta tiene su expresión tanto en la longitud como en el peso. Relacionando la longitud total, cabe destacar que no existe gran diversidad entre las longitudes de los grupos.

Figura 15 Longitud de los diferentes grupos de peces.



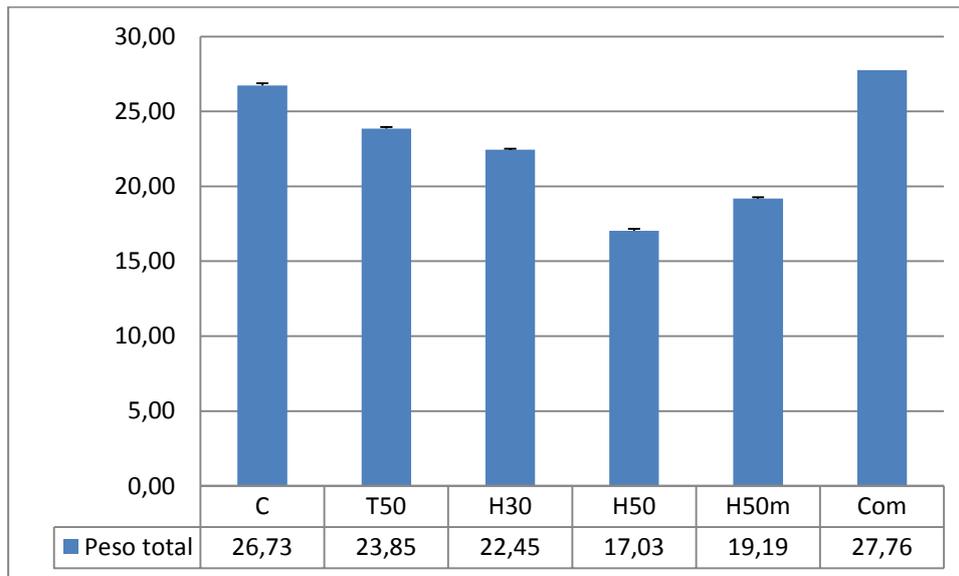
* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.2 Peso total

Al igual que sucedía con la longitud, se esperaba que las diferencias con respecto al peso no fueran notables entre los diferentes grupos, pero como es posible comprobar existen

diferencias, entre el grupo control y comercial con los mayores pesos, y los tratamientos con pesos menores. Las diferencias además fueron significativas entre tratamientos con los menores pesos en los grupos H50 y H50m, ya que hay una diferencia de 5,46 gramos entre el grupo de mayor peso “comercial” y el grupo de menor peso “H50”.

Figura 16 Peso total de los diferentes grupos de peces.

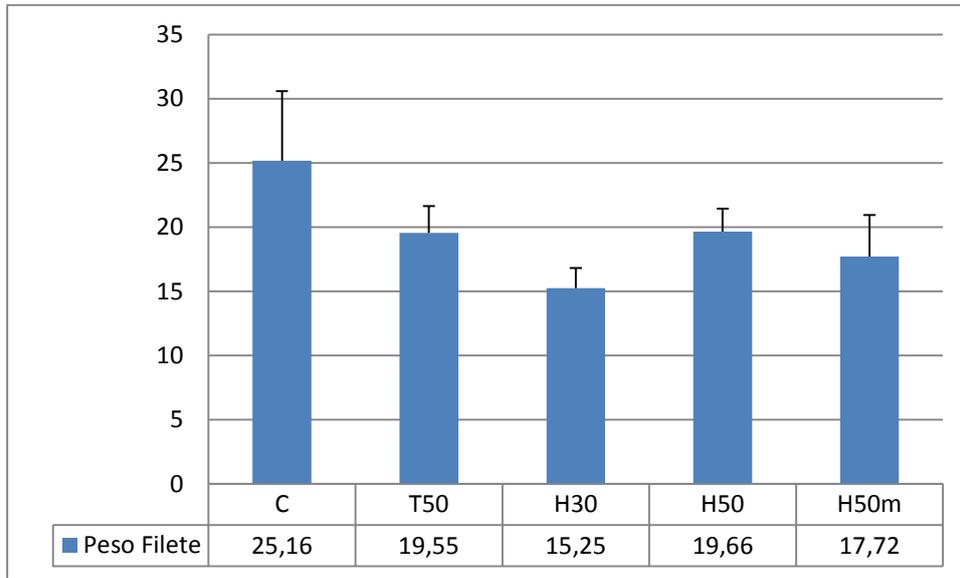


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.3 *Peso del filete*

Los peces del grupo “control” tienen más músculo que los peces de los demás grupos, diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), pero no hay diferencias entre los distintos tratamientos. Hay que añadir que del grupo comercial no se tienen valores.

Figura 17 Peso de la musculatura de los diferentes grupos de peces.

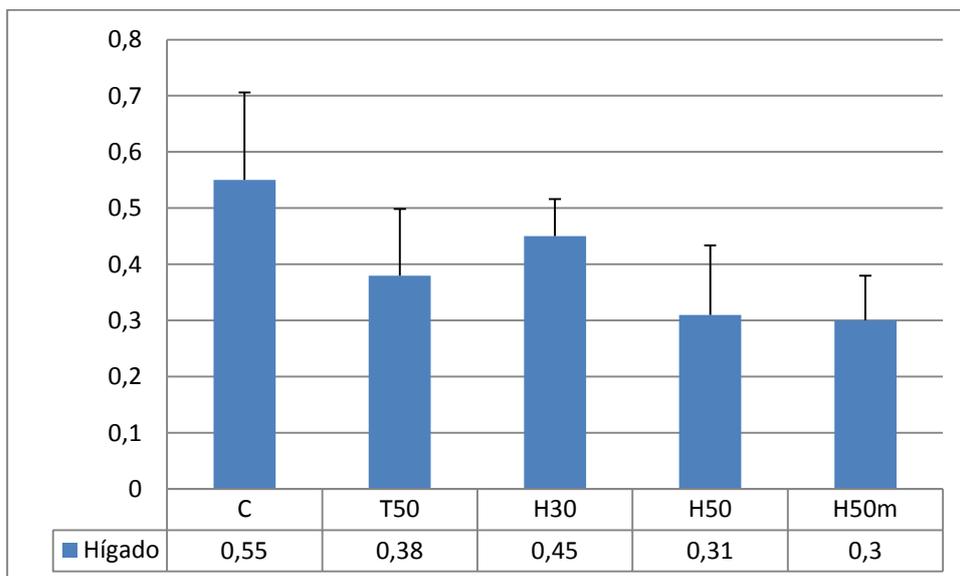


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.4 Peso del hígado

De nuevo se encuentran diferencias entre los distintos grupos: los hígados más pequeños son del grupo “H50m” y “H50”, con diferencias significativas y lo más grandes son del “control”.

Figura 18 Peso de los hígados de los diferentes grupos de peces.



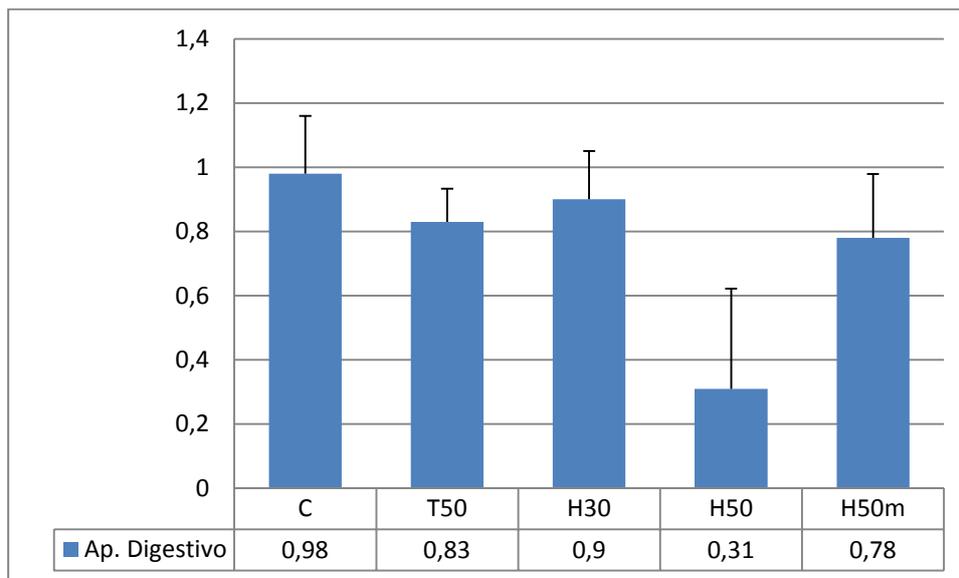
* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada. Los datos están expresados como la media de los valores.

El índice de crecimiento del hígado también se puede relacionar con las grasas ya que se produce un almacenamiento de lípidos en el mismo, para su posterior digestión, lo que hace que sea similar al porcentaje de grasa del pez, como se muestra en la figura 20.

5.2.2.5 Peso digestivo

Con respecto al aparato digestivo vemos que la mayoría sigue un patrón homogéneo, salvo el grupo “H50” que son los de menor tamaño, aunque estas diferencias no fueron significativas.

Figura 19 Peso del aparato digestivo de los diferentes grupos de peces.

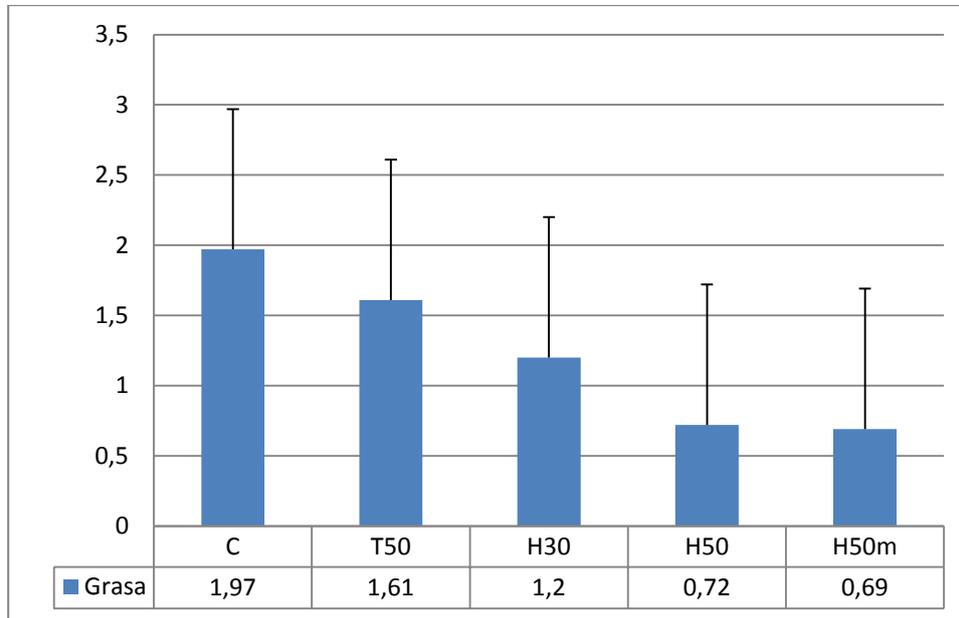


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada. Los datos están expresados como la media de los valores

5.2.2.6 Peso de la grasa

Con respecto a la representación de la gráfica correspondiente a la grasa, podemos deducir que los peces con mayor índice graso, son los que efectivamente pesan más, los grupos control y T50 con diferencias significativas respecto al resto de tratamientos en comparación con los resultados obtenidos en el muestreo final.

Figura 20 Peso de la grasas de los diferentes grupos de peces.



* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.7 Resumen estadístico de los órganos de los peces

Para mejorar la visualización y hacer un breve resumen con respecto a los órganos de las lubinas, podemos verificar estadísticamente los datos obtenidos:

Tabla 10 Peso de los órganos de los diferentes grupos de peces.

Dietas	Filete	Digestivo	Hígado	Grasa
C	25.16 ± 6.11	0.98 ± 0.19	0.55 ± 0.15	1.97 ± 0.75
T50	19.66 ± 2.87	0.83 ± 0.15	0.38 ± 0.11	1.61 ± 0.48
H30	19.55 ± 3.70	0.90 ± 0.24	0.45 ± 0.13	1.20 ± 0.36
H50	17.72 ± 2.49	0.90 ± 0.32	0.31 ± 0.14	0.72 ± 0.34
H50m	15.25 ± 2.62	0.79 ± 0.16	0.28 ± 0.06	0.69 ± 0.28

* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada. Los datos están

expresados como la media de los valores y con sus valores de error. Ésta tabla se encuentra recogida a su vez en el anexo I.

