

## Travail de fin d'études

**Auteur :** Mbondo Biyong, Serge René

**Promoteur(s) :** 8791; 14981

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master de spécialisation en gestion des ressources aquatiques et aquaculture

**Année académique :** 2020-2021

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/13287>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---



UNIVERSITÉ DE LIÈGE  
UNIVERSITÉ DE NAMUR



## Faculté de sciences

### Introduction bibliographique

Effet du remplacement de la farine de poisson par la farine de mouche soldat noire (MSN) enrichie en acides gras essentiels et en chitinase, sur la croissance, le système digestif et la capacité de défense immunitaire du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

Réalisé par : MBONDO BIYONG Serge René

Promoteur : Robert Mandiki

Encadrant : Pamphile S.  
AGBOHESSOU

Année académique : 2020-2021

## REMERCIEMENTS

Le présent travail a été rendu possible grâce à la contribution d'un ensemble de personnes et d'institutions. Je tiens ainsi à remercier :

- ✓ L'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES) de m'avoir octroyé cette bourse de Master de spécialisation ;
- ✓ L'Unité de Recherche en Biologie Environnementale et Evolutive (URBE) pour l'accueil et les infrastructures mises à disposition afin de réaliser ce travail ;
- ✓ La responsable du master Dr Carole Rougeot pour son accompagnement tout le long de ce master ;
- ✓ Le chef de URBE professeur Patrick KESTEMONT
- ✓ Le promoteur de ce travail Robert MANDIKI pour la supervision du travail et les précieuses remarques ;
- ✓ L'encadreur AGBOHESSOU Pamphile pour sa disponibilité et sa rigueur au travail et pour tous les conseils et astuces de recherche qu'il n'a cessé de me prodiguer ;
- ✓ L'ensemble du corps enseignant de l'Université de Liège et de l'Université de Namur rencontrés dans le cadre de ce master ;
- ✓ Le personnel et les techniciens de l'URBE, je pense particulièrement à Jérôme Lambert pour sa disponibilité
- ✓
- ✓ Mes amis et collègues du Master GeRAA (2020-2021) :
- ✓ Tous mes amis de l'Association de la Promotion Solidarité (APS) de l'Université de Yaoundé 1.
- ✓ A toute ma famille du côté du Cameroun
- ✓

## RÉSUMÉ

La supplémentation de la chitinase dans l'alimentation à base des farines de MSN enrichies en AGLPIs a été étudiée dans cette expérience. Des études antérieures ont déjà montré la capacité de la chitinase à dégrader la chitine en trimères et dimères de N-acétylglucosamine. Ces produits de dégradation de la chitine pourraient avoir des effets bénéfiques sur la croissance et le fonctionnement des systèmes digestifs et immunitaires des poissons. Malgré ce constat, très peu d'étude à nos jours ont été faites sur l'effet de la supplémentation de la chitinase dans les régimes alimentaires à base de farines d'insectes enrichies en AGLPIs.

Dans cette étude, nous avons évalué les effets du remplacement de la farine de poisson par la farine de mouche soldat noire (MSN) enrichie en acides gras essentiels et en chitinase, sur la croissance, le système digestif et la capacité de défense immunitaire du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*. Les régimes alimentaires utilisés dans cette étude étaient constitués d'une part de farine de poissons et d'huile de poissons (FMFO) et d'autre part de farine de larves de MSN obtenues à partir de différent substrat (animal et végétal) et enrichie en AGLPIs et en chitinase.

Au total, 7 régimes isoproteiques et isolipidiques ont été formulés, un régime à base de farine de poisson et d'huile de poisson et les 6 autres à base de farines de larves de MSN enrichies en AGLPIs et en chitinase à des doses croissantes de 0, 2 et 5 g (VGD0, VGD2, VGD5, FOD0, FOD2 et FOD5). Les poissons répartis dans 21 bassins en raison de 3 bassins par traitement étaient nourris à satiété à raison de 3 repas par jours. A la fin de l'expérience, les paramètres de croissances, l'activité enzymatiques et les paramètres immunitaires ont été déterminés.

De manière générale, la supplémentation de chitinase dans le régime alimentaire à base de farines de MSN a amélioré les performances de croissance et d'utilisation alimentaire, ainsi que l'activité des enzymes digestives chez le Tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*. Il en ressort que la dose est importante pour favoriser l'action de la chitinase.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent l'effet positif de la supplémentation de chitinase à des doses appropriées dans l'alimentation à base de farine de larves de MSN enrichies en AGLPIs chez le Tilapia du Nil.

## Table de matières

1	Introduction bibliographique .....	1
1.1	Contexte et justificatif .....	1
1.2	Généralités sur l'utilisation de la farine de poisson dans l'alimentation des poissons .....	3
1.3	Alternatives à l'utilisation des farines de poissons dans l'alimentation des poissons .....	34
1.3.1	Substitution de la farine de poisson par les farines végétales .....	34
1.3.2	Substitution de la farine de poisson par les farines des sous-produits animaux .....	46
1.3.3	Utilisation des farines d'insectes .....	56
1.3.3.1	Intérêt et espèces testées dans la l'alimentation des poissons .....	56
1.3.3.2	Qualités nutritives des farines d'insectes .....	79
1.3.3.3	Effets de la farine de BSF sur la croissance, les systèmes digestif et immunitaire chez les poissons .....	912
1.4	Aperçu du système immunitaire chez les poissons .....	1215
1.4.1	Immunité innée ou naturelle .....	1317
1.4.2	Immunité acquise ou adaptative .....	1417
1.5	Système digestif du tilapia du Nil et utilisation de la chitinase comme supplément alimentaire .....	1518
1.5.1	Régime alimentaire.....	1518
1.5.2	Enzymes digestives .....	1519
1.5.3	Supplémentation en chitinase dans le régime alimentaire des poissons.....	1621
1.6	Objectif .....	1722
2	Matériels et méthodes .....	1823
2.1	Enrichissement des farines de larves d'insectes .....	1823
2.2	Régimes expérimentaux .....	1924
2.3	Elevage et alimentation des poissons.....	2026
2.4	Evaluation de la digestibilité.....	2126
2.5	Paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire .....	2127
2.5.1	Paramètres de croissance .....	2127
2.5.2	Paramètres d'utilisation alimentaire .....	2227
2.5.3	Prélèvement d'échantillons .....	2228
2.5.4	Challenge au lipopolysaccharides (LPS) .....	2228
2.6	Analyses des farines d'insectes, des diètes et des fèces.....	2329
2.7	Activités des enzymes digestives .....	2330
2.7.1	Quantification des protéines des extraits enzymatiques .....	2431
2.8	Mesure des paramètres immunitaires .....	2431

2.9	Traitement des données et analyses statistiques .....	2532
3	Résultats.....	2532
3.1	Influence des régimes sur les paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire .....	2532
3.2	Effets des régimes sur la digestibilité .....	2735
	Activités des enzymes digestives .....	2836
3.3	.....	2836
3.4	Paramètres immunitaires .....	301
4	Discussion.....	334
4.1	Effets des différents régimes sur les paramètres de croissance .....	334
4.1.1	Digestibilité.....	334
4.1.2	Niveau d'activités des enzymes digestives .....	345
4.3	Effets des régimes sur le statut immunitaire .....	346
5	Conclusion et perspectives.....	367
	Références bibliographiques .....	379

## Liste des tableaux

Tableaux	Numéro de page
Tableau 1 : : insectes testés pour l'alimentation des poissons	8
Tableau 2 : effets de la chitine sur le système immunitaire, la croissance et la survie de quelques espèces de poissons	11
Tableau 3 : effets de l'inclusion de la MSN dans les régimes de différentes espèces de poissons.	13
Tableau 4 : Composition des ingrédients (g/Kg de la matière sèche) et teneur en nutriments des régimes expérimentaux	19
Tableau 5 : Composition en acides gras (% des acides gras totaux identifiés) analysée dans des régimes expérimentaux	20
Tableau 6 : Performances de croissance, utilisation alimentaire et survie des juvéniles d' <i>Oreochromis niloticus</i> soumis aux différents régimes	27
Tableau 7 : Coefficient de digestibilité apparente (CDA) des juvéniles de <i>Oreochromis niloticus</i> soumis aux différents régimes	27
Tableau 8 : Niveau d'activités des enzymes digestives des juvéniles du tilapia du Nil soumis à différents régimes alimentaire (30 <sup>ème</sup> et 53 <sup>ème</sup> jours de). Les valeurs sur une même ligne n'ayant pas la même lettre sont significativement différentes	29

## Liste des figures

Figures	Numéro de page
Figure 1 : Les différents compartiments lymphoïdes chez les téléostéens	13
Figure 2 : poids final (PF) et Taux de croissance spécifique (TCS) à J30 et J53 des juvéniles de Tilapia du Nil soumis aux différents régimes	26
Figure 3 : Coefficient d'efficacité des protéines (CEP) et efficacité alimentaire (EA) des alevins de tilapia du Nil soumis aux différents régimes	26
Figure 4 : Niveau d'activités de l'aminopeptidase et la trypsine chez les juvéniles de tilapia du Nil <i>Oreochromis niloticus</i> à J30 et J53.	30
Figure 5 : paramètres immunitaire (A : activité du lysozyme, B : activité du complément, C : activité de la peroxydase, D : activité de l'immunoglobuline totale) chez <i>Oreochromis niloticus</i> soumis à différent régimes alimentaire	32

# 1 Introduction bibliographique

## 1.1 Contexte et justificatif

La farine de poisson (FP) est l'une des sources de protéines les plus importantes dans les aliments pour poissons, en particulier pour les poissons carnivores et les crustacés (Hua et al., 2019). Sa richesse en acides aminés, sa bonne digestibilité et son appétence permettent d'améliorer la prise alimentaire, la digestion et l'absorption des nutriments chez les poissons (Miles et Chapman, 2006). Cependant, à cause de la réduction des stocks des poissons sauvages pour la production de farine et d'huile de poisson, ces ingrédients ne sont plus durables (Arru et al., 2019; FAO, 2018). Afin de préserver les ressources naturelles et de rendre l'aquaculture durable, il est impératif de réduire l'utilisation d'ingrédients dérivés des pêches de capture. La recherche d'alternatives appropriées et durables aux FP et huile de poisson (HP) fait l'objet de plusieurs études, avec des ingrédients potentiels provenant de plantes terrestres, de sous-produits animaux, d'algues ou d'insectes (Gatlin et al., 2007; Olsen et Hasan 2012; Boyd et McNevin, 2015; Wan et al., 2019).

Les matières végétales sont largement utilisées comme alternative à la Farine de poisson (Naylor et al., 2009) et plusieurs travaux ont montré que la FP pouvait partiellement être remplacée par des protéines d'origine végétales (Moniruzzaman et al., 2020; Nishshanka et al., 2021). Toutefois, les protéines végétales ne peuvent pas remplacer des quantités élevées de FP en raison de la présence de facteurs antinutritionnels, d'une teneur élevée en fibres brutes et d'un profil d'acides aminés déséquilibré (Francis et al., 2001; Glencross et al., 2007). En 2013, la FAO a proposé les insectes comme source potentielle de protéines alternatives pour les animaux d'élevage. Certains auteurs suggèrent que les farines de mouches ont des valeurs nutritionnelles presque similaires aux farines de poisson en ce qui concerne leur composition en protéines et en acides aminés essentiels (Ayoola, 2010). À l'heure actuelle, quelques espèces d'insectes ont été proposées pour l'alimentation des poissons d'élevage telles que le ténébrion meunier (*Tenebrio molitor*) (Rema et al., 2019) ainsi que la mouche domestique (*Musca domestica*, Auteur et date) et la mouche soldat noire (Huis, 2013). Les larves de mouches soldats noires (BSF, *Hermetia illucens* (L. 1758)) se démarquent par leur capacité à être élevées sur une large gamme de matières organiques, leur cycle de vie relativement court (Li et al., 2011) et leur composition élevée en protéines (42%) et matières grasses (29%), (Wang et Shelomi, 2017). Elles offrent ainsi l'opportunité d'introduire un modèle d'économie circulaire par la valorisation de matières organiques résiduelles pour produire des aliments qui sont utilisés à leur tour dans l'alimentation animale (Barragan-Fonseca et al., 2017).



De nombreuses études ont montré qu'il est possible de remplacer totalement l'huile et la farine de poisson par des farines d'insectes enrichies dans l'alimentation des poissons sans effet négatif sur la composition des acides gras essentiels de la chair du poisson (Agbohessou et al., 2021). Cependant cette dernière étude a montré que le remplacement total de la farine et huile de poisson par la farine BSF enrichie en AGPI et AGPI-LC et l'huile végétale diminue la vitesse de croissance ainsi que l'efficacité et la digestibilité des protéines, mais sans effets négatifs sur certains paramètres de l'immunité humorale comme le niveau des activités de lysozymes et de complément ACH50 (Agbohessou et al., 2021). La chitine contenue dans les farines d'insectes a été évoquée comme un des facteurs pouvant influencer négativement la disponibilité et la digestibilité des protéines et donc les performances de croissance. Une supplémentation avec 16,2 U/kg de chitinase (ChiB565) chez des tilapia nourris avec un régime expérimental contenant 5% de son de crevette a permis d'améliorer significativement la croissance et l'indice de consommation par rapport à un régime témoin dépourvu de ChiB565. Le ChiB565 alimentaire a également amélioré la digestibilité de l'azote et a régulé à la baisse l'expression intestinale de l'IL-1 $\beta$ . Les effets protecteurs immunologiques pertinents du ChiB565 alimentaire ont également été observés pendant 2 à 3 jours après l'exposition à l'agent pathogène *Aeromonas hydrophila* (Zhang et al., 2014). Malgré ce constat, très peu d'études ont été réalisées sur les effets de l'incorporation de la chitinase dans le régime alimentaire des poissons.

Le tilapia du Nil est la quatrième espèce de poisson d'élevage dans le monde, représentant 8% de la production intérieure mondiale totale (FAO, 2018). Le tilapia du Nil est un poisson omnivore présentant des avantages sur la dégradation de la chitine. En effet, les polysaccharides font partie de la composition de la nourriture naturelle (zooplancton) du tilapia (Sparatus, 1978). La capacité de dégrader la chitine des farines d'insectes et de crevettes par la présence d'enzymes chitinolytiques provenant des muqueuses pancréatiques et gastriques a déjà été clarifiée pour certaines espèces de poissons téléostéens (Rotta, 2003 ; Stech et al., 2009). Compte tenu des avantages possibles du tilapia en matière de dégradation de la chitine et de ses habitudes alimentaires omnivores (Molinari et al., 2007), la farine d'insectes est un potentiel aliment pour les alevins de tilapia du Nil.

## **1.2 Généralités sur l'utilisation de la farine de poisson dans l'alimentation des poissons**

Les farines de poissons ont été longtemps considérées comme les principales sources de protéines, d'acides aminés et d'acide gras essentiels comme les oméga-3 chez les poissons carnivores (Huang et al., 2019). Les pourcentages d'inclusion de farine de poisson dans les régimes pour la carpe et le tilapia peuvent être de 5-7%, peuvent varier entre 40% à 55% pour la truite, le saumon et certains poissons marins (Cahu 2004). Pour d'autres espèces, il reste encore 10 à 15 % de farines de poissons dans les régimes alimentaires malgré de nombreux efforts consentis ces dernières années pour la recherche d'ingrédients alternatifs, (Burel et Médale, 2014). La farine de poisson est généralement ajoutée à l'aliment de certains animaux d'élevage (porcs, volaille, poissons) pour accroître l'efficacité alimentaire et le taux de croissance grâce à leur bonne appétence ; elle permet également une bonne digestion et absorption des nutriments (Miles et Chapman, 2006). Les régimes typiques pour la plupart des poissons peuvent contenir de 32% à 45% de protéines totales en poids (Miles et Chapman, 2006).

Les farines de poisson proviennent de la pêche de poissons pélagiques dont 30% des prises sont utilisées pour nourrir des animaux, ce qui constitue un détournement d'aliments qui pourraient être consommés directement par les humains (FAO, 2016). Depuis quelques années, on assiste à une augmentation du prix des farines et des huiles de poisson, qui est due à la raréfaction de la ressource halieutique et d'une demande croissante en farine de poissons (Merino et al., 2012; FAO, 2016). Du fait de la croissance exponentielle de la production aquacole, l'utilisation de farines de poissons ne peut plus être considérée comme durable.

Les recherches sur de potentielles sources de protéines alternatives pour l'alimentation des poissons au cours des dernières décennies se sont focalisées sur le remplacement partiel ou complet de la farine de poisson (Adam, 2020). De nombreuses sources d'aliments alternatifs sont actuellement à l'étude.

## **1.3 Alternatives à l'utilisation des farines de poissons dans l'alimentation des poissons**

### **1.3.1 Substitution de la farine de poisson par les farines végétales**

Plusieurs travaux ont été menés dans le but de remplacer la farine de poisson par des sources de protéines alternatives, moins coûteuses et disponibles localement (Gonzalez-Felix et al., 2010 ; Ayadi et al., 2012). Parmi ces alternatives, les plus appropriées semblent être les

protéines végétales, en particulier les protéines qui ne sont pas adaptées à la consommation humaine. Toutefois en fonction des taux d'incorporation et des espèces, on peut observer des effets différents (Francis et al., 2001). De manière générale, l'inclusion de protéines végétales dans l'alimentation des poissons est limitée en raison des carences en acides aminés essentiels, en acides gras longs polyinsaturés (AGLPIs), de facteurs antinutritionnels et d'une mauvaise appétence (Gomes et al., 1995). De plus, les plantes ne sont pas capables de synthétiser les AGLPIs ; elles ne produisent que de l'acide  $\alpha$ -linoléique à chaîne courte (18:3n-3, ALA), qui est le principal composant des membranes des chloroplastes photosynthétiques (Ward et Singh, 2005 ; Sayanova et al., 2006 ; Ruiz-Lopez et al., 2012). Plusieurs études ont été menées dans le but de remplacer partiellement ou totalement la farine de poisson par des farines végétales. Une étude sur la substitution de la farine de poissons par la farine de soja supplémentée à de la méthionine a montré une augmentation des performances de croissances et d'utilisation alimentaire chez des hybrides de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) (Figueiredo-Silva et al., 2015). Les travaux menés par Ochieng et al. (2017) ont prouvé qu'il était possible de remplacer jusqu'à 25% de farine de poisson par de la farine de tournesol sans affecter la croissance chez le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*). Toutefois, il en ressort que la plupart des sources de protéines (soja, graines de coton, tournesol, canola, maïs, graines de blé) utilisées pour la fabrication d'aliment pour poissons, présente un déficit en un ou plusieurs acides aminés essentiels et contiennent en outre des facteurs antinutritionnels qui interfèrent avec la croissance (Gonzalez-Salas et al., 2014).

### **1.3.2 Substitution de la farine de poisson par les farines des sous-produits animaux**

Dans les années 1970-1980, des essais de valorisation de coproduits d'origine animale tels que la farine de viande osseuse, la farine de sang, les farines de déchets de poissons et les farines de sous-produits de volaille ont connu un certain intérêt. La farine de sang malgré sa teneur élevée en protéines (85 %), sa valeur biologique est limitée du fait de ses faibles concentrations en méthionine, isoleucine et arginine et du large excès de lysine. Les déchets de poissons (en particulier les viscères) ont un grand potentiel d'utilisation pour la production d'huile d'abats de poissons. Par exemple, les viscères de la carpe indienne d'élevage contiennent environ 40,6 à 43,8 % de lipides (Mondal et al., 2007). Une étude portant sur le remplacement partiel de la farine de poissons par la farine de testicules de saumon a montré une augmentation des performances de croissances chez le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (Lee et al., 2015)

Une substitution de 23% de protéine de farine animale par la farine de viande osseuse a montré que les performances de croissance n'étaient pas affectées chez l'anguille *Anguilla australis australis* (Engin et Carter, 2005). Chez le bar européen, l'hydrolysate de protéine de poisson (FPH), fabriquée à partir de sous-produits de différentes espèces d'élevage (tilapia, crevettes) a été inclus dans des régimes comme substitut de la farine de poisson (5 % de matière sèche) sans effets négatifs sur le métabolisme et les performances de croissance des poissons (Leduc et al., 2018). Chez la daurade royale, le FPH a été testé en remplacement partiel de la farine de poisson dans les aliments sans affecter les paramètres zootechniques et la morphologie intestinale (Fronte et al., 2019).

### **1.3.3 Utilisation des farines d'insectes**

#### **1.3.3.1 Intérêt et espèces testées dans la l'alimentation des poissons**

Ces dernières années, plusieurs travaux ont fait l'objet d'étude d'insectes en tant que candidats à la substitution de la farine de poisson dans l'alimentation des poissons (Henry et al., 2015). Parmi la grande variété des insectes, plus d'une dizaine ont été testés et jugés appropriés comme source alternative de protéines dans l'alimentation des espèces de poissons d'élevage (Henry et al., 2015). Le tableau 1 présente les différentes espèces testées dans l'alimentation des poissons.

Tableau 1 : Insectes testés pour l'alimentation des poissons (Henry et al., 2015)

Ordre	Noms scientifiques	Noms communs
Orthoptera	<i>Zonocerus variegatus</i>	Criquet puant
	<i>Poekilocerus pictus</i>	Criquet indien
	<i>Locusta migratoria</i>	Criquet migrateur
Isoptera	<i>Macrotermes spp.</i>	Termittes spp.
Coleoptera	<i>Tenebrio molitor</i>	Ver de farine
	<i>Oryctes rhinoceros</i>	Scarabée rhinocéros du cocotier
	<i>Zophobas morio</i>	Ver de farine géant
Lepidoptera	<i>Bombyx mori</i>	Bombyx du murier
Diptera	<i>Culex pipiens</i>	Moustique commun
	<i>Hermetia illucens</i>	Mouche soldat noir
	<i>Musca domestica</i>	Mouche domestique

Plusieurs de ces espèces ont une forte teneur en protéines et un profil équilibré en acides aminés (Barosso et al., 2014), ce qui fait d'eux des bons candidats à la substitution de la farine de poisson. La teneur des insectes en acides gras n'est pas toujours optimale pour la nutrition et la santé animale (Gómez Candela et al., 2011), car caractérisée par de faibles quantités d'acides gras mono insaturés (AGMI) et d'acides gras polyinsaturés (AGPI) (St-Hilaire et al., 2007 ; Barragan-Fonseca et al., 2017). Leur composition globale reste très variable selon leur stade et le substrat d'élevage.