El peso del filete del pez control fue mucho mayor que para los otros tratamientos, pero no se encontraron diferencias estadísticas entre los otros tratamientos, el peso de los digestivos no mostro diferencias Sin embargo, las dietas experimentales afectaron al peso del hígado y la grasa, de forma significativa.

El peso del hígado disminuyó en las dietas de H50m y H50. Con respecto a la grasa, los peces alimentados con la dieta de control tuvieron un mayor peso, seguido de T50. El menor peso de grasa fue para las dietas alimentadas con pescado H50 y H50m, mientras que las alimentadas con H30 obtuvieron valores intermedios.

5.2.2.8 Resumen índices nutritivos y crecimiento

En la siguiente tabla se muestran los valores calculados, con sus respectivos errores, para los diferentes análisis que se han realizado en el proyecto:

Tabla 11 Índices nutritivos y crecimiento de órganos internos. (n=3 media ± ED)

Dietas	SGR	FCE	FI	DGC	FCA	K	PER	In. Peso
C	1.88 ± 0.02 ^a	0.56 ± 0.01 ^b	3.12 ± 0.07 ^a	1.61 ± 0.04 ^a	1.77 ± 0.02 ^c	162.26 ± 2.85 ^a	1.25 ± 0.02 ^b	16.10 ± 0.74 ^a
T50	1.64 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.01 ^b	2.76 ± 0.08 ^b	1.38 ± 0.02 ^b	1.78 ± 0.03 ^c	153.00 ± 4.03 ^{ab}	1.25 ± 0.02 ^b	13.15 ± 0.48 ^b
H30	1.52 ± 0.05 ^b	0.49 ± 0.04 ^b	2.94 ± 0.15 ^{ab}	1.26 ± 0.07 ^b	2.03 ± 0.17 ^c	146.48 ± 8.74 ^{bc}	1.10 ± 0.09 ^b	11.78 ± 1.19 ^b
H50	0.95 ± 0.15 ^c	0.31 ± 0.04 ^c	3.06 ± 0.05 ^a	0.76 ± 0.12 ^c	3.31 ± 0.42 ^a	126.26 ± 3.41 ^d	0.68 ± 0.09 ^c	6.36 ± 1.15 ^c
H50m	1.16 ± 0.13 ^c	0.38 ± 0.02 ^c	2.99 ± 0.16 ^{ab}	0.94 ± 0.13 ^c	2.67 ± 0.14 ^b	134.94 ± 7.58 ^{cd}	0.84 ± 0.05 ^c	8.32 ± 1.51 ^c

SGR = Tasa específica de crecimiento; FCE = Eficiencia alimentaria; FI = Ingesta de

alimento; DGR = Coeficiente de crecimiento diario; FCA = Factor de conversión del alimento; K = Factor condición corporal; PER = Ratio de eficiencia proteica; In.Peso = Incremento del peso del pez

Analizando estadísticamente podemos decir que SGR muestra diferencias estadísticas, el grupo control es el que mayor valor ha obtenido mientras que en segunda posición se encuentran T50 y H50 seguida de H50m, siendo H50 la de menor valor obtenido. Con respecto a la eficiencia alimentaria, se muestran solo diferencias significativas entre los grupos C, T50 y H30 con respecto a los otros dos restantes.

Siguiendo con la observación y comparando los valores de Ingesta de alimento, los grupos control y H50 (que ha tenido valores mayores), han obtenido diferencias estadísticas frente al grupo T50, mientras que los grupos H30 y H50m no presentan diferencias con los otros grupos.

Paralelamente, el crecimiento diario ha obtenido mayor valor el grupo control presentado diferencias con los demás grupos, donde a su vez los grupos T50 y H30 presentan diferencias con los grupos H50m y H50, siendo éste el de menor crecimiento diario.

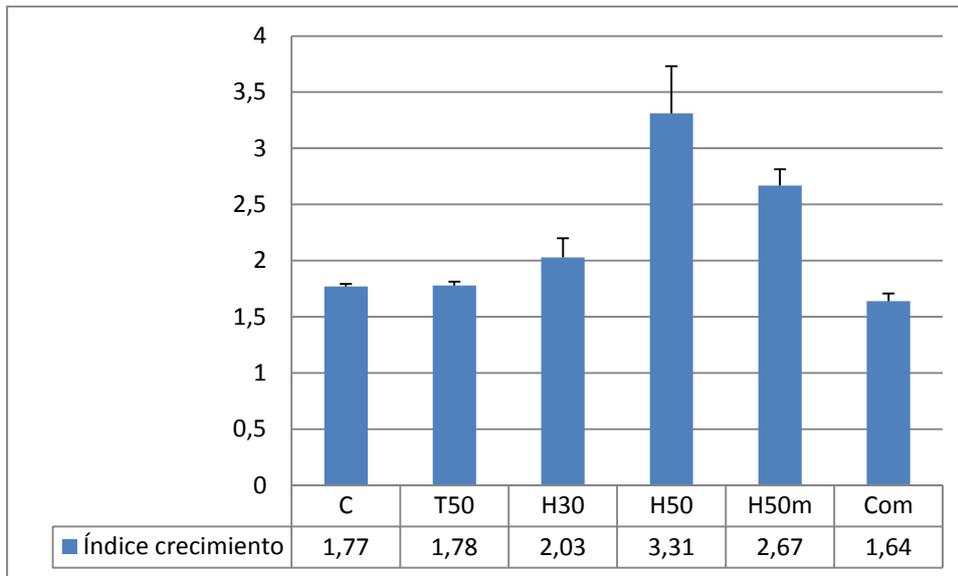
El factor de conversión de alimento se analiza de forma que los grupos C, H50 y H30 presentan las mismas diferencias, pero con los otros dos grupos diferentes, siendo el de mayor valor el H50. La condición corporal se descompone analíticamente en la mayor condición corporal que es diferente a los demás C, seguido de T50 y como último y menor H50 que representa el último valor diferente.

Con respecto a las diferencias relacionadas con la proteína se debe decir que las de mejor eficiencia fueron C y T50 teniendo valores muy similares, junto con H30 con una leve diferencia, mientras que los grupos H50 y H50m obtuvieron valores más bajos, siendo la peor H50.

Como último valor a analizar tenemos el incremento del peso del pez, el cual tiene diferencias significativas entre los grupos C (siendo este el mayor), los grupos T50 y H30 (representando los puestos segundo y tercero) y los grupos H50 y H50m (teniendo valores bajos respecto a la comparación de los otros grupos).

Pero, con independencia, del desarrollo del proceso y de sus posibles errores metodológicos, se debe tener en consideración que los procesos eran iguales para todos los peces y que la mayoría han tenido IC similares.

Figura 21 Índice de conversión de los peces alimentados con los diferentes piensos.

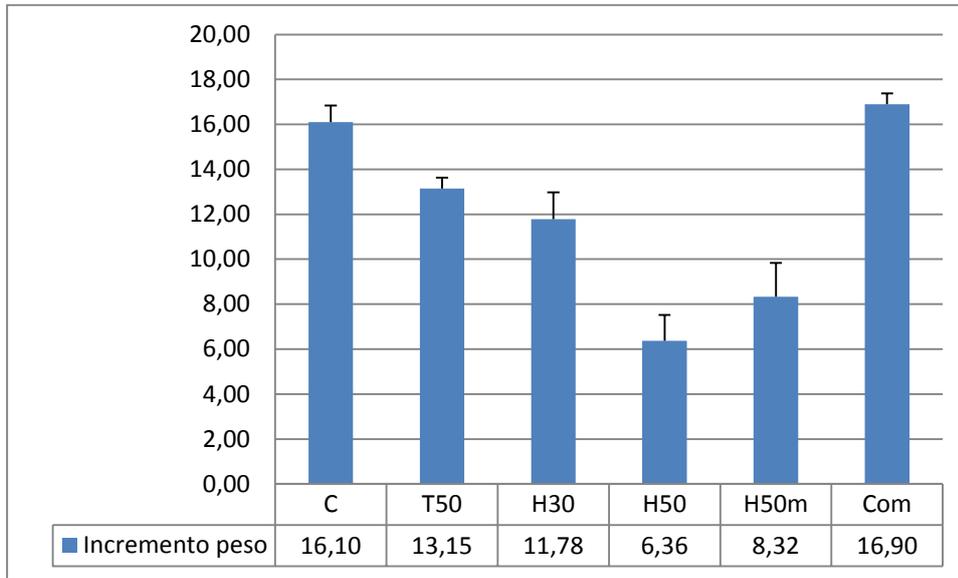


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.9 Incremento (%) peso

Se observa que continua la tendencia antes descrita, en que los peces alimentados con pienso “comercial” tienen un mayor incremento de peso, seguido por el pienso “control” , y como último se encuentra el pienso “H50”

Figura 22 Incremento de peso para los peces alimentados con los diferentes piensos.

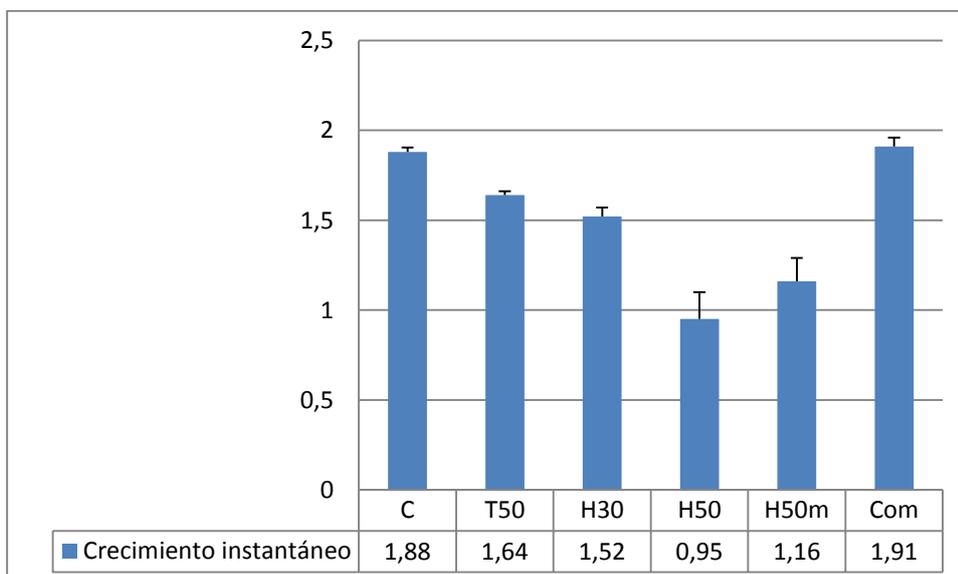


* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

5.2.2.10 Tasa de crecimiento instantáneo

El posible efecto de los diferentes piensos sobre la tasa de crecimiento instantáneo de los animales es prácticamente igual al determinado en el apartado anterior.

Figura 23 Incremento instantáneo de peso para los peces alimentados con los diferentes piensos.



* Los símbolos presentados en la gráfica corresponden C: control; T50: Tenebrio 50%; H30: Hermetia 30%; H50: Hermetia 50%; H50m: hermetia 50% mejorada; Com: Comercial. Los datos están expresados como la media de los valores.

Para terminar este epígrafe se deben recoger los datos generales en porcentaje que se han obtenido en este proyecto, de manera resumen:

Tabla 12 Composición proximal media de los peces alimentados con las diferentes dietas.

Dietas	Grasas (%)	Proteínas (%)	Cenizas (%)
C	21.30 ± 0.69	67.98 ± 2.95	11.35 ± 0.08
T50	17.64 ± 3.21	71.74 ± 4.93	11.02 ± 0.78
H30	20.42 ± 3.79	69.26 ± 1.88	11.26 ± 1.11
H50	16.12 ± 1.53	69.65 ± 4.65	11.55 ± 0.82
H50m	17.24 ± 0.66	72.45 ± 1.44	12.26 ± 0.83

* Los valores presentados en la gráfica corresponden a los pesos medios de cada dieta, sustancia seca, con sus respectivos errores.

5.3 Discusión general

La idea de utilizar el insecto en la alimentación de peces ha sido ampliamente aceptada, sin embargo, es necesario aumentar el conocimiento de las propiedades nutricionales de la fuente para hacer un uso real en la alimentación acuícola.