Certaines espèces d'insectes peuvent être utilisées au stade adulte en rapport avec l'évolution de leur richesse en nutriments (Makkar et al., 2014). L'inclusion dans le régime alimentaire de 13 à 25 % d'orthoptères adultes (sauterelles ou criquets) n'a pas réduit la digestibilité ou la croissance du poisson-chat ou du tilapia (Alegbeleye et al., 2012). La croissance du poisson-chat a été améliorée par l'inclusion de 13 % de farine de criquet puant (*Zonocerus variegatus*) dans un régime qui présente un profil en acides aminés essentiels très proche des besoins du poisson-chat africain et riche en AGPI (Alegbeleye et al., 2012).

Une réduction de la croissance n'a été constatée que lorsque la farine de poisson était totalement remplacée par des criquets puants chez le poisson-chat africain et le poisson-chat marcheur (*Clarias gariepinus* et *C. batrachus*) (Alegbeleye et al., 2012) et ce résultat pourrait être associé à une réduction de la digestibilité des protéines et des lipides et/ou à des carences en arginine et en Lysine (Alegbeleye et al., 2012).

### **1.3.3.2 Qualités nutritives des farines d'insectes**

Les insectes ont toujours été utilisés par l'homme comme source alternative de protéines lorsque les sources principales se font rares (Ramos-Elorduy, 1997). Plusieurs espèces étudiées ont de forte teneur en protéines (*Anacridium aegyptium* : 66% de matière sèche), un profile en acides aminés presque comparable à la farine de poisson (Barosso et al., 2014). Cependant les insectes présentent un déficit en acides gras essentiels (EPA et DHA) et des teneurs élevées en oméga 6 et lipides monoinsaturés (Barosso et al., 2014).

Plusieurs études ont été menées pour déterminer l'effet de différents substrats de croissance sur la composition corporelle des larves de MSN. Spranghers et al. (2017) ont étudié l'effet de différents substrats de croissance, tels que les aliments pour poules, les déchets végétaux et les déchets de restaurant sur la composition corporelle des larves de MSN. Les résultats de l'étude ont révélé que la teneur en protéines brutes (PB) était plus élevée chez les larves issues du substrat à base de reste de restaurant (déchets organiques) (43 %) et la plus faible dans les substrats de déchets végétaux (39 %). La teneur en lipides brutes (LB) était plus élevée chez les larves issues des substrats de déchets de restaurant et ceux de déchets végétaux (36-38 %). Cependant, la teneur en chitine de larves de MSN se situait entre 5,7 % et 6,7 %. Des changements dynamiques dans la composition des nutriments ont été observés chez des MSN cultivés sur du substrat à base d'aliments de poulets de chair (Liu et al., 2017). La teneur en protéine brute (PB) était de 38 % chez les larves de 12 jours. La valeur moyenne pour les PB était de 43 % au stade de la pré-pupe. La teneur en lipides brutes (LB) a augmenté au cours du développement larvaire et s'est maintenue dans des proportions comprises entre de 22 et 28 %. Selon Jucker et al. (2017), la teneur en PB dans les larves MSN cultivés sur des fruits, des légumes et le mélange fruits-légumes était de 12 à 18 %. La teneur en LB a été de 21 % chez les larves cultivées sur du substrat à base de fruits et de 3 % chez les larves cultivées sur des légumes. La teneur en cendres des larves était de 4 % dans les substrats à base de fruits et de légumes. En outre, Newton et al. (2005) ont signalé que la teneur en protéine brute des larves cultivées dans du fumier de volaille et de porc était de 43 %. Cependant, des variations de la teneur en lipides

ont été signalées entre les substrats (35 % dans le fumier de volaille et 27 % dans le fumier de porc). La teneur en cendres dans les substrats à base de fruits et de légumes était de 16 %. Par conséquent, il est évident que le substrat de croissance a un impact direct sur la composition proximale des larves de MSN.

Dumas et al., (2018) ont montré que la farine de MSN peut contenir 2,73% de chitine alors que Renna et al., (2017) et Tevora et al. (2019) mentionnent des teneurs de 5 %. La chitine est un polymère linéaire d'unités N-acétyle qui entre dans la composition de l'exosquelette des crustacés, des insectes ainsi que de la paroi cellulaire des champignons (Tharanathan et Kittur, 2003). La chitine que l'on trouve chez les crustacés est englobée dans une matrice de protéines et de minéraux (principalement du calcium) (Johnson et Peniston, 1982 ; No et al., 1989), tandis que la cuticule des insectes est composée de chitine dans une matrice de protéines, de lipides et d'autres composés (Kramer et al., 1995). Il a été émis l'hypothèse que ces formes matricielles de la chitine peuvent réduire l'accès des chitinases ou des protéinases à leurs substrats et empêcher l'absorption des protéines et des lipides par l'intestin (Tanaka et al., 1997), réduisant ainsi non seulement la digestibilité de la chitine, mais aussi celle des lipides et des protéines, avec une réduction subséquente de l'utilisation des nutriments et des performances de croissance des poissons. Ce composé peut avoir des effets sur la digestibilité. Le tableau 2 nous montre les effets de la chitine sur le système immunitaire, la croissance et la survie de quelques espèces de poissons.

Une étude portant sur l'effet de la chitine sur le système digestif et immunitaire des poissons a montré que ce composé peut se lier aux biles lors du transit, réduisant ainsi la digestion et l'absorption des lipides (Ringø et al., 2012). De même, Dumas et al. (2018) ont obtenu une faible valeur de digestibilité pour les lipides (43%) liée à la présence de chitine dans une moulée contenant des farines de larves de de BSF chez la truite arc-en-ciel. Une étude in vitro sur la digestibilité des protéines de farines d'insectes a permis de mettre en évidence qu'il existe une corrélation négative entre la digestibilité des protéines brutes et le contenu en chitine des différents régimes (Marono et al., 2015).

Tableau :2 Effets de la chitine sur le système immunitaire, la croissance et la survie de quelques espèces de poissons.

Espèces	Dose et durée d'administration	Effet sur l'immunité, la croissance et la survie	Références
Daurade royale (Sparus aurata L.)	Injection de chitine en intrapéritonéale (IP) (0.1 mg) – 3, 5 et 10 jours	Augmentation de l'activité du complément hémolytique et de l'activité phagocytaire	Esteban et al. (2000)
Daurade royale	Chitine (25, 50, 100 mg kg <sup>-1</sup> ) – 2, 4, 6 semaines	Augmentation de l'activité du complément	Esteban et al. (2001)
Rohu (Labeo rohita)	Chitine (25 mg kg <sup>-1</sup> ) – 15 jours	Augmentation du taux de survie et de la résistance bactérienne	choudhury et al. (2005)
Carpe commune Cyprinus carpio	Chitine (10 g kg <sup>-1</sup> ) – 90 jours	Augmentation de l'activité du lysozyme et du taux de survie	Gopalakannan et Arul (2006)
Tilapia (Oreochromis niloticus × O. aureus)	Chitine (0, 20, 50 or 100 g kg <sup>-1</sup> ) – 8 semaines	Diminution des performances de croissances.	Shiau et Yu (1999)

### 1.3.3.3 Effets de la farine de MSN sur la croissance, les systèmes digestif et immunitaire chez les poissons

Les larves de mouche soldat noire (ou « Black soldier fly »,) (*Hermetia illucens*) contiennent des quantités élevées de protéines (environ 40% de la matière sèche) et ont un profil relativement bien équilibré d'acides aminés essentiels (AAE) (Henry et al., 2015; Liland et al., 2017; G. Wang et al., 2019). Ce sont aussi de bonnes sources de lipides, avec un contenu des matières grasses, qui peut varier de 7,9 % à 40 % (Finke 2015; Meneguz et al., 2018).



Plusieurs expériences ont été réalisées avec les farines de mouches soldat noires. Le tableau 3 résume les effets de l'inclusion de la MSN dans les régimes de différentes espèces de poissons. Aucun niveau d'inclusion de BSF n'a conduit à une meilleure performance de croissance des poissons que les poissons nourris avec des régimes témoins riches en farine de poissons (PRIYADARSHANA et al., 2021). Cependant, certains niveaux d'inclusion de larves de BSF ont montré un gain de poids similaire à celui des poissons nourris à la farine de poissons : 6 % chez la barbie de rivière (Newton et al., 2005), 15 % (St-Hilaire et al., 2007) ou 18-36 % chez la truite arc-en-ciel (Sealey et al., 2011), avec une amélioration des teneurs en acides gras polyinsaturés et en acides gras longs polyinsaturés dans la chair des poissons nourris au BSF (Sealey et al., 2011), 5-25% d'inclusion dans le saumon de l'Atlantique, *Salmo salar*, où les régimes BSF étaient supplémentés par des acides aminés (Lys et Met) (Lock et al., 2016). Des niveaux d'inclusion plus élevés (12-30%) ont réduit de manière significative la croissance des poissons chez la barbie de rivière, la truite arc-en-ciel et le turbot, *Psetta maxima* (Newton et al., 2005; St-Hilaire et al., 2007; Kroeckel et al., 2012). Des niveaux élevés d'inclusions de farine de larves de BSF (15,78%) ont montré un effet négatif sur la digestibilité des lipides chez *Monopterus albus*. (Hu et al., 2020). Une inclusion alimentaire de 20% et 40% de farine de BSF en substitution à la farine de poisson n'a pas modifié de manière significative les traits histologiques du foie et de l'intestin de la truite arc-en-ciel, suggérant aucune influence négative sur la capacité digestive (Kroeckel et al., 2012; St-Hilaire et al., 2007).

Chez le tilapia *Oreochromis niloticus*, des niveaux d'inclusions (3, 6 et 9%) de farine de MSN n'a montré aucune différence sur les paramètres de croissance comparé au témoin, exception faite sur l'efficacité protéique qui a significativement diminuée (Toriz-Roldan et al., 2019). Les travaux de Devic et al. (2018) sur la substitution partielle de la farine de poisson par la farine de larves de BSF associée à de la farine de sous-produits de volaille n'a pas affecté la croissance, l'utilisation et l'efficacité alimentaire, mais a modifié la composition en acides gras de la chair du tilapia du Nil. Cependant, le remplacement total de la farine de poissons par la farine de larves de MSN enrichie en AGLPI a montré une réduction de la croissance, de l'efficacité alimentaire et de l'efficacité protéique chez les juvéniles de tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (Agbohessou et al., 2021). Un autre aspect intéressant est que les larves de BSF présentent une activité antibactérienne diversifiée contre les bactéries Gram-positive et-négative et les champignons, suggérant un rôle potentiellement important dans le contrôle des agents pathogènes résistants (Elhag et al., 2017); ce qui peut augmenter l'immunité et la croissance de

la même manière que les antibiotiques alimentaires à faibles doses sous-thérapeutiques (Gadde et al., 2017).

Tableau 3 : effets de l'inclusion de la MSN dans les régimes de différentes espèces de poissons.

Espèces de poissons	Taux d'inclusion des larves de MSN	Effets	Références
Juveniles de poissons chat africains <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822)	Jusqu'à 30%	Pas d'effets négatifs sur les performances de croissance jusqu'à 20%	(Talamuk ,2016)
Saumon atlantique ( <i>Salmo salar</i> Linnaeus, 1758)	Jusqu'à 100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas d'effets négatif sur la croissance jusqu'à 85%.</li> <li>- Modification du profil en acides gras dans la chair</li> <li>- Réduction des coefficients de digestibilité apparent des protéines et lipides.</li> </ul>	Lock et al. (2016) ; Belghit et al. (2018) ; Li et al. (2019) ; Stenberg et al. (2019)
Juveniles de Tilapia bleu <i>Oreochromis aureus</i> (Steindachner, 1864)	Larves hachées et congelées, jusqu'à 100%	Pas d'effet négatif sur les performances de croissance jusqu'à 100%	Bondari and Sheppard (1981)
Juveniles de Bar européen <i>Dicentrarchus labrax</i> (Linnaeus, 1758)	Jusqu'à 45%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas d'effets négatifs sur la croissance jusqu'à 45%.</li> <li>- Pas d'effets sur les activités de l'amylase et des protéases.</li> </ul>	Sánchez-Muros et al. (2014) ; López (2015) ; Magalhães et al. (2017) ; Abdel-Tawwab et al. (2020)

#### **1.4 Aperçu du système immunitaire chez les poissons**

Les constituants essentiels du système immunitaire des mammifères comme les macrophages, lymphocytes B et T sont retrouvés chez les poissons (Biller-Takahashi et Urbinati, 2014). A l'éclosion, leur immunité innée est rapidement mise en place pour se protéger des pathogènes de l'environnement (Rombout et al., 2005). L'ontogenèse du système immunitaire des poissons commence dès le développement embryonnaire avec une génération de lignées macrophagiques actives bien avant l'éclosion (Herbomel et al., 1999). Les lignées leucocytaires s'établissent durant l'embryogenèse au fur et à mesure de la spécialisation des cellules embryonnaires avec une régionalisation des organes lymphoïdes primaires : rein antérieur, rate et thymus. (Tort, 2011).

Plusieurs études ont été faites sur les effets de la chitine sur le système immunitaire des poissons. Dans une étude sur la dorade royale (*Sparus aurata* L.), Esteban et al. (2000) ont injecté de la chitine (0,1 mg de particules de chitine) par voie intraveineuse ou avec 1 mg de chitine par voie intrapéritonéale et ont évalué les réponses immunitaires humorales et cellulaires 3, 5 ou 10 jours après l'injection. Les daurades injectées avec de la chitine par intraveineuse n'ont pas été affectées dans leurs réponses immunitaires innées. Cependant, les poissons injectés par voie intrapéritonéale ont montré une augmentation des réponses immunitaires humorales et cellulaires telles que l'activité du complément hémolytique naturel. Les travaux de Sakai et al. (1992) ont rapporté que les truites arc-en-ciel auxquelles on avait injecté de la chitine présentaient une stimulation des activités des macrophages et une résistance accrue à l'infection par *V. anguillarum*. Sur base de leurs résultats, les auteurs ont suggéré que la chitine avait des effets immunostimulants chez la truite arc-en-ciel. De même, Gopalakannan et Arul (2006) ont donné 0 et 10 g de chitine/kg à des carpes communes (*Cyprinus carpio*) dans des conditions de terrain pendant 90 jours. L'activité du lysozyme et l'activité des neutrophiles des carpes traitées étaient stimulées de manière significative. Lorsque les poissons traités ont été injectés par voie intrapéritonéale avec *Aeromonas hydrophila* au 45<sup>ème</sup> jour, le pourcentage relatif de survie a augmenté jusqu'à 40% chez les poissons nourris à la chitine. Chez la carpe commune, l'apport alimentaire de chitine a renforcé le système immunitaire inné et la résistance à l'infection par *A. hydrophila*.

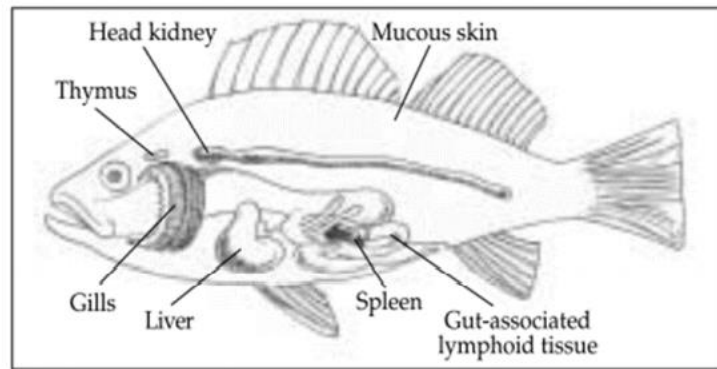


Figure 1 : Les différents compartiments lymphoïdes chez les téléostéens. Head kidney : rein antérieur, Mucous skin : peau muqueuse, Gills : branchies, Liver : foie, Spleen : rate, Gut-associated lymphoid-tissue : tissu lymphoïde associé à l'intestin (Tort et al., 2003)

#### 1.4.1 Immunité innée ou naturelle

La peau, le mucus créent une première barrière physique et chimique aux agents pathogènes invasifs et font ainsi partie des composantes du système immunitaire inné. Le mucus de la peau contiennent des substances capables d'inhiber la croissance bactérienne (Yano, 1996). Le mucus, en plus de sa capacité de piéger avec des mucopolysaccharides visqueux, contient plusieurs substances antibactériennes à large spectre tel que des peptides anti-microbiens (ou PAMs), des lectines, le lysozyme et des protéines de phase aigu (acute phase proteins ou APP) (Ellis, 2001). Le plasma contient également plusieurs facteurs bactéricides ou bactériostatiques. Le lysozyme et les lectines se retrouvent en plus grandes concentrations dans le plasma que dans le mucus. Le système du complément est également une composante majeure de l'immunité innée puisqu'il peut être activé directement par les LPS bactérien (voie alternative) mais aussi par les anticorps (voie classique) et indirectement par la protéine C-réactive et les lectines attachées aux surfaces bactériennes (Yano, 1996 ; Ellis, 2001). Les trois classes d'interférons impliqués dans l'inhibition de la réplication virale ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ) existent également chez les téléostéens (Yano, 1996).

Une multitude de cellules sont impliquées dans les défenses non spécifiques, incluant les monocytes et macrophages, les granulocytes (hétérophiles, éosinophiles et basophiles chez certaines espèces de poissons) et les cellules cytotoxiques NCC (non specific cytotoxic cells) équivalentes aux cellules NK des mammifères (Secombes, 2016). Les cellules NCC sont capables d'éliminer les cellules tumorales, les cellules infectées par des virus et les parasites protozoaires (Secombes, 1996).

### **1.4.2 Immunité acquise ou adaptative**

Contrairement à l'immunité innée, l'immunité adaptative ou acquise produit une réponse spécifique de l'antigène. Cette réponse est produite de manière spécifique par le fait que les cellules de l'immunité adaptative notamment les lymphocytes T fonctionnels portent un seul type de récepteur (TCR pour « T Cell Receptor ») acquis dans l'organe appelé thymus capable de reconnaître spécifiquement un déterminant antigénique (Mathieu et al., 2009). La réponse adaptative est généralement caractérisée par une mémoire immunologique et apparaît secondairement mais rapidement après une exposition répétée au même agent pathogène et demeure essentielle pour une immunité durable au niveau de son organisme (Wang et Secombes, 2013). La réponse immunitaire est produite grâce à un transfert rapide de l'information des acteurs de l'immunité innée aux acteurs cellulaires (lymphocytes) de l'immunité adaptative. Cette coordination est assurée par les cellules dendritiques (CD) qui sont des cellules fondamentales présentant l'antigène pour réguler la réponse immunitaire (Alli et al., 2004).

La deuxième phase de réponse de l'organisme fait intervenir un ensemble de cellules notamment les cellules lymphoïdes et surtout les lymphocytes B qui sont responsables de la réponse immunitaire humorale en produisant des anticorps et les lymphocytes T responsables, responsables des réponses cellulaires (auxiliaire, cytotoxique ou régulatrice) (Carcelain et al., 2018). À chaque type de lymphocyte s'associe une immunité spécifique qui peut être soit à médiation humorale, soit à médiation cellulaire. L'immunité à médiation humorale est liée aux lymphocytes B et aux cellules qui en dérivent directement, les plasmocytes. Les plasmocytes eux-mêmes produisent des immunoglobulines ou anticorps qui, appartenant à une famille de protéines globulaires, se divisent en plusieurs classes (IgG, IgM, IgA, IgD et IgE). Quant à l'immunité à médiation cellulaire, elle est liée aux cellules lymphocytes T. Ces deux types d'immunité spécifique interagissent ensemble dans la production des anticorps contre la plupart des antigènes (Galazka, 1993). Ces cellules s'impliquent au fur et à mesure jusqu'à ce que la phase non-spécifique est remplacée par la phase d'entretien qui est une phase spécifique menant à l'élimination du pathogène envahisseur tout en garantissant le moins de blessures possibles à l'hôte (Rebl et Goldammer, 2018).

## **1.5 Système digestif du tilapia du Nil et utilisation de la chitinase comme supplément alimentaire**

### **1.5.1 Régime alimentaire**

Le tilapia du Nil est essentiellement phytoplanctonophage en milieu naturel (Huchette et Beveridge 2003) et peut aussi ingérer des sédiments riches en bactéries et diatomées surtout à l'étape d'alevin (0 à 5 g) (Lacroix, 2004). Mais en milieu contrôlé (systèmes de pisciculture) cette espèce est pratiquement omnivore (euryphage) valorisant divers déchets agricoles (tourteaux d'oléagineux, drèches de brasserie, farine de tomate...) (Salah et al., 2006), tirant parti des excréments de porcs ou de volailles, de déchets ménagers, acceptant facilement des aliments composés sous forme de granulés, etc... Cette capacité d'adaptation à divers aliments et déchets est phénoménale et est à la base de sa haute potentialité pour la pisciculture. Chez les tilapias, les besoins en protéines varient en fonction du poids de l'individu (26 à 40% de la matière sèche de l'aliment) (NRC, 2011) tandis que ceux en acides gras essentiels (18 : 2n-6) sont à environ 1% de la ration (Cahu, 2004). Les besoins en énergie sont compris entre 1,507 et 1,632 MJ pour un individu de 100g (Luquet et Moreau, 1989).

### **1.5.2 Enzymes digestives**

Chez les poissons herbivores et omnivores, dépourvu d'estomac, le rôle de la pepsine est repris par des protéases alcalines, qui sont plus actives dans un environnement alcalin (Silva et Anderson, 1994). Le niveau d'activité des enzymes varie en fonction de la taille des individus (Klahan et al., 2009).