En este experimento, verificamos cuatro bases dietéticas de harina de insectos, utilizando diferentes insectos (gusano de la harina amarilla y mosca del soldado negro), diferentes porcentajes de inclusión (30 y 50%) y también utilizamos harinas de dos insectos diferentes.

Los índices de crecimiento muestran un mejor crecimiento en peces control seguido por H30 e T50. El aumento de peso para la alimentación de peces con H30 fue 27% menor que el control de peces y 19% para la alimentación de peces con T50. El aumento de peso más bajo fue para H50 (60% menos que el control) y H50m (48% menos que el pescado de control). Se observó una tendencia similar para los otros índices de crecimiento del tratamiento. Este resultado contrasta con los resultados obtenidos por (Magalhães, et al.

(2017)) en *D. labrax* también se alimenta con *Hermetia* al 45% del reemplazo de harina de pescado. Sin embargo, (Magalhães, et al. (2017)) usa harina de insectos desgrasada. El desgrasado de la comida aumentó el porcentaje de proteína cruda, 55.8% en la comida utilizada por (Magalhães, et al.(2017)) versus 43.27% de proteína cruda de la harina de insectos utilizada en nuestro experimento, que está de acuerdo con los valores descritos por (Makkar et al., (2014)) Se obtuvieron resultados similares en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) o rodaballo (*Psetta máxima L.*) disminuyendo el rendimiento del crecimiento y la digestibilidad de la dieta con el uso de *Hermetia* (Kroeckel, S et al.,(2012); St-Hilaire, S, et al.,(2007))

La harina de insecto de H50m se hizo con *Hermetia* alimentada con pescado descartado. Sin embargo, los índices de crecimiento parecen ser mejores que H50, pero no son estadísticamente diferentes y claramente peores que los obtenidos para H30 y T50 o control. Estos resultados muestran que la mejora de los ácidos grasos de la harina de insectos podría ser insuficiente.

En cuanto a la sustitución por harina de tenebrio, parece ser más adecuada para la lubina, con índices de crecimiento similares a los del H30 y mejores que el H50, pero inferiores al control. Resultado similar al obtenido por (Gasco et al.(2017)) en la lubina que obtuvo una digestibilidad disminuida de la materia seca y la tasa de alimentación en comparación con la dieta de control, con una consiguiente disminución del 27% en el aumento de peso con un alto nivel de inclusión de Tenebrio (50%), con respecto al 19% de la disminución de la ganancia de peso obtenido en nuestro caso.(Piccolo et al. (2016)) obtuvieron parámetros de crecimiento similares alimentando al besugo (*Sparus aurata*) con una dieta con 50% de reemplazo por harina Tenebrio con respecto a los peces alimentados con una dieta de control, mientras que los índices de crecimiento mejoraron cuando los peces fueron alimentados con un dieta del 25% de reemplazo.

Los índices nutritivos mostraron una tendencia similar a los índices de crecimiento. El FI fue similar entre los tratamientos, excepto para T50, mientras que el FCR y el PER fueron peores para ambos tratamientos con *Hermetia* en un alto nivel de reemplazo (H50 y H50m), lo que explica el resultado obtenido para los índices de crecimiento y el aumento de peso. Estos resultados están parcialmente de acuerdo con los reportados en *D. labrax* por (Magalhães et

al. (2017)) quienes observaron un empeoramiento de PER con el aumento de la inclusión de Hermetia sin cambios en FCR. Se encontraron resultados similares en *P. máxima* y *O. mykiss*. Se encontraron resultados opuestos en *S. aurata*, *Salmo salar*, *O. mykiss* sin diferencias en los índices nutricionales entre la dieta.

Estas diferencias podrían deberse a muchos factores relacionados con el pescado, como la edad, la especie o podrían estar relacionados con la formulación de la dieta o la calidad de los ingredientes. En este sentido, la calidad de la harina de insectos no está estandarizada. La alimentación de las larvas de insectos o el proceso de producción de harina de insectos podría afectar la composición y, en consecuencia, el valor nutritivo de las comidas (Newton, G.L et al., (2005); Ekpo, K.E. (2011))

El 50% de reemplazo por *Tenebrio* mostró mejores índices nutritivos que el 50% de reemplazo por *Hermetia*. El FCR y el PER fueron similares al control, sin embargo, se observó un ligero empeoramiento de estos índices, de acuerdo con los resultados obtenidos por (Gasco et al. (2016)) en lubina. Por otro lado, la menor ingesta de alimento de los peces T50 podría justificar el menor aumento de peso con respecto a los peces control, de acuerdo con los resultados obtenidos en *D. labrax* alimentado con una dieta con 50% de reemplazo con harina de *Tenebrio* (Gasco et al. (2016)). Es posible que, de acuerdo con experiencias anteriores, *Tenebrio* no sea un alimento muy sabroso, posiblemente porque tiene algunas características organolépticas negativas.

Con respecto al filete, el mayor peso corresponde al pescado control, así como al mayor peso del hígado y la grasa perivisceral, que reflejan las diferentes tasas de crecimiento e índices nutricionales obtenidos entre el tratamiento.

Con respecto a la composición muscular, no se altera por la inclusión de insectos, como también se ha informado en *D. labrax* al alimentarse con *Tenebrio* (Gasco et al. (2016)) o con *S. aurata* con *Hermetia* (*S. aurata* et al (2014)).

Este proyecto forma parte de un ensayo, en el que constan más experimentos, cuyo objetivo es evaluar la harina de tenebrio y hermetia como alternativa a la harina de pescado. La aceptación de una alimento está muy condicionada por sus propiedades organolépticas, considerándose un factor de regulación de la ingesta a corto plazo (Carter et al., (2001)). Es

posible añadir que las similitudes entre los grupos “control” y “comercial” podrían interpretarse como que ambos aportan nutrientes similares.

Como conclusión, podemos decir que con este trabajo apenas se ha comenzado a estudiar un mundo tan apasionante y complejo como es el del uso de la harina de insecto como complemento a la harina de pescado en el mundo marino. Parece un pequeño paso, pero es un trabajo que abre las puertas a nuevas incógnitas y caminos por recorrer, uno de los siguientes pasos que se me ha ocurrido realizando este trabajo es la mejora de la eficiencia de la harina de insecto con respecto a la de pescado para que su implantación en la alimentación tenga unos valores similares o incluso mejores a la de pescado, así se daría un respiro al medio marino.

Documentándome para la realización de este trabajo se me han ocurrido nuevos caminos para la investigación de la acuicultura, como sería: la posible implantación de un pequeño aparato informático que recoja diferentes valores, como por ejemplo, de estrés, en el cuerpo de los peces para reducir el efecto negativo que tiene el estrés sobre los mismos. Otra de las ideas que se me han ocurrido es más del ámbito de la biotecnología, en la que mediante técnicas del control del sexo, se obtengan individuos de un mismo sexo, así se mejoraría el rendimiento productivo pudiendo tener granjas con individuos exclusivamente productivos o también utilizar una especie de esteroides para una posible inversión sexual en peces. Siguiendo por el tema de los piensos: ¿sería posible crear un pienso a base de hormigas? Aunque para crear un pienso sea necesaria mucha cantidad de estos himenópteros, considero que tienen unas buenas características como proteínas, calcio y ácidos grasos poliinsaturados, además de ser fácil de mantener y de producir un cultivo, como para poder avanzar por este camino.

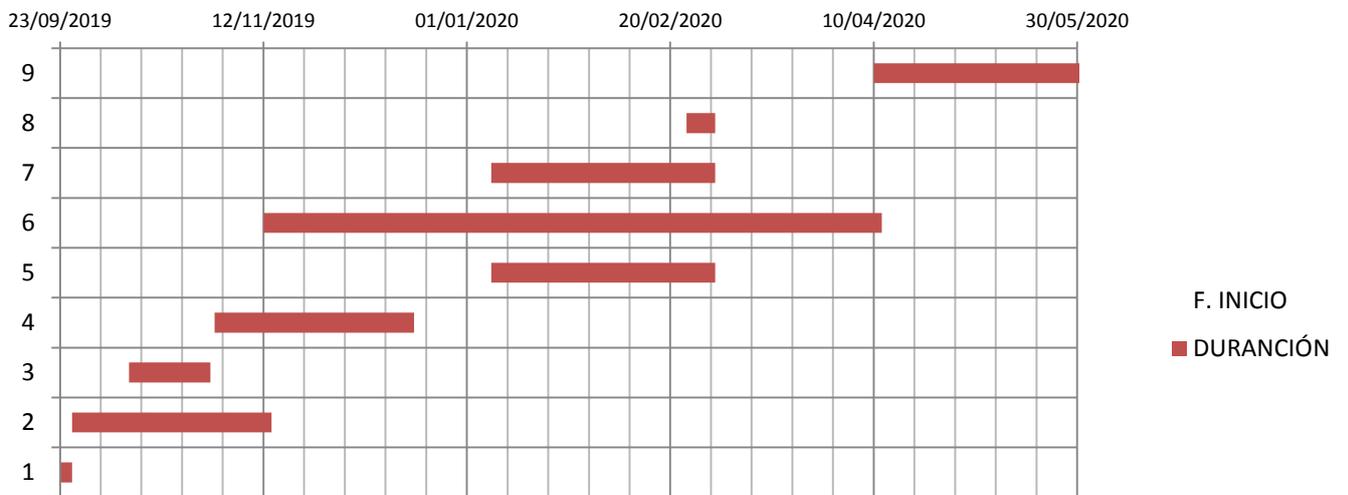
Fase realización, cronograma y competencias

6. FASE REALIZACION, CRONOGRAMA Y COMPETENCIAS

Algunas de las competencias básicas que se integran en el proyecto recogido son:

- E-CB04: Conocimientos básicos de la química general, química orgánica e inorgánica y sus aplicaciones en la ingeniería, necesaria para los reactivos de laboratorio.
- E-CB08: Conocimiento de las bases y fundamentos biológicos del ámbito vegetal y animal en la ingeniería, útil para el conocimiento y manejo animal.
- E- CA03: Capacidad para reconocer, comprender y utilizar los principios de: Las bases de la producción animal. Instalaciones ganaderas, necesario para saber el funcionamiento del emplazamiento animal.
- E-CA04: Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de: Aplicaciones de la biotecnología en la ingeniería agrícola y ganadera, para saber manejarse correctamente en el laboratorio y saber manejar los diferentes tipo de muestras a analizar.
- E-CTE01: Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de Tecnologías de la producción animal: Anatomía animal. Fisiología animal. Sistemas de producción, protección y explotación animal. Técnicas de producción animal. Genética y mejora animal, útil para conocer el tratado de los animales según la legislación.
- E-CTE03: Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de Ingeniería de las Explotaciones Agropecuarias: Electrificación de explotaciones agropecuarias. Maquinaria Agrícola. Sistemas y tecnología de riego. Construcciones agropecuarias. Instalaciones para la salud y el bienestar animal, conocer el funcionamiento a nivel de instalación del acuario.

Figura 24 Diagrama de Gantt con los principales procesos llevados a cabo en el proyecto.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
F. INICIO	23/09/2019	26/09/2019	10/10/2019	31/10/2019	07/01/2020	12/11/2019	07/01/2020	24/02/2020	10/04/2020
DURACIÓN	3	49	20	49	55	152	55	7	51

* A continuación se muestran las explicaciones para los números del diagrama.

1. Redacción del título y diseño experimental básico.
2. Recopilación de información y redacción anteproyecto.
3. Acondicionamiento de acuario y recogida de ejemplares de lubina.
4. Alimentación de especies en acuario.
5. Trabajo de laboratorio.
6. Redacción memoria.
7. Mediciones y tratamiento de datos.
8. Cálculos de parámetros con los datos obtenidos.
9. Conclusiones, finalización y corrección del “Trabajo fin de grado”

Con respecto a la duración de cada proceso se ha tomado como unidad, días, para que el diagrama no variara demasiado y fuera lo más preciso posible.

Conclusiones

7. CONCLUSIONES

- 1- La sustitución de harina de pescado por harina de larva de *H. illucens* o *T. molitor* en cualquiera de los porcentajes de inclusión.
- 2- La sustitución por harina de larva de *T. molitor* indujo mejores resultados de crecimiento y aprovechamiento de la dieta que sustitución por harina de larva de *H. illucens*.
- 3- La mejora de harina de *H. illucens* mediante su cría con descartes de pescado, mejoro ligeramente pero no significativamente, los índices de crecimiento y nutritivos con respecto a la harina de *H. illucens* no mejorada. Esto indica que el nivel de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que aporta la mejora son insuficientes o bien no son la única causa de los malos crecimientos obtenidos con la sustitución de hermetia.