L'activité des protéases alcalines est initialement faible dans les premiers stades juvéniles et la digestion générale des protéines dépend fortement des phosphatases alcalines plutôt que des enzymes peptiques (Klahan et al., 2009). Une baisse de l'activité protéasique a été corrélée à une diminution de la proportion de farine de poisson dans l'alimentation (Silva et Anderson, 1994).

Une étude sur l'inclusion des farines de BSF dans l'alimentation de la carpe Jian n'a montré aucune différence dans l'activité des alpha-amylases intestinales, de la trypsine, ou des lipases (Li et al., 2017). De même aucune différence n'a été observée dans l'activité de la trypsine intestinale chez le saumon atlantique (Belghit et al., 2019). Chez le Zebrafish, l'inclusion de farine de BSF à des taux élevés (25 à 100%) a montré une réduction de l'activité de la trypsine, de la phosphatase alcaline et de l'alpha amylase au niveau de l'intestin (Fronte et al., 2019). La carbohydrase ( $\alpha$ -amylase) est produite dans le pancréas et, comme la lipase, elle a été identifiée

dans le suc pancréatique, l'estomac et les intestins mais pas nécessairement chez toutes les espèces.

L'inclusion alimentaire d'enzymes exogènes qui améliorent la digestibilité des nutriments, notamment des polysaccharides non amylacés (PNA) et du phosphore phytique, gagne en importance dans les aliments pour animaux aquatiques (Ai et al., 2007 ; Adeola et Cowieson, 2011 ; Dalsgaard et al., 2012).

Gooday (1990) propose trois origines possibles pour l'enzyme chitinolytique du tractus digestif des vertébrés : endogène, c'est-à-dire provenant de l'animal lui-même ou exogène, c'est-à-dire produite par un microbiote intestinal commensal ou encore provenant de la nourriture ingérée. Des observations chez de nombreux poissons, dont la plupart ont un régime alimentaire comprenant des arthropodes ou des mollusques chitineux, ont permis de proposer un rôle lié à la digestion pour les chitinases (Karasov et Hume, 2011). La plupart des poissons ont de fortes concentrations de chitinases dans le tube digestif et l'activité chitinolytique la plus élevée se trouve dans l'estomac (Yoshida et Sera, 1970 ; Micha et al., 1973 ; Fänge et al., 1979 ; Lindsay et Gooday, 1985 ; Sabapathy et Teo, 1993 ; Matsumiya et Mochizuki, 1996 ; Gutowska et al., 2004).

### **1.5.3 Supplémentation en chitinase dans le régime alimentaire des poissons**

La chitine est un polysaccharide de glucosamine et de N-acétylglucosamine (NAG) (Cohen, 2001), elle est le composant structurel majeur de nombreux organismes, dont les champignons, crustacés, mollusques, coelentérés, protozoaires et algues vertes (Rinaudo, 2006; Khoushab et Yamabhai 2010). Certains auteurs comme Zhang et al. (2014) ont signalé que la chitine dans les régimes alimentaires pourrait conduire à une mauvaise accessibilité des enzymes à leur substrat et réduire le temps de rétention des matières fécales. La plupart des poissons consommant les insectes semblent posséder une certaine forme d'enzymes dégradant la chitine, telles que les chitinases et/ou des chitobiases dans leur tractus gastro-intestinal (Karasuda et al., 2004; Fines et Holt, 2010). Les travaux de Lindsay et al (1984) ont montré que des niveaux élevés de chitinase digestive sont associés à des poissons, tels que le cobia (*Rachycentron canadum*), qui ne possèdent pas de structures mécaniques pour décomposer les exosquelettes chitineux des proies. Quelques travaux ont été fait sur l'effet de la supplémentation des chitinases dans le régime alimentaire des poissons. La chitinase peut hydrolyser la chitine en oligosaccharides de chitine, y compris des oligomères, le chitobiose et la NAG, qui pourraient jouer le rôle d'agents antibactériens, d'inducteurs de lysozyme et d'immunostimulateurs (Zhang

et al., 2012). La supplémentation alimentaire en chito-oligosaccharide (COS) à 0,2 g kg<sup>-1</sup> a amélioré les performances de croissance et la fonction immunitaire non spécifique de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Liu et al., 2012 ; Luo et al. 2009). Des doses de COS alimentaire entre 4 et 6 g kg<sup>-1</sup> donné à *T. ovatus* a stimulé sa croissance, la conversion des aliments, les activités sériques du lysozyme et de la superoxyde dismutase, et l'efficacité protectrice contre *Vibrio harveyi* (Lin et al. 2012a). De même, La COS alimentaire à une dose de 0,125 g kg<sup>-1</sup> a amélioré la croissance de *Cyprinus carpio* ainsi que ses réponses immunitaires telles que les activités sériques du lysozyme et de la superoxyde dismutase, et la protection contre l'injection intrapéritonéale d'*A. veronii* (Lin et al. 2012b). Shiao et Yu (1999) dans leur étude ont rapporté que la supplémentation alimentaire en chitosan réduit la croissance du tilapia, quel que soit le niveau de supplémentation.

## **1.6 Objectif**

Cette étude vise à évaluer les effets de la substitution de la farine et huile de poisson par les farines de larves de MSN enrichies en acides gras polyinsaturés et en chitinase à différentes doses sur les performances de croissance, la digestibilité et les fonctions immunitaires des juvéniles de tilapia du Nil.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- Déterminer l'effet des farines de BSF enrichies sur les performances de croissance du tilapia du Nil.
- Evaluer l'effet des farines de BSF enrichies sur la digestibilité des nutriments et les enzymes digestives ;
- Déterminer l'effet des farines de BSF enrichies sur le statut immunitaire, notamment l'immunité humorale.



## 2 Matériels et méthodes

### 2.1 Enrichissement des farines de larves d'insectes

La production de farine de larves de MSN et l'essai d'alimentation in vivo des poissons ont été réalisés dans les installations de l'unité de recherche en hydrobiologie et aquaculture (LHA) de la Faculté des sciences agricoles de l'Université d'Abomey-Calavi (FSA/UAC) au Bénin. Les procédures de soins et de gestion des animaux ont été menées conformément aux directives européennes (directive européenne 2010/63/UE).

Les larves ont été élevées dans des insectariums en triplicata. Afin de moduler leur composition en acide gras polyinsaturé (AGPI), deux types de substrats ayant des compositions biochimiques différentes ont été utilisés. Un substrat de culture végétale (VGD) était composé de farine de soja (777.4g/Kg de matière sèche), de feuilles et de graines d'*Euphorbia heterophylla* L. (EH) (150g/Kg) et d'huile de colza (72.6g/Kg), contenant des concentrations élevées de LA et ALA. Un substrat de culture d'abats de poisson (FOD) était composé de farine de soja (320,1g/Kg) et d'abats de poissons marins (679,9g/Kg) riches en acides gras longs polyinsaturés (AGLPI) (EPA et DHA). Les feuilles et les graines d'EH ont été séchées à l'ombre pendant trois jours. Les déchets de poissons ont été séchés dans un four électrique (Heraeus, Lille, France) à 70°C pendant 3 jours. Afin d'obtenir des substrats homogènes et de faciliter l'ingestion par les larves, les différents ingrédients ont été broyés dans un moulin électrique (David 4V, Italie) et réduits en poudre. Les farines ont ensuite été mélangées selon les proportions de chaque régime et humidifiées jusqu'à 70%.

La production des pré-pupes de MSN a été réalisée en deux étapes : l'élevage des mouches soldats noires dans des cages d'élevage en nylon (75 x 75 x 115 cm, Bugdorm, Taichung, Taïwan) et la croissance des larves dans des récipients en plastique blanc, rectangulaires et transparents (42 cm x 29 cm x 25 cm). Les larves de MSN ont été élevées pendant 14 jours à une température de  $26,83 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$  pendant l'expérience. Les récipients d'élevage sont dotés d'un système incliné vers le bas pour faciliter le retrait des pré-nymphes des substrats et sont équipés d'un canal en PVC pour permettre la collecte automatique des larves (Hoc et al., 2019).

Après la récolte, les larves ont été rincées avec de l'eau stérilisée et ensuite séchées dans un four à 60°C pendant 72 h jusqu'à ce que leur poids se stabilise. Après séchage, les larves ont été broyées pour produire de la farine de larves d'insectes. Ces farines larvaires ont été stockées à -20°C et leur composition biochimique a été déterminée avant l'incorporation dans la formulation des régimes alimentaires des poissons expérimentaux.

## 2.2 Régimes expérimentaux

Sept régimes isoprotéiques (318g de protéines/kg) et isolipidiques (129g de lipides/kg) ont été formulés. Le régime témoin (FMFO) contenait de la farine de poisson (FP) et de l'huile de poisson (HP) comme source de protéines et de lipides respectivement. Dans les 6 autres régimes, la farine de poisson a été totalement remplacée par la farine de larves de mouche soldat noire produites sur des substrats différents et donc enrichies d'une part en acide gras linoléique (ALA), substrat végétal (VGD) et d'autre part en ALA + EPA (acide eicosapentaénoïque) substrat animal (FOD). Les régimes ainsi obtenus ont été supplémentés par des doses croissantes de 0g, 2g et 5g de chitinase produite à partir de *Aspergillus niger* (Creative Enzymes, USA) (VGD0, DV2, DV5, FOD0, FOD2, FOD5). Les tableaux 1 et 2 montrent la formulation et la composition chimique des différents régimes. Les ingrédients végétaux des farines ont été cuits à la chaleur, et tous les ingrédients alimentaires ont été homogénéisés. De l'eau a été ajoutée progressivement (35-40% des ingrédients secs) aux ingrédients pré-mélangés et mélangés pendant 10 min supplémentaires. Le mélange homogénéisé a été passé dans une machine à granulés (BD-GP70, Henan BEDO Machinery Equipment, Chine) à une vitesse de 700RMP. La machine était équipée pour ajuster la taille des boulettes (1,2-2,2 mm de diamètre) en fonction de la taille du poisson. Les boulettes ont ensuite été séchées sous une hotte à température ambiante pendant 12 h et finalement stockées à -4 °C.

**Tableau 4 :** Composition des ingrédients (g/Kg de la matière sèche) et teneur en nutriments des régimes expérimentaux.