Bibliografía

8. BIBLIOGRAFÍA

AAFCO (2010) In: Feed inspector's manual, 5th edn. Association of American Feed Control Officials (AAFCO), Champaign

Adelizi PD, Rosati RR, Warner K, Wu YV, Muench TR, White MR et al. (1998) *Evaluation of fish-meal free diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss**. *Aquaculture Nutrition*.; 4(4):255-62.

Aguilar-Miranda, E.D., López, M.G., Escamilla-Santana, C., Barba de la Rosa, A.P., (2002). *Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 192–195.

Akiyama T., Murray I., Hirasawa Y., Nose, T., (1984). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentoss biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8

Aldrich G (2006) *Rendered products in pet food*. In: *Meeker DL* (ed) *Essential rendering*. The National Renderers Association, Alexandria, pp 159–177

Anwar, A., Ishak, M., El Zeiny, M. Hassanen, G.D.I. (1982). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8

[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th ed. Maryland, EE. UU AOAC International. ISBN 0-935584-85-4

AOAC. (2000) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

Baishaw, S., Edwards, J., Daughtry, B., & Ross, K. (2007). *Mercury in seafood: Mechanisms of accumulation and consequences for consumer health*. *Reviews on Environmental Health*, 22(2), 91–114. (12/04/20) <https://doi.org/10.1515>

Ballestrazzi, R., Lanari, D., Agaro, E., Mion, A. (1994). *El efecto de la proteína de la dieta y la fuente de crecimiento, composición total, amoníaco y excreción reactiva de fosfato de la lubina en crecimiento (Dicentrarchus labrax)* Acuicultura 127: 197-206

Barker, D., Fitzpatrick, M.P., Dierenfeld, E.S., (1998). *Nutrient composition of selected whole invertebrates*. Zoo Biol. 17, 123–134.

Barroso FG, de Haro C, Sanchez-Muros MJ, Venegas E, Martinez-Sanchez A, Perez-Banon C (2014) *The potential of various insect species for use as food for fish*. Aquaculture 422: 193–201.

Barry, T., (Ph.D. dissertation) (2004), *Evaluation of the Economic, Social, and Biological Feasibility of Bioconverting Food Wastes With the Black Soldier Fly (Hermetia illucens)*. University of Texas, 176 pp

Braekkan, O.R. and G. Boge (1964). *Growth inhibitory effect of extracts from milt (testis) of different fishes and pure protamines on microorganisms in El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. FAO, 1999. ISBN 92-5-303507-2. ONLINE: (12/04/20) <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s05.htm#4.%20composicion%20quimica>

Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter (2002) *Molecular Biology of the Cell. 4th edition*. New York: Garland Science. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26911/>

Bukkens, S.G.F., (1997). *The nutritional value of edible insects*. Ecol. Food Nutr. 36, 287–319.

Carter et al. (2001) *Physiological effects of feeding*. In *Food intake in fish*. Ed Houlihan D., Boujart, T., Jobling, M., Blackwell Sciences Ltd. Oxford UK. 978-0632055760

Castelló Orway, F. (1993). *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8

DeFoliart, G.R., Finke, M.D., Sunde, M.L. (1982) *Potential value of the Mormon cricket (Orthoptera: Tettigoniidae) harvested as a high protein feed for poultry*. J. Econ. Ent. 75: 848– 85.

De Francesco M, Parisi G, Médale F, Lupi P, Kaushik SJ and Poli BM (2004). *Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)* Aquaculture; 236(1):413-429

De la Higuera, M y Cardenete, G (1987). *La proteína en la nutrición de los peces*. Universidad de Granada. 84 475 0477 8

De la Higuera, M. Cardenete, G. (1987). *Alimentación en Acuicultura marina: Fundamento biológicos y tecnología de la producción*. 8447504778 ONLINE: https://books.google.es/books?id=hjwMNMgh1cQC&pg=PA221&lpq=PA221&dq=De+la+Higuera,+M.+Cardenete,+G&source=bl&ots=3niJo9QC-F&sig=ACfU3U07_gn5xf5UhhmAcq3j8hDBSRi4vg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiAruL-tKPIAhVRXhoKHa84CCwQ6AEwAHoECAQQAQ#v=onepage&q=De%20la%20Higuera%2CM.%20Cardenete%2C%20G&f=false

Dias J, Gomes EF, Kaushik SJ. (1997). *Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets*. Aquatic Living Resources; 10(6):385-389

Diclaro II, J.W., Kaufman, P.E., (2009). *Black soldier fly Hermetia illucens Linnaeus (Insecta: Diptera: Stratiomyidae)*. In: EENY-461, Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Diener, S., Zurbrugg, C., Roa Gutiérrez, F., Nguyen Dang Hong, M.A., Koottatep, T., Tockner, K., (2011). *Black soldier fly larvae for organic waste treatment—prospects and constraints*. In: WasteSafe 2011 – 2nd Int. Conf. on Solid Waste Management in the Developing Countries, 13–15 February, Khulna, Bangladesh, pp. 52–59

Dozier WA, Dale NM (2005) *Metabolizable energy of feed-grade and pet food-grade poultry by-product meals*. J Appl Poultry Res 14(2):349–351.
<https://doi.org/10.1093/japr/14.2.34>

EcoHustler Online Magazine.(2019) *Until the seas run dry. How industrial aquacultura is pludering the oceans.* Publicado el 17 de abril de 2019. ONLINE: <https://changingmarkets.org/>

(FAO) (2019) *Aquaculture topics and activities.* Acuicultura. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. Actualizado 20 August 2019. <http://www.fao.org/fishery/>

(FAO) Moretti, A., Pedini Fernandez-Criado, M., Cittolin, G. & Guidastrì, R. (1999). *Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream*, Vol.1. FAO, Rome, Italy.

194pp.http://www.fao.org/fi/website/MultiQueryAction.do?query=http://www.fao.org/fi/ems_search/advanced_s_result.asp?xml=y%26xml_no_subject=y%26OWNER=dep_1%26FORM_C=AND%26JOB_NO=X3980%26NO_IN_SERIE=

(FAO) (2019). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2017* ISBN 978-92-5-131669-6 <http://www.fao.org/3/ca5495t/ca5495t.pdf>

Finke, M.D., (2002). *Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores.* Zoo Biol. 21, 269–285.

García Vega, M.A. (2018). *El gran negocio alimentario de las proteínas.* ONLINE: https://elpais.com/economia/2018/03/22/actualidad/1521721700_390520.html

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. 220, 34-45.

Gomes EF, Rema P, Kaushik SJ. (2005) *Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance.* Aquaculture; 130(2):177-186.

Gómez-Requeni P, Mingarro M, Caldach-Giner JA, Médale F, Martin SA, Houlihan DF et al. (2004) *Protein growth performance, amino acid utilization and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*).* Aquaculture; 232(1):493-510

Hardouin, J., Mahoux, G., (2003). Zootechnie d'insectes – *Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux*. In: *Bureau pour l'Echange et la Distribution de l'Information sur le Mini-élevage (BEDIM)*, 164 p.

Harinder, P.S. Makkar, Giles Tran, Valérie H. Philippe, A. (2014) *State of the art on use of insects as animal feed*. Vol 197. Pages 1-33. Ed. ELSEVIER

Hernández C, Olvera-Novoa MA, Hardy RW, Hermosillo A, Reyes C, González B (2010) *Complete replacement of fishmeal by porcine and poultry by-product meals in practical diets for fingerlings Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: digestibility and growth performance*. *Aquacult Nutr* 16(1):44–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00639.x>

Hilton, J.W., Slinger, S.J. (1981) *Aquatic Sciences. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8

Informe Apromar (2019). ONLINE:

<http://apromar.es/sites/default/files/2019/InformeAcui/APROMAR%20Informe%20ACUI%20CULTURA%202019%20v-1-2.pdf>

Jaime Guerrero Muñoz. (2012) *La nutrición y la alimentación eficiente de los peces*. Estudio recopilado de diversos artículos. Agrinal colombia s.a.

Jos, A., Daschner, A., Rodríguez, D., Ros, G., Ruiz, M.J. y Tur, J.A. Grupo de trabajo (2017). *Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN)*

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/publicaciones/revistas_comite_cientifico/comite_cientifico_27.pdf

Justi, K.C., Hayashi, C., Visentainer, J.V., de Souza, N.E., Matsushita, M. (2003) *The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed a diet enriched with n-3 fatty acids*. *Food chem* 80: 489-493

Karapanagiotidis, I. T., Bell, M.V., Little, D. C., Yakupitiyage, A. (2007). *Replacement of Dietary Fish Oils by Alpha-Linolenic Acid-Rich Oils Lowers Omega 3 Lipids* 42:547-559

- Karapanagiotidis, I. T.; Daskalopoulou, E.; Vogiatzis, I.; Rumbos, C., Mente, E.; Athanassiou, C. G. (2014) Substitution of fishmeal by fly *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *HydroMedit*, 2014, 110-114.
- Kaushik, S.J. (1990). *Mediterranean Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- Kilberg, R. (1972). *Ann Rev. Microbiology. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- Kroeckel, S.; Harjes, A.G.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 fishmeal substitute—growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (Psetta maxima)*. *Aquaculture* 2012. 364-365, 345–352, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>
- Landry, S.V., DeFoliart, G.R., Sundae, M.L. (1986). *Larval protein quality of six species of Lepidoptera (Saturniidae, Sphingidae, Noctuidae)*. *J. Econ. Ent.* 79: 600–604.
- Lamb, C.F. y Finger, T.E. (1995). *Gustatory control of feeding behaviour in goldfish. In Food intake in fish*. Ed Houlihan D., Boujard T., Jobling M. Blackwell Sciences Ltd. Oxford UK. 978-0632055760
- Lim, C., Dominy, W. (1990). *Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp. Penaeus vannamei*, *Aquaculture* 87: 53-64
- Lock, E.; Arsiwalla, T.; Waagbo, R. (2016) *Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (Salmo salar) postsmolt*. *Aquacult. Nutr.* 2016, 22, 1202–1213.
- Malomo, O., Alamu, E., (2015) *Protein Evaluation of Foods*. *International Journal of Nutrition and Food Sciences* . Vol. 4, núm. 6, 2015, págs. 700-706. doi: 10.11648/j.ijnfs.20150406.26 ONLINE: <http://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=153&doi=10.11648/j.ijnfs.20150406.26>

Mackie, A.M y Mitchell, A.I. (1985). *Identification of gustatory feeding stimulants for fish – applications in Aquaculture*. In *Food intake in fish*. Ed Houlihan D., Boujard T., Jobling M. Blackwell Sciences Ltd. Oxford UK. 978-0632055760

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

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, 2017, 476, 79-85.

Manual de identificación de especies pesqueras de interés comercial en Andalucía de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (2004)

<https://www.juntadeandalucia.es/organismos/agriculturaganaderiapescaydesarrollosostenible/areas/pesca-acuicultura/comercializacion/paginas/espinteres-manualident.html>

Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Martínez-Sánchez, A., (2012) *Renewable and Sustainable energy reviews*. ELSERVIER. Vol.16, Pag: 3744-3753

Mariño, S., Sánchez, E., Suárez, G., Rodríguez, J. (2012). *Harina de pescado*. Sección: 803. Universidad politécnica territorial de edo. Portuguesa J.J. Montilla.