Ingrédients (g/Kg de la matière sèche)	Contrôle FMFO	VGDO	VGD2	VGD5	FOD0	FOD2	FOD5
Mouche soldat noir (BSF)	0	225.6	225.6	225.6	217.2	217.2	217.2
Farine de poisson	110	0	0	0	0	0	0
Tourteau de soja	233.1	242.5	242.5	245.5	242.4	243.4	246.4
Farine de Maïs	430.5	341.8	339.8	333.8	350.3	347.3	341.3
Huile de Menhaden	30	0	0	0	0	0	0
Huile de Palme	48	38.7	38.7	38.7	38.7	38.7	38.7
Farine de Sang	100	100	100	100	100	100	100
Carboxyméthyl cellulose	5	5	5	5	5	5	5
Premix vitaminés	10	10	10	10	10	10	10
Premix minéraux	10	10	10	10	10	10	10
BHT	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

Bétaïne	20	20	20	20	20	20	20
BHA	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Méthionine	3	5	5	5	5	5	5
Tryptophane	0	1	1	1	1	1	1
Chitinase	0	0	2	5	0	2	5
TOTAL	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
<b>Composition chimique approximative (g/Kg de la matière sèche)</b>							
Matière sèche	908.54	911.44	909.65	908.77	912.49	910.04	909.74
Cendres brutes	57.62	55.81	57.56	51.65	58.44	61.98	71.06
Protéine brute	318.40	318.80	318.70	318.60	318.20	318.50	318.80
Matière grasse	123.00	129.70	129.70	129.70	127.40	127.40	127.40

**Tableau 5 :** Composition en acides gras (% des acides gras totaux identifiés) analysée dans des régimes expérimentaux

<b>Composition en Acides gras ((% du total des acides gras identifiés)</b>								
C12:0	0.16	33.7 1	33.7 1	33.7 1	29	29	29	
C14:0	2.95	5.22	5.22	5.22	5.85	5.85	5.85	
C16:0	31.5 2	13.8 2	13.8 2	13.8 2	22.6 8	22.6 8	22.6 8	
C18:0	4.26	2	2	2	0.59	0.59	0.59	
Acides gras saturés total	38.8 9	54.7 5	54.7 5	54.7 5	58.1 2	58.1 2	58.1 2	
C16:1n-7	3.39	2.29	2.29	2.29	0.59	0.59	0.59	
C18:1n-9	30.3 7	26.4 5	26.4 5	26.4 5	23.9 5	23.9 5	23.9 5	
C20:1n-9	1.17	0.54	0.54	0.54	0	0	0	
Total monoenes	34.9 3	29.2 8	29.2 8	29.2 8	24.5 4	24.5 4	24.5 4	
C18:2n-6 (LA)	17.1	13.6 5	13.6 5	13.6 5	11.0 2	11.0 2	11.0 2	
C20:4n-6 (ARA)	0.15	0	0	0	0	0	0	
Total n-6 PUFA	17.2 5	13.6 5	13.6 5	13.6 5	11.0 2	11.0 2	11.0 2	
C18:3n-3 (ALA)	0.82	2.26	2.26	2.26	0.68	0.68	0.68	
C20:5n-3 (EPA)	4.64	0	0	0	2.00	2.00	2.00	
C22:6n-3 (DHA)	3.23	0	0	0	0	0	0	
Total_ n-3PUFA	8.69	2.26	2.26	2.26	2.68	2.68	2.68	
n-3:n-6	0.50	0.17	0.17	0.17	0.24	0.24	0.24	

## 2.3 Elevage et alimentation des poissons

L'expérience d'alimentation a été réalisée dans un système d'aquaculture en recirculation (RAS) comprenant des systèmes de filtration mécanique et biologique de l'eau. Un ensemble de 630

juvéniles (poids corporel initial =  $5,57 \pm 0,05$  g) a été réparti de manière aléatoire dans 21 bassins avec une densité de 30 poissons par bassins et trois répétitions de bassins par traitement alimentaire.

## **2.4 Evaluation de la digestibilité**

Un essai de digestibilité a été réalisé sur les mêmes poissons que ceux utilisés pour le test de croissance. Les poissons ont été nourris avec un régime contenant de l'oxyde de chrome (Sigma, Adrich) servant de marqueur inerte à une concentration de 1% ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , 10g  $\text{kg}^{-1}$ ) par rapport à la formulation précédente. Les poissons ont été nourris dans les mêmes conditions que celles de l'expérience de croissance. Une semaine après l'acclimatation aux nouveaux régimes, les fèces ont été collectées avec un siphon deux fois par jour, le matin et l'après-midi, pendant trois semaines. Les fèces se sont rapidement déposées au fond de la cuve et sont restées en grande partie intactes, de sorte que les pertes de nutriments et de marqueurs ont été minimisées. Les granulés rejetés par les poissons ont été soigneusement retirés avant la collecte des fèces. Des quantités suffisantes de fèces ont été collectées, lyophilisées et immédiatement conservées à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'à l'analyse. La concentration d'oxyde de chrome dans les aliments et les fèces a été déterminée à l'aide de formules appropriées.

CUDaMS : Coefficient d'utilisation digestive apparent de la matière sèche =  $100 - 100 (\% \text{ de marqueur dans le régime alimentaire} / \% \text{ de marqueur dans les fèces})$

CUDaprotéine : Coefficient d'utilisation digestive apparent des protéines (%) =  $100 - 100 ((\% \text{ marqueur dans l'alimentation} / \% \text{ marqueur dans les fèces}) \times (\% \text{ protéines dans les fèces} / \% \text{ protéines dans l'alimentation}))$ .

CUDa lipide : Coefficient d'utilisation digestive apparent des lipides (%) =  $100 - 100 ((\% \text{ de marqueur dans l'alimentation} / \% \text{ de marqueur dans les fèces}) \times (\% \text{ de lipides dans les fèces} / \% \text{ de lipides dans l'alimentation}))$ .

## **2.5 Paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire**

Afin d'évaluer les performances de croissance et l'utilisation des aliments, tous les poissons ont été pesés individuellement au début et à la fin de l'expérience. La mortalité a été enregistrée quotidiennement. Les performances de croissance et l'utilisation de la nourriture ont été déterminées en utilisant les formules appropriées.

### **2.5.1 Paramètres de croissance**

Gain de poids (%) =  $(P_f - P_i) \times 100 / P_i$

Taux de croissance spécifique noté SGR (% / j) =  $100 \times (\ln Pf - \ln Pi) / dt$  ;

Taux de survie noté S (%) =  $(100 \times Nf) / Ni$

### **2.5.2 Paramètres d'utilisation alimentaire**

Taux de conversion alimentaire (TCA ou FCR) =  $Rd / (Bf - Bi)$  ;

Efficacité alimentaire noté ECA (%) =  $100 \times (1/FCR) = 100 \times (Bf - Bi) / Rd$  ;

Taux d'efficacité des protéines noté PER =  $(Pf - Pi) / (RdPC)$  ;

Où Pf = poids moyen final (g) et Pi = Poids initial (g) ; dt = nombre de jours d'élevage ; Ni = nombre de poissons à la mise en charge et Nf = nombre des poissons à la récolte ; Bi = biomasse initiale (g), Bf = biomasse finale (g), et Rd = ration distribuée (g) ; RdPC = ration protéique consommée ; Prf = Protéines contenues finalement par poisson (g) et Pri = Protéines contenues initialement par poisson (g)

### **2.5.3 Prélèvement d'échantillons**

Au début de l'expérience, 10 poissons ont été euthanasiés au hasard par immersion dans une solution d'acide éthylaminobenzoïque (MS222 : 240 mg/L) pour l'analyse de la composition initiale du corps entier. A la fin de l'essai d'alimentation (jour 60), le nombre total de poissons et leur poids corporel ont été enregistrés pour déterminer le taux de survie (TS) et le taux de croissance spécifique (SGR). 6 poissons ont été échantillonnés au hasard dans chaque réservoir et anesthésiés au MS222 (120 mg/L, Sigma). A l'aide de seringues héparinées, du sang a été prélevé pour le plasma à partir de la veine caudale de 6 poissons dans chaque bassin de réplique (18 poissons par traitement). Les échantillons de plasma ont été obtenus par centrifugation à  $4000 \times g$  pendant 15 minutes à l'aide d'une microcentrifugeuse réfrigérée à haute vitesse et conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse ultérieure des paramètres de l'immunité innée (activité du lysozyme, activité du complément, immunoglobuline totale et activité peroxydase totale). Après dissection, l'estomac et l'intestin ont été prélevés après 30 (J30) et 53 jours et congelés sur de la glace sèche, puis stockés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse de l'activité des enzymes digestives

### **2.5.4 Challenge au lipopolysaccharides (LPS)**

Les lipopolysaccharides (LPS), également appelés lipoglycanes ou endotoxines, sont de grosses molécules constituées d'un lipide et d'un polysaccharide de la membrane externe des bactéries Gram négatives. Ils ont été utilisés dans cette étude pour stimuler le système immunitaire des poissons.

À la fin de l'expérience, 10 poissons par bassin (30 par traitement) ont reçu une injection intrapéritonéale de 0,1 ml de LPS pur provenant d'*Escherichia coli* 055 : B5 (Sigma-Aldrich, France) (5 mg/kg de poisson). La suspension de LPS a été préparée le même jour en dissolvant les cellules lyophilisées dans du sérum physiologique stérile (0,9% p/v de NaCl). La dose d'administration de LPS a été choisie sur la base d'études antérieures sur *O. niloticus* (Lazado Pedersen, 2016 ; Liu et al., 2016 ; Mohammadi et al., 2020). 6 poissons par bassin du groupe de contrôle (n = 18) ont également reçu un volume égal de sérum physiologique stérile sans LPS.

## **2.6 Analyses des farines d'insectes, des diètes et des fèces**

La teneur en matière sèche a été déterminée en déshydratant les échantillons dans une étuve à 105°C pendant 12h. La teneur en cendres a été déterminée en incinérant les échantillons dans un four à moufle chauffé à 550°C pendant 4 h, puis refroidissement dans un dessiccateur. La teneur en matières grasses a été déterminée par la méthode d'extraction de Folch. La teneur en protéines brutes de l'aliment a été estimée selon la méthode de distillation de Kjeldahl après digestion des échantillons à l'acide sulfurique (Kirk, 1950). Un facteur de conversion protéine/azote de 6,25 a été utilisé pour les échantillons d'aliments (Mariotti et al., 2008). Pour les régimes à base de prépuces de MSN, un facteur de conversion protéine/azote de 4,76 a été utilisé, comme suggéré par Janssen et al. (2017), afin d'éviter de surestimer la teneur en protéines en raison de la présence d'azote non protéique provenant de la chitine chez les insectes.

## **2.7 Activités des enzymes digestives**

Les échantillons d'estomac et d'intestin de quatre poissons par bassin (12 poissons par traitement) ont été homogénéisés dans 10 volumes (v/w) de PBS (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 20 mM, NaCl : 6mM, pH : 6.9). Les activités de la phosphatase alcaline intestinale (AP) et de l'aminopeptidase intestinale (N) ont été évaluées selon Bessey et al. (1946) en utilisant respectivement le p-nitrophényle phosphate (Sigma-Aldrich) et le p-nitroanalide de leucine (Sigma-Aldrich) comme substrats. L'activité de la trypsine intestinale a été évaluée selon Holm et al. (1988) et Métais (1968), telle que décrite par Gisbert et al. (2009). L'activité de l'amylase stomacale de l'extrait brut a été déterminée par la méthode de l'hydrolyse de l'amidon, décrite par Bernfeld (1951). L'activité de la pepsine de l'estomac a été évaluée en appliquant la méthode de Cuvier-Péres et Kestemont (2001).