<https://www.monografias.com/trabajos95/harina-pescado/harina-pescado.shtml#conclusioa>

Merzendorfer H. and Zimoch L. (2003) *Chitin metabolims in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases*. The Journal of Experimental Biology, 206: 4393-4412

M. Gil-Campos, J. Dalmau Serra, (2010) *Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría*. Vol. 73. Núm. 3. ISSN: 1695-4033. ONLINE:

<https://www.analesdepediatría.org/es-importanciadel-acido-docosaenoico-dha--articulo-S1695403310002122>

- Mohsen, A.A., Lovell, R.T., (1990). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8 (18/10/2019)
- Moyano, F. J., De la Higuera, M. Cardenete, G. (1992). *Anim. Prod. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- Murai, T. (1992) *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 4750477 8
- Murray, A. y Marchant, R. (1986). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- Nakagaki, B.J., DeFoliart, G.R. (1987) *Protein quality of the house cricket Acheta domesticus when fed to rooster chicks*. Poultry Sci. 66: 1367–1371.
- Newton, L., Sheppard, C., Watson, D.W., Burtle, G., Dove, R., (2005). *Using the black soldier fly, Hermetia illucens, as a value-added tool for the management of swine manure*. In: Report for Mike Williams, Director of the Animal and Poultry Waste Management Center. North Carolina State University
- Peres, H. y Oliva-Teles, (2005) *A. Fish Physiol Biochem* 31: 23. ONLINE: <https://doi.org/10.1007/s10695-005-4586-2>
- Peter, R.E (1979) *The brain and feeding behaviou. In Food intake in fish*. Ed Houlihan D., Boujart, T., Jobling, M., Blackwell Sciences Ltd. Oxfor UK. 978-0632055760
- Piccolo, G.; Iaconisi, V.; Marono, S.; Gasco, L.; Loponte, R.; Nizza, S.; Bovera F.; Parisi, G.(2017) *Effect of Tenebrio molitor larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (Sparus aurata)*. Anim Feed Sci Technol. 2017, 226, 12-20.

Prieto, C. (2016). *Hábitos de la alimentación de la lubina*.

http://www.cotodepezca.com/habitos-la-alimentacion-la-lubina/?cli_action=1586358186.304 (12/04/20)

Ramos-Elorduy, J.; Pino, J.M.; Cuevas, S. (1998) Insectos comestibles del estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Anales Inst. Biol. Univ. Autón. México, Ser. Zool.*, 69(1): 65-104

Ramos-Elourdy, J., Pino M., J. M., Cuevas Correa, S., (1998). Insectos comestibles del estado de México y determinación de su valor nutritivo. Universidad Autónoma de México. [ONLINE]: <http://www.ejournal.unam.mx/zoo/069-01/ZOO69106.pdf> (12/04/20)

Ramos-Elorduy, J., Avila Gonzalez, E., Rocha Hernandez, A., Pino, J.M., (2002). *Use of Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens*. *J. Econ. Entomol.* 95, 214–220.

Ratliff, B. (2007) *Producers may put fish on insect diet* *Forestry, Wildlife & Fisheries*. News of Mississippi State University. [ONLINE]: (12/04/20)
<http://msucare.com/news/print/fwnews/fw07/071129.html>

Reglamento de acuerdo a la alimentación de los insectos como base de la alimentación humana. (2015) ONLINE: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1449760581954&uri=OJ:JOL_2015_327_R_0001

Revista Europa azul (2018). *Una granja marina producirá en Almería 3000 toneladas de lubina*. (11 de enero de 2018) <http://europa-azul.es/una-granja-marina-producira-almeria-3000-toneladas-lubina/> (12/04/20)

Robins, Richard, C., Reeve, M., Bailee, Carl, E., Bond, James, R., Brooker, Ernest, A., Lachner, et al. (1991). *World Fishes Important to North Americans Exclusive of Species from the Continental Waters of the United States and Canada*.
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=170317&print_version=PRT&source=to_print#null

Rojo, S., Pérez-Bañón, C., (2012). Insects for biodiesel production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 3744e3753

Sánchez-Muros, M.J., G. Barroso, F., Manzano-Agugliaro, F. (2014). *Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review*. Vol 25. Pages 16-27. Ed.

ELSEVIER

Sánchez-Muros, M. J.; Barroso, F. G.; Manzano-Agugliaro, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16-27.

Sánchez-Muros, M.J., García-Rejón, L. Lupiáñez, J.A. y De la Higuera, M. (1995). *Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): adaptive response to a high-protein/non carbohydrate diet and starvation of glucose 6-phosphate de hydrogenase activity*. *Aquaculture Nutrition* 1: 213-220

Sánchez-Muros, M. J., García-Rejón, L., García-Salguero, L., & Lupiáñez, J. A. (1998). Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and a high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 30(1), 55-63

Sealey, W.; Gaylord, T.; Barrows, F.; Tomberlin, J.; McGuire, M.; Ross, C.; St-Hilaire, S. (2011). *Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens**. *J. World Aquacult. Soc.* 2011, 42, 34–45.

Sheppard, C., Newton, G.L., Thompson, S.A., Savage, S., (1994). A value added manure management system using the black soldier flies. *Bioresour. Technol.* 50, 275–279.

Shimizu, C., Allahpichay, I., Tokoro, T., Shirakawa, Y., (1990). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8

Snyder GS, Gaylord TG, Barrows FT, Overturf K, Cain KD, Hill RA et al. (2012) *Effects of carnosine supplementation to an all-plant protein diet for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*. *Aquaculture*. 2012; 338:72-81

- Stafford, E.A., Tacon, A.G.J. (1990). *Aquaculture and Fisheries Management. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- 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*. Journal of Insects as Food and Feed, 2017, 3(3), 165-175
- Stansby, M.E. and A.S. Hall (1967). *Chemical composition of commercially important fish of the USA*. Fish Ind Res., 3, 29-34. <http://www.fao.org/3/v7180e/V7180E05.htm>
- 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 Aquacult. Soc. 2007, 38, 59–67, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x>
- Stickney, R.R. (ed.). (2000). *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley & Sons, Inc., Toronto, Canada. 1063 pp.
- Tacon, A.G y Cowey, CB., (1985). *Fish energetics en acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orways, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8
- Thrust M, Rhyne A, Szczebak JT, Bourque B, Bowen JL, Burr G, Marx CJ, Feinberg L. (2017). *A transdisciplinary approach to the initial validation of a single cell protein as an alternative protein source for use in aquafeeds*. PeerJ 5:e3170 <https://doi.org/10.7717/peerj.3170> (12/04/20)
- US Department of Agriculture, (2015). Agricultural Research Service, *Nutrient Data Laboratory*. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. Current Version: September 2015. Available from: <http://www.ars.usda.gov/nea/bhnrc/ndl>
- Velasquez, L. Ibáñez, I. Herrera, C., Oyarzun, M., (1991). *Anim. Prod. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona.

Wang, D., Zhai, S.W., Zhang, C.X., Zhang, Q., Chen, H. (2007) *Nutrition value of the Chinese grasshopper *Acrida cinerea* (Thunberg) for broilers*. *Animal Feed Science and Technology*, (1-2): 66-74.135

Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P., (2013). *Edible Insects – Future Prospects for Food and Feed Security*. FAO Forestry Paper 171

Veldkamp, T., van Duinkerken, G., van Huis, A., Lakemond, C.M.M., Ottevanger, E., Bosch, G., van Boekel, M.A.J.S., (2012). *Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study*. In: *Rapport 638 – Wageningen Livestock Research*, Available at: [http://www.wageningenur.nl/upload mm/2/8/0/f26765b9-98b2-49a7-ae43-5251c5b694f6_234247%5B1%5D](http://www.wageningenur.nl/upload_mm/2/8/0/f26765b9-98b2-49a7-ae43-5251c5b694f6_234247%5B1%5D)

Wilson, R.P (1996) *Utilization of dietary carbohydrate by fish*. In *Food intake in fish*. Ed Houlihan D., Boujart, T., Jobling, M., Blackwell Sciences Ltd. Oxford UK. 978-0632055760

Anexo I

Article

Nutritional and Growth Effect of Insect Meal Inclusion on Seabass (*Dicentrarchus labrax*) Feeds

María Reyes ¹, María Rodríguez ¹, Juan Montes ¹, Fernando G. Barroso ¹, Dmitri Fabrikov ¹, Elvira Morote ² and María José Sánchez-Muros ^{1,*}

¹ Dpt Biology and Geology, University of Almería, 04120 Almería, Spain; mariarr_864@hotmail.com (M.R.); mrr960@ual.es (M.R.); jml154@ual.es (J.M.); fbarroso@ual.es (F.G.B.); dimitri.fabrikov@gmail.com (D.F.)

² Fisheries Producers Organization of Almería (OPP-71), 04001 Almería, Spain; elvira_morote@yahoo.es

* Correspondence: mjmmuros@ual.es

Received: 30 April 2020; Accepted: 29 May 2020; Published: 1 June 2020

Abstract: Abajo: se repite los tres en el resumen. This work studies the effect of high-level fish meal replacement with insect meal: YW meal (obtained from *Tenebrio* larvae fed a broiler diet), BSF meal (from *hermetia* larvae fed broilers diet), BSFm meal (obtained from *hermetia* larvae fed discard fish) on growth performance nutritive indices and in vitro digestibility of *Dicentrarchus labrax* juvenile. Three different insect meals were used: BSF meal from *hermetia* larvae fed broilers diet; BSF improve (BSFm) obtained from *hermetia* larvae fed discarded fish; YW meal obtained from the larvae of *Tenebrio* fed a broiler diet. Five diets were used, a control (C) diet and four experimental diets by replacing fishmeal with insect meal from BSF at 30% and 50% (BSF30 and BSF50) substitutions, BSFm at 50% substitution (BSF50 m) and YM at 50% substitution (YW50). Nutritional and growth indices worsened by including insect meal, especially for *hermetia* meal at 50% substitution, BSF50 and BSF50 m. The internal organs' weight reflected the growth of the fish fed each experimental diet. No differences were found in fillet composition. Nevertheless, under our experimental condition, YW replacement obtained better results than both BSF diets.

Keywords: sea bass; fishmeal; *Tenebrio molitor*; *Hermetia illucens*

1. Introduction

Nowadays the utilization of insect meal as an alternative protein source of fish meal arouses much interest. Insects are a good protein source with a high percentage of protein, similarly to the fish meal in *Boopedon flaviventris* (76.0%), *Melanoplus mexicanus* (77.1%) and *Sphenarium histrio* (74.8%) [1]. The amino acids (AA) profile depends on the taxon, and Diptera is the most similar one to fish meal in terms of essential and limiting AA [2]. From an environmental viewpoint, insect cultures are sustainable because there is no need to use large areas or much water, they contribute to waste recycling, and their culture gives quite low carbon footprint scores [3].

Several insects have been tested as aquafeed for some fish species [4–6], where both *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly, BSF) and *Tenebrio molitor* (Yellow mealworm, YW) were the most promising insects given their ability to convert organic waste into protein, fat and energy [7] by incorporating the AA and fatty acids (FA) of manure and organic waste into their biomass. The obtained biomass is high in protein and fat [5,8].

The meal deriving from YM larvae has a high crude protein content within the 44%–69% range, fat content is 23%–47%, plus 6.6% fiber and 2.4% ash [9,10].

The BSF meal contains 35%–57% crude protein, 32.6% crude fat, 6.7% crude fiber and 8.6% ash content [9,10]. Nevertheless, the amount and quality of fat depend on diet type [5,11].

Currently, some companies rear these two insect species in mass and make meals available for animal feeding. However, prices are still uncompetitive as marketing is not yet operational.

Dicentrarchus labrax is a fish species that consumers greatly appreciate. European Union *D. labrax* production was 69.031 Tm, which is the fifth most produced species, and the fourth according to commercial demand [12]. The effect on *D. labrax* growth of including YW has been studied by [13], who concluded that YW meal can be used up to 25% inclusion. For BSF, Magalhães et al. [14] found that up to 19.5% BSF, corresponding to 22.5% total dietary protein, can replace FM in diets for juvenile *D. labrax* with no adverse effects on nutritional and growth indices. Nevertheless, high inclusion percentages can worsen growth performance and feed utilization because insect meal entails some nutritional inconveniences that condition it being included in aquafeeds, of which digestibility is the main one. The insect exoskeleton is composed of chitin and scleroprotein. Chitin is a polymer of N-acetyl-glucosamine with β -(1/4) linkages, a nondigestible crude fiber [15] for fish and interferes with protein use [16]. However, chitinolytic activities have been described in fish, and marked chitinase activities have been identified in the stomach of several fish species. Marked N-acetylhexosaminidase activity is distributed to the intestine and/or pyloric caeca [17]. An in vitro protein hydrolysis [18], like in vivo [19] digestibility, reduces with insect inclusion. Scleroprotein digestibility is low, and keratin is a scleroprotein with very stable S–S and S–H linkages that are not readily broken down by animals without processing [20].

Other factors that could limit insect meal inclusion percentages are fat levels, which are higher for insects than for fish, and the FA profile of insects. While fishmeal is rich in n-3 long-chain polyunsaturated FA (n-3 LCPUFAs), insects contain larger quantities of n-6 polyunsaturated FA (n-6 PUFAs) [21]. However, the FA profile of insects could be manipulated through feeding [22]. Barroso et al. [11,23] were able to increase n-3 LCPUFAS content in BSF larvae fed fish meal or fish offal.