### **2.7.1 Quantification des protéines des extraits enzymatiques**

Un dosage de protéines a été effectué par la méthode de Bradford (Bradford, 1976). Cette méthode consiste à utiliser l'albumine de sérum bovin pour établir une gamme étalon (2000 µg/ml) en protéines. Une courbe standard a été faite pour l'obtention d'une équation de régression linéaire qui nous a permis de calculer la teneur en protéines des échantillons. Les activités enzymatiques sont exprimées en activités spécifiques (U ou mU mg de protéine<sup>-1</sup>).

### **2.8 Mesure des paramètres immunitaires**

L'activité du lysozyme sérique (LA) a été déterminée selon le protocole d'Ellis (1990) adapté pour le tilapia du Nil. Trente microlitres de plasma ont été placés dans des puits de microplaques, et 100 µL de substrat de *Micrococcus luteus* (Schroeter, 1872) Cohn, 1872 fraîchement préparé (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA) (0,6 mg/mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,05 M, pH 6,2) ont été ajoutés en triplicat. L'absorbance correspondant à la lyse de *Micrococcus luteus* a été mesurée à 450 nm pendant 30 min à intervalles réguliers (5 min). Une unité (U) de lysozyme a été déterminée comme une diminution de l'absorbance de 0,001 par minute.

L'activité de la peroxydase totale (AP) dans le sérum a été mesurée selon Hossain et al. (2017), avec quelques modifications. De manière succincte, 5 µL de sérum ont été dilués avec 70 µL de solution saline équilibrée de Hank (HBSS) sans Ca<sup>+2</sup> ou Mg<sup>+2</sup> dans des plaques à 96 puits à fond plat. Ensuite, 25 µL de substrat de peroxydase (chlorhydrate de 3,3',5,5' tétraméthyl benzidine) (TMB ; ThermoScientific Inc., USA) a été ajouté. Le mélange de sérum a été incubé pendant 2 min. La réaction de développement de la couleur dans les échantillons de sérum a été arrêtée en ajoutant 25 µL d'acide sulfurique 4 M et la DO (450 nm) a été mesurée dans un lecteur de plaques. Le PBS a été utilisé comme blanc à la place du sérum.

L'activité alternative du complément hémolytique plasmatique (ACH50) a été évaluée selon Sunyer et Tort (1995), modifiée ultérieurement par Milla et al. (2010). Brièvement, 10 µL de suspension de globules rouges de lapin (RRBC, Biomerieux, Mary-l'Etoile, France) en suspension à 3 % dans un tampon véronal a été mélangé avec des dilutions sérielles de plasma (50 µL de volume total). L'hémolyse 100 % a été obtenue en ajoutant 60 µL d'eau distillée à 10µL de RRBC. Le contrôle négatif (eau fraîche) a été obtenu en ajoutant 60 µL de tampon véronal à 10 µL de RRBC. Les échantillons ont été incubés 100 min à 27 °C et centrifugés (3000×g, 5 min, 4 °C). Ensuite, 35 µL de surnageant a été transféré dans une nouvelle microplaque afin de mesurer l'absorbance à 405 nm. La valeur ACH50 a été définie comme l'inverse de la dilution du plasma qui a induit l'hémolyse de 50% des RRBC.

Le taux d'immunoglobuline totale (IgT) a été séparée du plasma par précipitation avec du polyéthylène glycol, comme décrit par Anderson et Siwicki (1995). Le plasma (0,1 ml) a été introduit dans des flacons de sérum en plastique et 0,1 ml de polyéthylène glycol à 12 % a été ajouté et incubé à température ambiante pendant 2 heures en mélangeant constamment. Après incubation, les solutions ont été centrifugées à 7000 g pendant 10 minutes. La teneur en protéines du surnageant a été déterminée en utilisant un kit de dosage des protéines. Le contenu total en immunoglobulines a été déterminé en soustrayant la teneur en protéines du surnageant à la teneur totale en protéines du plasma.

## **2.9 Traitement des données et analyses statistiques**

Les données ont été traitées grâce au Microsoft Excel 2016 et analysées à l'aide du logiciel statistique R version 3.5.1. Après vérification de l'homogénéité des variances, les moyennes ont été soumises à une analyse de la variance à 2 (jour  $\times$  substrat  $\times$ ) et à 3 facteurs (jour  $\times$  dose  $\times$  substrat) (ANOVA 2 et 3). Les différences entre les moyennes ont été considérées comme significatives à une valeur de  $p < 0,05$ .

## **3 Résultats**

### **3.1 Influence des régimes sur les paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire**

Les paramètres de croissance, d'utilisation alimentaire et de survie sont présentés dans le tableau 7 et les figures 2 à 3. Les paramètres de croissance (poids final, gain de poids relatifs et taux de croissance spécifique) ont significativement différé entre les poissons nourris avec la FMFO et ceux nourris avec les farines d'insectes quel que soit le substrat d'élevage des insectes utilisé (DVG et FOD). Une exception est cependant faite entre les poissons nourris avec le FMFO et ceux nourris avec FOD5 qui n'ont statistiquement présenté aucune différence significative. Les différents paramètres de croissance présentent une différence significative entre les jours J30 et J53.



Comme pour la croissance, un effet positif a été observé chez les poissons nourris avec le régime FOD5 car les valeurs de l'efficacité alimentaire et l'efficacité protéique étaient similaires à celles observées pour les poissons nourris avec la FMFO. En revanche, ceux nourris avec les autres farines d'insectes ont montré des valeurs significativement plus faibles comparativement avec les lots nourris le régime FMFO ou FOD 5. De manière générale, les poissons nourris avec les farines d'insectes n'ont pas présenté de différence pour la plupart des paramètres étudiés quel que soit le substrat d'élevage à l'exception du lot nourrit avec FOD5 qui a montré une différence significative avec les autres pour le poids final, l'efficacité alimentaire et l'efficacité protéique (annexe4). Les régimes n'ont eu aucun effet sur la prise alimentaire et la survie des poissons.

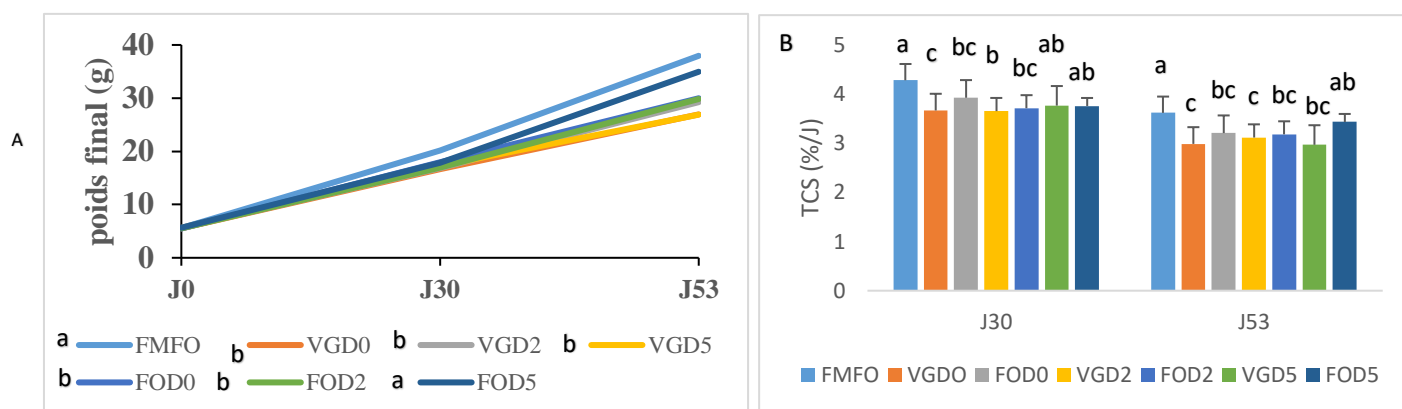


Figure 2 : Poids final (PF) et Taux de croissance spécifique (TCS) à J30 et J53 des juvéniles de Tilapia du Nil soumis aux différents régimes

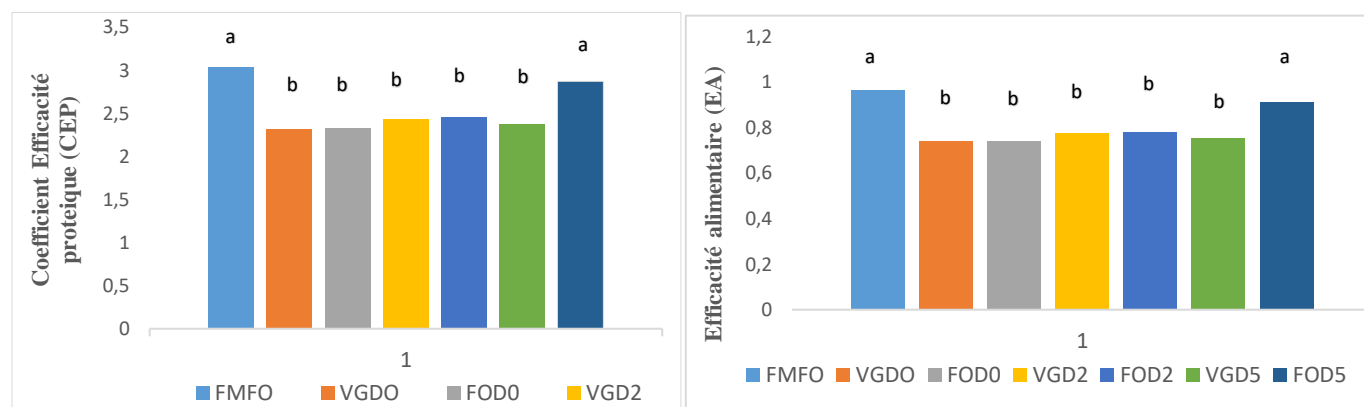


Figure 3 : Coefficient d'efficacité des protéines (CEP) et efficacité alimentaire (EA) des alevins de tilapia du Nil soumis aux différents régimes à J5

Tableau 6 : Performances de croissance, utilisation alimentaire et survie des juvéniles *d'Oreochromis niloticus* soumis aux différents régimes

Paramètres	FMFO	VGD0	VGD2	VGD5	FOD0	FOD2	FOD5
Poids initial (g)	5.59 ± 0.02	5.54 ± 0.06	5.61 ± 0.02	5.58 ± 0.02	5.50 ± 0.08	5.54 ± 0.02	5.65 ± 0.04
Gain de poids relatif (%)	579.20 ± 51.28 <sup>a</sup>	387.10 ± 47.10 <sup>c</sup>	420.99 ± 42.90 <sup>bc</sup>	382.16 ± 44.52 <sup>c</sup>	445.49 ± 18.44 <sup>bc</sup>	438.55 ± 34.59 <sup>bc</sup>	518.54 ± 81.30 <sup>ab</sup>
Prise alimentaire (g/poisson/jour)	0.63 ± 0.05	0.55 ± 0.03	0.58 ± 0.06	0.53 ± 0.02	0.63 ± 0.08	0.59 ± 0.06	0.61 ± 0.09
Survie (%)	88.88 ± 1.92	84.44 ± 6.94	90.00 ± 5.77	85.55 ± 1.92	82.22 ± 5.09	93.33 ± 8.82	91.11 ± 1.92

### 3.2 Effets des régimes sur la digestibilité

Les résultats de digestibilité sont présentés dans le tableau 7. La farine de MSN enrichie en AGLPIs a montré une tendance à la réduction des coefficients de digestibilité pour les trois nutriments analysés et quel que soit le type de substrat. En rapport avec l'enrichissement en chitinase, le coefficient de digestibilité de la matière sèche n'a montré aucune différence significative pour les différents régimes, à l'exception du lot nourri avec le VGD5 qui a présenté une réduction de la digestibilité ( $P=0,0004$ ) comparé aux autres groupes. Pour ce qui est du CDa des protéines, la même tendance est observée avec une réduction du CDa pour les farines enrichies en AGLPIs et des valeurs similaires pour les régimes ayant été supplémentés par la chitinase. Exception faite du lot nourri avec le VGD5 qui a présenté une réduction significative de la digestibilité. Le coefficient de digestibilité des lipides a présenté des valeurs élevées et n'a pas été significativement affecté par les différents régimes.