This work studies the effect of high-level fish meal replacement with YM, BSF or fish fed BSF rich in long-chain FA n-3 on growth performance nutritive indices and in vitro digestibility.

2. Results

2.1. Nutritional and Growth Indices of Fish

Table 1 shows the obtained nutritional and growth indices results. The determined growth indices were SGR, DGC, weight gain and K. The lowest weight gain went to the fish fed BSF50 (60% less than the control diet) and BSF50m (48% less than the control diet). SGR and DGR showed the same trend; the highest values corresponded to the control diet (1.88 for SGR and 1.61 for DGC, respectively), followed by YW50, which was slightly higher, but not statically different, than BSF30. The lowest values corresponded to BSF50 (0.95 for SGR and 0.76 for DGC), which was slightly lower than BSF50m (1.16 for SGR and 0.94 for DGC). The K factor displayed the same trend, but no statistical differences were observed between YW50 and the control diet in this case.

Table 1. Fish performance indices ($n = 3$ mean \pm SD) of *D. labrax* fed the five experimental diets.

Diets	SGR	FCE	FI %	DGC	FCR	K	PER	WG (g)
C	1.88 \pm 0.02 ^a	0.56 \pm 0.01 ^b	3.12 \pm 0.07 ^a	1.61 \pm 0.04 ^a	1.77 \pm 0.02 ^c	162.26 \pm 2.85 ^a	1.25 \pm 0.02 ^b	16.10 \pm 0.74 ^a
YW50	1.64 \pm 0.02 ^b	0.56 \pm 0.01 ^b	2.76 \pm 0.08 ^b	1.38 \pm 0.02 ^b	1.78 \pm 0.03 ^c	153.00 \pm 4.03 ^{ab}	1.25 \pm 0.02 ^b	13.15 \pm 0.48 ^b
BSF30	1.52 \pm 0.05 ^b	0.49 \pm 0.04 ^b	2.94 \pm 0.15 ^{ab}	1.26 \pm 0.07 ^b	2.03 \pm 0.17 ^c	146.48 \pm 8.74 ^{bc}	1.10 \pm 0.09 ^b	11.78 \pm 1.19 ^b
BSF50	0.95 \pm 0.15 ^c	0.31 \pm 0.04 ^c	3.06 \pm 0.05 ^a	0.76 \pm 0.12 ^c	3.31 \pm 0.42 ^a	126.26 \pm 3.41 ^d	0.68 \pm 0.09 ^c	6.36 \pm 1.15 ^c
BSF50 m	1.16 \pm 0.13 ^c	0.38 \pm 0.02 ^c	2.99 \pm 0.16 ^{ab}	0.94 \pm 0.13 ^c	2.67 \pm 0.14 ^b	134.94 \pm 7.58 ^{cd}	0.84 \pm 0.05 ^c	8.32 \pm 1.51 ^c

C: Control; YW50: Yellow mealworm 50% replacement; BSF30: Black Soldier Fly 30% replacement; BSF50: Black Soldier Fly 50% replacement; BSF50m: Enriched Black Soldier Fly 50% replacement; SGR: Specific growth ratio; FCE: Feed Conversion Efficiency; FI: Feed Intake; DGC: Daily Growth Coefficient; FCR: Feed Conversion Ratio; K: Condition Factor; PER: Protein Efficiency Ratio; WG: Weight Gain. Different letters in columns represent significant differences ($p < 0.05$) among treatments.

The nutritional indices showed statistical feed intake differences only between YW50, with lower feed intake (2.76%), and the control (3.12%). For FCR, a high BSF inclusion level (BSF50 and BSF50m) made FCR worse, which was especially low for BSF50. No statistical differences were found in FCR among the other treatments.

For protein utilization, no differences appeared among the control, YW50 and BSF30 diets. The worse PER values corresponded to the diet with BSF inclusion, with BSF50 being the lowest with 0.68, followed by BSF50m with 0.84, whereas the value for the control diet and YW50 was 1.25.

2.2. Proximal Composition and Morphology of Fish

Table 2 provides the data corresponding to the proximal composition of muscle. No significant differences were observed in any fillet component for crude protein, crude fat or ash. The crude protein percentage ranged from 72.4% in the fish fed BSF50m to 67.9% in those fed the control diet. The ash percentage was similar for all treatments (around 11%) with no statistical differences. The ether extract percentages ranged from 16.1% for the fish fed BSF50 to 21.3% for those fed the control diet, although differences were not significant.

Table 2. Proximal composition of fillet of *D. labrax* fed different experimental diets ($n = 6$).

	C	YW50	BSF30	BSF50	BSF50m
Dry matter (%)	98.3 ± 0.29	97.6 ± 1.25	96.7 ± 1.80	97.2 ± 1.21	97.5 ± 0.81
Ash (%)	11.4 ± 0.08	11.0 ± 0.76	12.3 ± 0.83	11.6 ± 0.82	11.3 ± 1.11
Organic matter (%)	88.6 ± 0.13	89.0 ± 0.76	87.7 ± 0.83	88.4 ± 0.82	88.7 ± 1.11
Crude fat (%)	21.3 ± 0.69	17.6 ± 3.21	20.4 ± 3.79	16.1 ± 1.53	17.3 ± 0.66
Crude protein (Nx6.25; %)	68.0 ± 4.01	71.7 ± 4.93	69.3 ± 3.71	69.6 ± 4.23	72.5 ± 0.36

C: Control; YW50: Yellow mealworm 50% replacement; BSF30: Black Soldier Fly 30% replacement; BSF50: Black Soldier Fly 50% replacement; BSF50m: Enriched Black Soldier Fly 50% replacement. Means (± SD) from six individual measurements. Different letters in columns represent significant differences ($p < 0.05$) among treatments.

Table 3 provides the fillet, digestive, liver and perivisceral fat weights. The control fish fillet weight was much higher than for other treatments, but no statistical differences were found for other treatments and digestive weights. Nevertheless, the experimental diets affected liver and perivisceral fat weight. Liver weight lowered with the high BSF inclusion level (diets BSF50 and BSF50m). Regarding perivisceral fat, the fish fed the control diet had the heaviest visceral fat weight, followed by YW50. The lightest perivisceral fat weight went to the fish fed diets BSF50 and BSF50m, while those fed BSF30 obtained intermediate values.

Table 3. Internal organs' weight (g) of *Dicentrarchus labrax* fed different experimental diets ($n = 6$)

Diets	Fillet	Digestive	Liver	Visceral Fat
C	25.16 ± 0.79 ^a	0.98 ± 0.06	0.55 ± 0.03 ^a	1.97 ± 0.39 ^a
YW50	19.66 ± 2.37 ^b	0.83 ± 0.12	0.38 ± 0.02 ^{a,b,c}	1.61 ± 0.28 ^{a,b}
BSF30	19.55 ± 2.55 ^b	0.90 ± 0.15	0.45 ± 0.11 ^{a,b}	1.20 ± 0.14 ^{b,c}
BSF50	17.72 ± 2.16 ^b	0.90 ± 0.09	0.31 ± 0.10 ^{b,c}	0.75 ± 0.32 ^c
BSF50m	15.25 ± 2.38 ^b	0.78 ± 0.05	0.30 ± 0.06 ^c	0.69 ± 0.13 ^c

C: Control; YW50: Yellow mealworm 50% replacement; BSF30: Black Soldier Fly 30% replacement; BSF50: Black Soldier Fly 50% replacement; BSF50m: Enriched Black Soldier Fly 50% replacement means (± SD) from nine individuals. Different letters in columns represent significant differences ($p < 0.05$) among treatments.

2.3. In Vitro Hydrolysis

The in vitro protein hydrolysis (Table 4) obtained the maximum hydrolysis for the control lots, with no statistical differences for BSF50m and YW50. The minimum hydrolysis was found for the BSF50 lot, while BSF30 showed intermediate hydrolysis capacity.

Table 4. Protein hydrolysis (mg/mL of free amino acids) of intestines of the fish fed different treatments ($n = 3$).

Treatments	End Point (120')
Control	159.2 ± 2.9 ^a
YW50	155.5 ± 1.4 ^{ab}
BSF30	122.8 ± 7.8 ^{bc}
BSF50	114.3 ± 14.5 ^c
BSF50M	150.2 ± 10.6 ^{ab}

C: Control; YW50: Yellow mealworm 50% replacement; BSF30: Black Soldier Fly 30% replacement; BSF50: Black Soldier Fly 50% replacement; BSF50m: Enriched Black Soldier Fly 50% replacement. Free amino acids ± standard deviation (mg/mL) corresponding to the hydrolysis of each enzyme extract with its corresponding diet. means (±SD) from nine individuals. Different letters in columns represent significant differences ($p < 0.05$) among treatments

3. Discussion

The idea of employing insects in fish feeding is widely accepted, but it is necessary to acquire further knowledge about the nutritional properties of the source for their real use in aquafeed.

The growth indices (Table 1) indicated better growth for the control fish, followed by BSF30 and YW50. For the BSF diets, lower weight values were obtained at high replacement levels (50%), which resulted in a slight improvement when BFsM were used, but not statistically different to BSF50. A similar trend was observed for the other treatment growth indices. This result contrasts with those reported by Magalhães et al. [14] in *D. labrax* also fed BSF at 45% fish meal replacement, although Magalhães et al. [14] employed defatted insect meal. The defatting of insect meal increased the crude protein percentage, which for crude protein was 55.8% vs. 43.27% on average, following the values described by Makkar et al. [5]. Compared to fish meal, insect meal is deficient in lysine and tryptophan, and is limited in threonine and sulfur AA [4,5]. At our high BSF replacement level, indispensable AA levels could be limiting, but the increased crude protein percentage of defatted meal entailed a bigger AA supply, which could avoid AA deficiency. Similar results have been obtained in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) or turbot (*Psetta maxima* L.), with decreasing growth performance and diet digestibility when BSF was used [24,25].

The defatting of insect meal is because its FA profile differs considerably from fishmeal. Nevertheless, the FA profile can be changed by feeding insect larvae [11,23]. The BSF50m insect meal was made by feeding BSF discarded fish to obtain a BSF meal rich in n-3 LCPUFAs. Nevertheless, the growth indices seemed better than for BSF50 and, albeit not statistically different, were clearly worse than those obtained for BSF30 and YW50 or the control. These results revealed that improving the FA of insect meal might prove insufficient. For the *D. labrax* juveniles, the minimum dietary n-3 LCPUFAs requirement for adequate growth has been set at 0.7% on a dry matter (DM) basis [26], and lower values worsen fish growth performance, without negatively affecting feed efficiency or PER. Nevertheless, the amount of n-3 LCPUFAs exceeded 0.7% in all our experimental diets, so reduced growth would not have been caused by this.

The YW meal replacement seemed more suitable for sea bass, with similar growth indices to BSF30, better than BSF50, but were lower than the control. A similar result was obtained by Gasco et al. [13] in sea bass, who reported lower dry matter digestibility and feeding rates compared to the control diet with a consequent 27% reduction in weight gain at a high YW inclusion level (50%), compared to the 19% reduction in weight gain herein obtained. Piccolo et al. [19] reported similar growth parameters when feeding sea bream (*Sparus aurata*) a diet with 50% YW meal replacement

compared to the fish fed a control diet. The growth indices improved when fish were fed a diet with 25% replacement.

The nutritive indices revealed a similar trend to the growth indices. FI was similar among treatments, except for YW50, while FCR and PER were worse for both treatments with a higher BSF replacement level (BSF50 and BSF50m), which explained the result obtained for both growth indices and weight gain. These results partially agree with those reported for *D. labrax* by Magalhães et al. [14], who observed worse PER with increased BSF inclusion, but no changes in FCR. Similar results have been found for *P. maxima* [25] or *O. mykiss* [27]. The opposite results have been reported for *S. aurata* [28], *Salmo salar* [29] and *O. mykiss* [30], with no differences in nutritional indices among diets.

Many fish factors may lie behind these differences, such as age or species, or might be related to diet formulation or quality of ingredients. Indeed, insect meal quality is not standardized. Insect larvae feeding or the insect meal production process might affect the composition and, consequently, the nutritive value of meals [31,32]. Heat may cause certain proteins to interact with other proteins, oxidizing agents, sugars, polyphenols or tannins [33], and the drying method is able to affect the solubility of proteins [34]. In fact, our laboratory has obtained different results in sea bream fed similar diets made with distinct BSF lots (results not published). In *S. salar*, two BSF types have been tested, but only one allowed total FM replacement of diets without affecting fish performance [29].

The 50% YW replacement gave better nutritional indices than the 50% BSF replacement. FCR and PER were similar to the control, but these indices slightly worsened, which agrees with the results of Gasco et al. [13] in sea bass. The lower feed intake of the YW50 fish could justify the lower weight gain regarding the control fish, according to the results obtained for the *D. labrax* fed the diet with 50% YW meal replacement [13]. Based on our previous experience, YW might not be very palatable food because of some of its negative organoleptic characteristics.

Regarding fillets, the heaviest weight, higher liver weight and perivisceral fat corresponded to the control fish, which reflects the different growth rates and nutritional indices obtained among treatments. Finally, muscle composition remained unaltered after insect inclusion, which falls in line with previous reports about *D. labrax* fed YW [13] or *S. aurata* fed BSF [28].

In general, previous results have reflected that insect meal makes growth and nutritional indices worse by indicating lower feed efficiency, protein efficiency and growth. Decreased insect meal digestibility has been discussed because chitin is not degraded in the intestine [35] and can affect protein digestibility [36,37]. Marono et al. [38] found that the crude protein digestibility of BSF and YW correlates negatively with acid detergent fiber and chitin contents. BSF showed a positive correlation between crude protein and CP protein for in vitro digestibility. In this experiment, we determined the protein hydrolysis of each diet in vitro with the digestive enzymes of the fish fed each experimental diet. The results revealed lower protein hydrolysis for the diet that included BSF not enriched in long-chain n-3. Belghit et al. [39] did not find any differences in trypsin activities for insects or oil with insect inclusion, but reported apparent decreased protein digestibility in the *S. salar* fed BSF meal. The obtained data are consistent with those for *S. salar* as regards diets BSF30 and BSF50. Nevertheless, it is difficult to explain the high hydrolysis levels obtained herein for BSF50m. In the *S. salar* fed a diet with 85% insect meal and insect oil replacement, obtained from insect feed with seaweed to improve long-chain n-3 FA, no changes in trypsin activity were observed [39], while our results indicated increases in diets BSF30 and BSF50.

The YW meal did not seem to induce any changes in in vitro digestibility, which agrees with that observed in Tilapia fed a diet of 50% fish meal replacement with YW meal, and no differences in the in vitro protein hydrolysis were observed compared to the control, although alkaline protease increased [18]. In trout [40] and sea bream [19], apparent protein digestibility was significantly lower for the 50% YW inclusion.

Briefly, the inclusion of high insect meal levels made the nutritional and growth indices worse. Nevertheless, under our experimental conditions, YW replacement gave better results than both BSF diets. Although expectations for insects being used as a sustainable alternative to fishmeal are high, many unknown factors need to be clarified. It is hard to understand how several researchers have tested the same insects and fish species, but obtained different results. Therefore, more in-depth

studies about the effect on fish growth and physiology are needed, as is more information on the effect of larvae rearing, feeding and meal processing on the nutritive value of insect meal.

4. Materials and Methods

4.1. Diet Ingredients and Formulation

Three different insect meals were used for diet formulations: BSF meal from the hermetia larvae fed a broiler diet; BSFm obtained from the hermetia larvae fed discarded fish to improve the n-3 LCPUFAs profile of insect meal, as described by Barroso et al. [11] and YM meal obtained from the larvae of *Tenebrio* fed a broiler diet. Five diets were formulated, one control and four experimental, by replacing fishmeal with insect meal: BSF30 with BSF meal at 30% substitutions, BSF50 with BSF meal at 50% substitution; BSFm50 with BSF enriches in n-3 LCPUFAS at 50% substitution and YM50 (50% substitution; YW50; Tables 5 and 6). Insects were provided by Mealfood S.L. (Salamanca, Spain) and Entomotech S.L. (Almería, Spain). Diets were manufactured by the Experimental Diet Service of the University of Almería (Almería, Spain) and were extruded in 2-mm pellets.

Table 5. Ingredients, proximate composition and gross energy on a dry matter basis (DM) of the experimental diets.

	C	YW50	BSF30	BSF50	BSF50m
Ingredients (% DM)					
Fish meal	35.9	18.0	25.3	18.0	18.0
BSF	0.0	0.0	10.9	18.0	0.0
BSFm	0.0	0.0	0.0	0.0	18.0
YW	0.0	18.0	0.0	0.0	0.0
Wheat gluten	10.5	11.9	13.0	15.4	15.0
Soy cake	15.5	17.0	17.5	18.3	18.3
Fish oil	12.2	9.0	10.4	9.5	9.7
Soy lecithin	1.3	0.5	1.0	0.5	0.5
Wheat flour	16.6	17.6	13.9	12.4	12.6
Vitamins and minerals	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Guar gum	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Hemoglobin powder	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Gross energy (MJ/kg)	16.8	17.0	16.7	16.5	16.6
Proximate composition (% DM)					
Crude protein	43.86	43.1	43.51	42.8	42.85
Crude fat	17.16	17.97	17.6	17.12	7.6
Ash	7.42	6.28	6.45	6.94	6.11

C: Control; YW50: Yellow mealworm 50% replacement; BSF30: Black Soldier Fly 30% replacement; BSF50: Black Soldier Fly 50% replacement; BSF50m: Enriched Black Soldier Fly 50% replacement.

Table 6. Fatty acids profile from yellow mealworm meal, Black Soldier Fly and Black Soldier Fly enriched with n-3 LCPUFAS (g/100 g total fatty acids).

	YW	BSF	BSFm
10:0	n.d.	1.10	1.11
12:0	0.67	48.5	46.1
14:0	3.67	9.22	9.55
16:0	16.2	13.0	14.7
16:1n7	1.70	1.79	3.13
18:0	2.95	2.17	2.17
18:1n9	36.7	9.58	8.50
18:1n7	n.d.	n.d.	0.67
18:2n6	35.4	11.0	7.58
18:3n3	1.41	1.10	1.06
18:4n3	n.d.	0.99	0.70
20:5n3 (EPA)	n.d.	n.d.	2.87
22:6n3 (DHA)	n.d.	n.d.	1.00

YM: *Tenebrio molitor*; BSF: *Hermetia illucens*; BSFm: Enriched *Hermetia illucens* (fed discarded fish).

4.2. The *D. Labrax* Feeding Trial

D. labrax juveniles were provided by Predomar (Carboneras, Spain). The experiment was carried out at the Aquaculture Research Centre of the University of Almería (Spain). All the procedures were performed following Council Directive 86/609/EEC Guidelines (European Communities, 1986) on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *D. labrax* juveniles were weighed (10.7 g average weight), measured (10.6 cm average length) and placed inside 15 tanks (3 tanks/diet, 20 fish/tank) with a volume of 250 L at a replacement rate of 10.4 L/h. Fish were maintained at 20 °C under a natural photoperiod (12L:12D), and were fed ad libitum twice daily (09:30 h and 13:30 h) until their weight had tripled on day 49. Feed was weighed before and after feeding fish. After 15 min, uneaten pellets were removed by aspiration, dried and weighed to calculate the daily feed intake.

4.3. Fish Performance Indices

SGR (Specific Growth Ratio: $\text{g} \cdot \text{day}^{-1}$) = $[(\text{LN } W_f - \text{LN } W_i)/t] \times 100$, where W_f = final weight, W_i = initial weight and “t” time in experiment days.

FCE (Feed Conversion Efficiency: g) = wet weight gain/dry feed intake.

FI (Feed intake %) = (Daily feed intake/average body weight*) \times 100. *Average between the final and initial weights.

DGC (Daily Growth Coefficient: $\text{g} \cdot \text{day}^{-1}$) = $[(W_f^{1/3} - W_i^{1/3})/t] \times 100$.

FCR (Feed Conversion Ratio) = total feed intake/weight increase.

Condition Factor (K:g/cm) = $100 \times \text{body weight}/\text{total length}^3$.

PER (Protein Efficiency Ratio g) = wet weight gain/crude protein intake.

WI (Weight Increase: g) = $W_f - W_i$.

4.4. Sampling

Before sampling, fish were fasted for 24 h. All the fish in each tank were lightly anesthetized with clove oil to be weighed and measured. Three fish per tank (9 fish per diet) were slaughtered by an overdose of anesthesia (clove oil 100 mg/L solution) and were immediately eviscerated. Muscle, digestive (stomach and intestine), liver and fat were weighed. Intestines and muscles were frozen separately at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for further analyses.

4.5. Analytical Methods

4.5.1. Chemical Composition of Diets and Fish

All the proximal composition analyses were performed according to the Association of Official Analytical Chemists [41]. Dry matter (DM) and ash were determined gravimetrically after drying at $105 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ and combustion at $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ in a muffle furnace, respectively. Crude protein content (Nx6,25) and total fat content were determined by the Kjeldahl method and diethyl ether extraction (Soxhlet technique), respectively. All the analyses were performed in triplicate.

4.5.2. Enzymatic Extract.

Five pools (1 per diet) were made with fish intestines (10 per pool) at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tissues were ground and homogenized by ultrasound in distilled water at a ratio of 0.5 g/L. Samples were centrifuged (12,000 rpm, 20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) and supernatants were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ to be used in the alkaline protease and enzymatic hydrolysis analyses.

4.5.3. Alkaline Protease Activity

The enzyme extract supernatant was utilized to determine alkaline protease with Tris/HCl pH 9 buffer solution and casein as a substrate according to Vizcaíno et al. [42]. After a 30-min incubation at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, the reaction was stopped with 20% trichloroacetic acid solution. Samples were centrifuged (12,000 rpm, 15 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). The absorbance of the supernatant was measured at 280 nm by spectrophotometry in a Power Wavex microplate scanning spectrophotometer (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA). All these analyses were performed in duplicate. One unit of protease activity was defined as 1 μg of tyrosine released per minute.

4.5.4. In Vitro Protein Hydrolysis

In vitro hydrolysis was carried out in jacketed glasses connected to a constant water flow at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ with continuous stirring for 120 min. Six hydrolyses were done with each enzyme extract and its corresponding diet. Fishmeal was used as a control. According to Vizcaíno et al. [42], the enzyme extract and substrate (diet) were added to Tris/HCl pH 9 buffer solution to obtain 200 U and 80 mg of protein, respectively. Samples (0.1 mL for soluble protein, 0.05 mL for free AA) were taken at reaction times 0, 15, 30, 60, 90 and 120 min. The soluble protein samples were heated for 5 min in boiling water to stop the enzymatic reaction. To stop the reaction of the free AA samples, 0.05 mL of 6% trichloroacetic acid solution was used. All these analyses were performed in duplicate. The hydrolysis samples were centrifuged (12,000 rpm, 20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) and supernatants were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.5.5. Soluble Protein

A commercial kit (Pierce BCA™ Protein Assay Kit, Thermo Scientific™, Rockford, IL, USA) was used to calculate soluble protein. Samples were incubated with the reagent for 30 min at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ and measured at 561 nm by a spectrophotometer. The absorbance results were extrapolated using albumin as a standard. The results were expressed as mg of soluble protein/mL of enzymatic extract. All these analyses were performed in duplicate.

4.5.6. Free Amino Acids (OPA)

In order to know the protein degradation of diets, the free AA concentration after protein hydrolysis was measured according to Church et al. [43]. The sample was incubated at room temperature for 2 min with the reagent before measuring absorbance at 340 nm. The obtained data were extrapolated with a standard line made by taking L-leucine as a standard. The results were expressed as mg of free AA/mL of enzymatic extract. All these analyses were performed in duplicate.

4.6. Statistical Analysis

The experimental results were expressed as means \pm SD for three different determinations. The Kruskal–Wallis test and comparisons among pairs using Tukey–Kramer HSD tests (JMP 9.0.0 for Macintosh) were performed to compare the results of the fish growth performance indices, proximal composition, organ weights and the in vitro protein hydrolysis.

Author Contributions: Conceptualization, F.G.B. and M.J.S.-M.; methodology, M.R., J.M., D.F. and M.R.; software, F.G.B. and D.F.; validation, D.F., F.G.B. and M.J.S.-M.; formal analysis, M.R., J.M., E.M., D.F. and M.R.; investigation F.G.B. and M.J.S.-M.; resources, F.G.B. and M.J.S.-M.; data curation, F.G.B., D.F., M.R., J.M. and M.R.; writing, M.J.S.-M.; writing—review and editing, D.F. F.G.B. and M.J.S.-M. visualization, D.F. F.G.B. and M.J.S.-M.; supervision, F.G.B. and M.J.S.-M.; project administration, E.M., F.G.B., and M.J.S.-M.; funding acquisition, M.J.S.-M. and E.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Fishers Producers Organisation of Almería (OPP-71), Spain.

Acknowledgments: This study was supported by the on the Campus de Excelencia Internacional del Mar (CEImar). The authors also thank Predomar S.L., Carboneras, Spain for providing fish, and Ms Carmen Fernadez-Mañas for her technical assistance in the laboratory.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Ramos-Elorduy, J.; Pino, J.M.; Correa, S.C.; Insectos comestibles del Estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Ann. Inst. Biol. Ser. Zool.* **1998**, *69*, 65–104.
- Barroso, F.G.; de Haro, C.; Sánchez-Muros, M.-J.; Venegas, E.; Martínez-Sánchez, A.; Pérez-Bañón, C. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* **2014**, *422*, 193–201, doi:10.1016/j.aquaculture.2013.12.024.
- Blonk, H.; Kool, A.; Luske, B. *Milieueffecten van Nederlandse Consumptie van Eiwitrijke Producten* (Environmental Effects of Dutch Consumption of Proteinrich Products); BMA/VRM: Gouda, The Netherlands, 2008.
- Sánchez-Muros, M.-J.; Barroso, F.G.; Manzano-Agugliaro, F. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. *J. Clean. Prod.* **2014**, *65*, 16–27, doi:10.1016/j.jclepro.2013.11.068.
- Makkar, H.P.; Tran, G.; Heuzé, V.; Ankers, P. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2014**, *197*, 1–33, doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008.
- Nogales-Mérida, S.; Gobbi, P.; Józefiak, D.; Mazurkiewicz, J.; Dudek, K.; Rawski, M.; Kierończyk, B.; Józefiak, A. Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.* **2018**, *11*, 1080–1103, doi:10.1111/raq.12281.
- Zheng, L.; Hou, Y.; Li, W.; Yang, S.; Li, Q.; Yu, Z. Exploring the potential of grease from yellow mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) as a novel biodiesel feedstock. *Appl. Energy* **2013**, *101*, 618–621, doi:10.1016/j.apenergy.2012.06.067.
- Henry, M.; Gasco, L.; Piccolo, G.; Fountoulaki, E. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2015**, *203*, 1–22, doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001.
- Veldkamp, T.; van Duinkerken, G.; van Huis, A.; Iakemond, C.M.M.; Ottevanger, E.; Bosch, G.; van Boekel, M.A.J.S. *Insects as a Sustainable FeedIngredient in Pig and Poultry Diets A Feasibility Study*; Report 638; Wageningen UR Livestock Research; Wageningen, The Netherlands, 2012.
- Williams, J.; Williams, J.; Kirabo, A.; Chester, D.; Peterson, M. Nutrient Content and Health Benefits of Insects. In *Insects as Sustainable Food Ingredients*; Elsevier BV: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 61–84.

11. Barroso, F.G.; Sánchez-Muros, M.J.; Rincón, M. Ángel; Rodríguez-Rodríguez, M.; Fabrikov, D.; Morote, E.; Guil-Guerrero, J.L. Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. *J. Food Compos. Anal.* **2019**, *82*, 103237, doi:10.1016/j.jfca.2019.103237.
12. Secretaria de Nacional de Pesca Mercado de la lubina en España. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Available online: https://www.mapa.gob.es/es/pesca/temas/mercados-economia-pesquera/informe%20lubina%20nov%202014_tcm30-288722.pdf (accessed on 23 March 2020).
13. Gasco, L.; Henry, M.; Piccolo, G.; Marono, S.; Gai, F.; Renna, M.; Lussiana, C.; Antonopoulou, E.; Mola, P.; Chatzifotis, S. 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.* **2016**, *220*, 34–45, doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.07.003.
14. Magalhães, R.; Sánchez-López, A.; Leal, R.S.; Llorens, S.M.; Oliva-Teles, A.; Peres, H. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **2017**, *476*, 79–85, doi:10.1016/j.aquaculture.2017.04.021.
15. Lindsay, G.J.; Walton, M.; Adron, J.; Fletcher, T.C.; Cho, C.; Cowey, C. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture* **1984**, *37*, 315–334, doi:10.1016/0044-8486(84)90297-7.
16. Longvah, T.; Mangthya, K.; Ramulu, P. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food Chem.* **2011**, *128*, 400–403, doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.041.
17. Matsumiya, M.; Mochizuki, A. Distribution of chitinase and -N-acetylhexosaminidase in the organs of several fishes. *Fish. Sci.* **1996**, *62*, 150–151.
18. Sánchez-Muros, M.; de Haro, C.; Sanz, A.; Trenzado, C.; Villareces, S.; Barroso, F.G. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquac. Nutr.* **2015**, *22*, 943–955, doi:10.1111/anu.12313.
19. Piccolo, G.; Iaconisi, V.; Marono, S.; Gasco, L.; Loponte, R.; Nizza, S.; Bovera, F.; Parisi, G. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2017**, *226*, 12–20, doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007.
20. Papadopoulos, M.C.; el Boushy, A.; Roodbeen, A.; Ketelaars, E. Effects of processing time and moisture content on amino acid composition and nitrogen characteristics of feather meal. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **1986**, *14*, 279–290, doi:10.1016/0377-8401(86)90100-8.
21. Ramos-Elorduy, J. Energy Supplied by Edible Insects from Mexico and their Nutritional and Ecological Importance. *Ecol. Food Nutr.* **2008**, *47*, 280–297, doi:10.1080/03670240701805074.
22. Kouba, M.; Mourot, J. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* **2011**, *93*, 13–17, doi:10.1016/j.biochi.2010.02.027.
23. Barroso, F.G.; Sánchez-Muros, M.-J.; Segura, M.; Morote, E.; Torres, A.; Ramos, R.; Guil, J.-L. Insects as food: Enrichment of larvae of *Hermetia illucens* with omega 3 fatty acids by means of dietary modifications. *J. Food Compos. Anal.* **2017**, *62*, 8–13, doi:10.1016/j.jfca.2017.04.008.
24. St-Hilaire, S.; Sheppard, C.; Tomberlin, J.K.; Irving, S.; Newton, L.; A McGuire, M.; E Mosley, E.; Hardy, R.W.; Sealey, W. Fly Prepupae as a Feedstuff for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* **2007**, *38*, 59–67, doi:10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x.
25. Kroeckel, S.; Harjes, A.-G.; Roth, I.; Katz, H.; Wuertz, S.; Susenbeth, A.; Schulz, C. 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*). *Aquac.* **2012**, *364*, 345–352, doi:10.1016/j.aquaculture.2012.08.041.
26. Skalli, A.; Robin, J.H. Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: Growth and fatty acid composition. *Aquaculture* **2004**, *240*, 399–415, doi:10.1016/j.aquaculture.2004.06.036.
27. Stadtlander, T.; Stamer, A.; Buser, A.; Wohlfahrt, J.; Leiber, F.; Sandrock, C. *Hermetia illucens* meal as fish meal replacement for rainbow trout on farm. *J. Insects Food Feed.* **2017**, *3*, 165–175, doi:10.3920/jiff2016.0056.
28. Karapanagiotidis, I. T.; Daskalopoulou, E.; Vogiatzis, I.; Rumbos, C.; Mente, E.; Athanassiou, C. G. Substitution of fishmeal by fly *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Hydro. Medit.* **2014**, 110–114.

29. Lock, E.; Arsiwalla, T.; Waagbø, R. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac. Nutr.* **2015**, *22*, 1202–1213, doi:10.1111/anu.12343.
30. Sealey, W.M.; Gaylord, G.; Barrows, F.T.; Tomberlin, J.K.; McGuire, M.A.; Ross, C.; St-Hilaire, S. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *J. World Aquac. Soc.* **2011**, *42*, 34–45, doi:10.1111/j.1749-7345.2010.00441.x.
31. Newton, G.L.; Sheppard, D.C.; Watson, D.W.; Burtle, G.J.; Dove, C.R.; Tomberlin, J.K.; Thelen, E.E. *The Black Soldier fly, Hermetia Illucens as a Manure Management/Resource Recovery Tool*; Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management. January 5–7, 2005, San Antonio, Texas, USA.
32. Ekpo, K.E. Effect of processing on the protein quality of four popular insects consumed in Southern Nigeria. *Arch. Appl. Sci. Res.* **2011**, *3*, 307–326.
33. Finot, P.A. Influence of processing on the nutritional value of proteins. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1983**, *32*, 439–453, doi:10.1007/bf01091200.
34. Womeni, H.M.; Tiencheu, B.; Linder, M.; Martial, E.; Nabayo, C.; Tenyang, N.; Mbiapo, F.T.; Villeneuve, P.; Fanni, J.; Parmentier, M. Nutritional value and effect of cooking, drying and storage process on some functional properties of *Rhynchophorus phoenicis*. *Int. J. Life Sci. Pharma Res.* **2012**, *2*, 203–219.
35. Vidanarachchi, J.; Kurukulauriya, M.; Kim, S.-K. *Chitin, Chitosan, and Their Oligosaccharides and their 36 derivatives*. (ed. S.K. Kim. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA. 2010; pp. 543–560.
36. Schiavone, A.; de Marco, M.; Rotolo, L.; Belforti, M.; Martinez Mirò, S.; Madrid Sanchez, J.; Hernandez Ruyper, F.; Bianchi, C.; Sterpone, L.; Malfatto, V.; et al. Digestibility of *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* meal in broiler chickens. In Proceedings of the 1st International Conference Insects to Feed the World, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 14–17 May 2014.
37. Bovera, F.; Piccolo, G.; Gasco, L.; Marono, S.; Loponte, R.; Vassalotti, G.; Mastellone, V.; Lombardi, P.; Attia, Y.A.; Nizza, A. Yellow mealworms larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as protein source for broilers: Effects on growth performance and blood profiles. *Brit. Poultry Sci.* **2015**, *56*, 569–575.
38. Stefania Marono Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali University of Napoli Federico II Italy; Attia, Y.A.; Nizza, A. In Vitro Crude Protein Digestibility of *Tenebrio Molitor* and *Hermetia Illucens* Insect Meals and its Correlation with Chemical Composition Traits. *Ital. J. Anim. Sci.* **2015**, *14*, 3889, doi:10.4081/ijas.2015.3889.
39. Belghit, I.; Liland, N.S.; Waagbø, R.; Biancarosa, I.; Pelusio, N.; Li, Y.; Krogdahl, Åshild; Lock, E.J. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **2018**, *491*, 72–81, doi:10.1016/j.aquaculture.2018.03.016.
40. Belforti, M.; Gai, F.; Lussiana, C.; Renna, M.; Malfatto, V.; Rotolo, L.; De Marco, M.; Dabbou, S.; Schiavone, A.; Zoccarato, I.; et al. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* **2015**, *14*, 4170, doi:10.4081/ijas.2015.4170.
41. Ohia Athletic Conference (OAC). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 2000.
42. Vizcaíno, A.; Sáez, M.; Martínez, T.; Ación, F.; Alarcón, F.J. Differential hydrolysis of proteins of four microalgae by the digestive enzymes of gilthead sea bream and Senegalese sole. *Algal Res.* **2019**, *37*, 145–153, doi:10.1016/j.algal.2018.11.018.
43. Church, F.C.; Swaisgood, H.E.; Porter, D.H.; Catignani, G. Spectrophotometric assay using o-phthaldehyde for determination of proteolysis in milk proteins. *J. Dairy Sci.* **1983**, *66*, 1219–1227.



La idea de utilizar el insecto en la alimentación de peces ha sido ampliamente aceptada, sin embargo, es necesario aumentar el conocimiento de las propiedades nutricionales de la fuente para hacer un uso real en la alimentación acuícola, en este trabajo la especie acuícola es la Lubina (*Dicentrarchus labrax*)

En este experimento, verificamos cuatro bases dietéticas de harina de insectos, utilizando diferentes insectos (gusano de la harina amarilla (*Hermetia illucens*) y mosca del soldado negro (*Tenebrio molitor*)), diferentes porcentajes de inclusión (30 y 50%).

Este “TFG” se realiza dentro de un proyecto de investigación titulado “ESTUDIO DEL APROVECHAMIENTO DE LOS DESCARTES DE LA FLOTA DE ARRASTRE Y CERCO PARA SU USO EN AGROGANADERIA”.