Tableau 7 : Coefficient de digestibilité apparente (CDa) des juvéniles *de Oreochromis niloticus* soumis aux différents régimes

Paramètres	FMFO	VGD0	VGD2	VGD5	FOD0	FOD2	FOD5
CDa(MS) (%)	72.62 ± 1.39 <sup>a</sup>	68.61 ± 2.24 <sup>a</sup>	67.21 ± 3.47 <sup>a</sup>	56.07 ± 0.74 <sup>b</sup>	70.80 ± 1.63 <sup>a</sup>	65.49 ± 5.25 <sup>a</sup>	71.52 ± 3.24 <sup>a</sup>
CDa(Protéine) (%)	87.61 ± 1.16 <sup>a</sup>	74.51 ± 3.15 <sup>ab</sup>	73.39 ± 8.70 <sup>ab</sup>	68.00 ± 9.54 <sup>b</sup>	80.78 ± 3.92 <sup>ab</sup>	79.89 ± 4.48 <sup>ab</sup>	86.04 ± 5.06 <sup>a</sup>
CDa(Lipide) (%)	95.75 ± 0.23	90.69 ± 2.98	92.21 ± 3.78	91.31 ± 7.50	88.72 ± 1.73	90.26 ± 4.93	89.52 ± 2.56

### **3.3 Activités des enzymes digestives**

Les données de l'activité des enzymes digestives de cette étude sont présentées dans le tableau 8 et la figure 4. L'activité de l'aminopeptidase à J30 a tendance à augmenter dans les régimes enrichis en AGLPIs, alors qu'elle présente des différences significatives entre les régimes enrichis en chitinase avec une valeur significativement faible pour le lot FOD5. À J53 on observe aucune différence significative entre les régimes. Avec cependant une activité qui a tendance à augmenter chez les poissons nourris au régime enrichi en AGLPIs et à réduire dans le groupe nourri avec un supplément de chitinase. La trypsine quant à elle a présenté à J30 une activité significativement faible dans les lots nourris aux régimes enrichis en AGLPIs comparé aux valeurs des lots ayant reçus des doses de chitinase. L'activité la plus élevée étant observée pour les poissons alimentés avec le régime FOD2. Toutefois, l'activité des lots nourris aux régimes riches en AGLPIs est restée similaire à celle du lot témoin (FMFO). À J53, la même tendance est observée avec une activité faible pour les régimes enrichis en AGLPIs comparativement à l'activité élevée observée dans les lots nourris avec l'aliment supplémenté par la chitinase. Une exception est cependant faite avec les poissons du lot nourri avec VGD5 qui présente une significativement faible par rapport au lot témoin. L'amylase, la pepsine et la phosphatase alcaline ont montré une activité similaire entre les poissons du lot témoin (FMFO) et ceux nourris avec la farine d'insectes. L'amylase a présenté une activité similaire aussi bien dans l'estomac que dans l'intestin, quel que soit le jour du prélèvement. Les régimes n'ont eu aucun effet sur l'activité de la trypsine.

Tableau 8 : Niveau d'activités des enzymes digestives des juvéniles du tilapia du Nil soumis à différents régimes alimentaire (30<sup>ème</sup> et 53<sup>ème</sup> jours de). Les valeurs sur une même ligne n'ayant pas la même lettre sont significativement différentes.

Paramètres	Jours	FMFO	VGD0	VGD2	VGD5	FOD0	FOD2	FOD5
Amylase intestin (U mg. Proteine-1)	J30	7,68±1,1 9	7,40±0,7 9	7,16±4,0 1	9,55±6,0 3	7,42±1,7 7	12,03±4, 30	4,74±4,4 5
	J53	8,83±7,7 4	6,09±5,5 2	8,28±1,8 3	6,06±3,5 8	6,41±1,3 2	8,44±2,3 0	7,93±2,8 8
Pepsine (mU mg. Proteine-1)	J30	85.24 ± 4.92ab	73.14 ± 10.63ab	71.68 ± 6.32ab	50.33 ± 4.86b	85.91 ± 31.60ab	96.46 ± 30.22ab	54.59 ± 8.61ab
	J53	115.05 ± 8.45a	97.49 ± 32.07ab	77.87 ± 28.17ab	92.18 ± 9.94ab	98.26 ± 38.41ab	94.84 ± 10.06ab	67.67 ± 21.46ab
Phosphatase alcaline (mU mg. Proteine-1)	J30	37,14±1 0,38ab	62,54±1 1,26a	53,71±1 6,95ab	48,96±1 2,41ab	27,33±1 2,51b	56,74±5, 61ab	48,61±1 9,69ab
	J53	35,96±1 3,41ab	46,46±5, 73ab	39,21±9, 01ab	32,55±1, 79ab	42,32±2, 52ab	31,69±8, 19ab	30,41±1 1,27ab

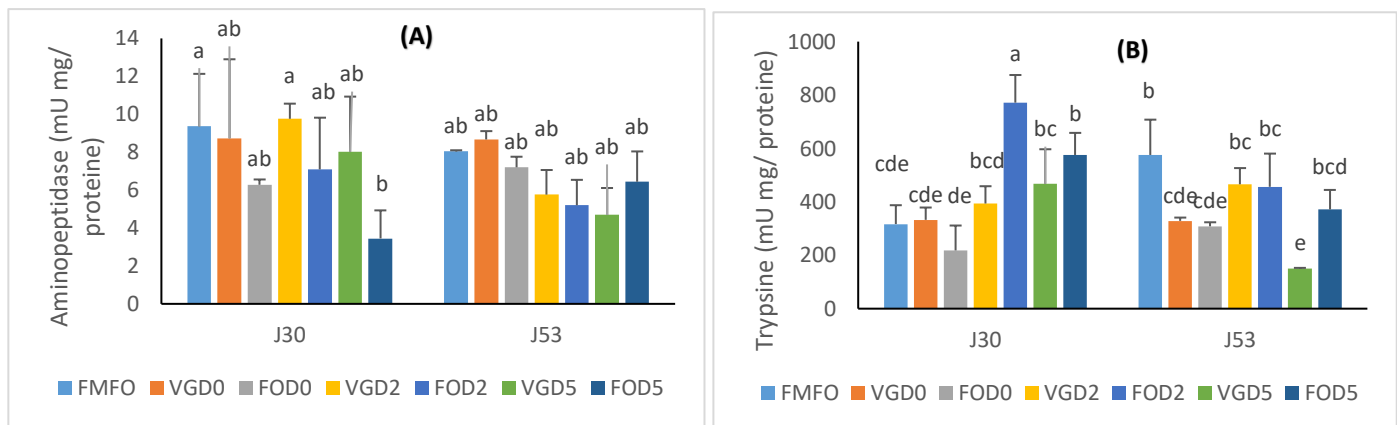


Figure 4 : Niveau d'activités de l'aminopeptidase et la trypsine chez les juvéniles de tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* à J30 et J53.

### 3.4 Paramètres immunitaires

Les paramètres immunitaires ont été évalués en mesurant le niveau sanguin (plasma ou sérum) de l'activité du lysozyme, du complément, de la peroxydase ainsi que les taux d'immunoglobulines totales (figure 5) après 30, 53 et 54 jours de nourrissage. Avant le challenge bactérien (J53), l'activité du lysozyme a tendance à être faible dans les lots nourris avec les régimes enrichis en AGLPIs. En rapport avec l'enrichissement à la chitinase, l'activité semble être élevée. Les poissons nourris au régime VGD5 montrent une différence significative pour l'activité du lysozyme avec les poissons du lot témoin. Après le challenge, (J54) les groupes nourris avec les régimes enrichis en AGLPIs sont significativement différents entre eux et le lot nourri avec FOD0 montre une différence significative avec le lot témoin (FMFO). Au sein des groupes nourris avec l'aliment enrichi en chitinase, on observe des différences significatives entre les lots VGD5 et FOD2, de même entre FOD5 et FOD2 et aussi entre FOD5 et VGD2.

Le complément à J30 ne montre pas de différence d'activité entre les lots enrichis en AGLPIs d'une part et les lots enrichis en AGLPIs + chitinase d'autre part. l'activité du complément est similaire pour les lots FMFO, FOD0, VGD0, VGD5 et FOD2 et FOD5. Toutefois, on a une activité qui tend à être élevée pour les poissons alimentés avec les régimes FOD2 et VGD2. A J53, aucune différence significative n'est observée entre l'activité des lots des différents régimes. Toutefois, on a une activité qui tend à augmenter pour les poissons du lot FMFO et ceux du lot FOD5. Après le challenge bactérien, (J54) on observe une différence significative

entre les poissons nourris au régime enrichi en AGLPIs (FOD0 et VGD0). De même au sein des lots supplémentés en chitinase on observe des différences significatives entre les activités des lots nourris à VGD2 et FOD2 également entre FOD5 et VGD5 et FOD5 et FOD2.

Avant le challenge bactérien, (J30) on observe aucune différence significative entre l'activité de la peroxydase des poissons des différents régimes. Toutefois l'activité tendant à être la plus élevée se trouve chez les poissons du régime VGD5, tandis que l'activité la plus faible est observée dans le lot témoin (FMFO). À J53, l'activité de la peroxydase est similaire dans tous les groupes. Après le challenge bactérien, on observe une augmentation de l'activité de manière générale. Les lots nourris avec les régimes enrichis en chitinase ont une activité similaire, tandis qu'entre les lots nourris avec les régimes enrichis en AGLPIs, on observe une différence significative d'activité entre les lots de FOD0 et ceux de VGD0. Cependant l'activité de dans tous les régimes reste similaire à celle du témoin.

Le taux des immunoglobulines totales n'a montré aucune différence significative chez les poissons avant le challenge bactérien aussi bien à J30 qu'à J53. Les taux dans les régimes à base des farines d'insectes sont restés similaires au taux du lot témoin. Après le challenge bactérien, on observe une augmentation du taux d'immunoglobulines totales. Les groupes nourris avec le régime enrichi en AGLPIs présentent des taux similaires qui ont tendance à être faible. De même, les lots alimentés avec les régimes enrichis à la chitinase montrent des taux similaires et ont tendance à être élevés. Les poissons du lot VGD0 présentent des taux significativement faibles par rapport au lot témoin, le reste de régime présente des taux similaires à celui du lot témoin.

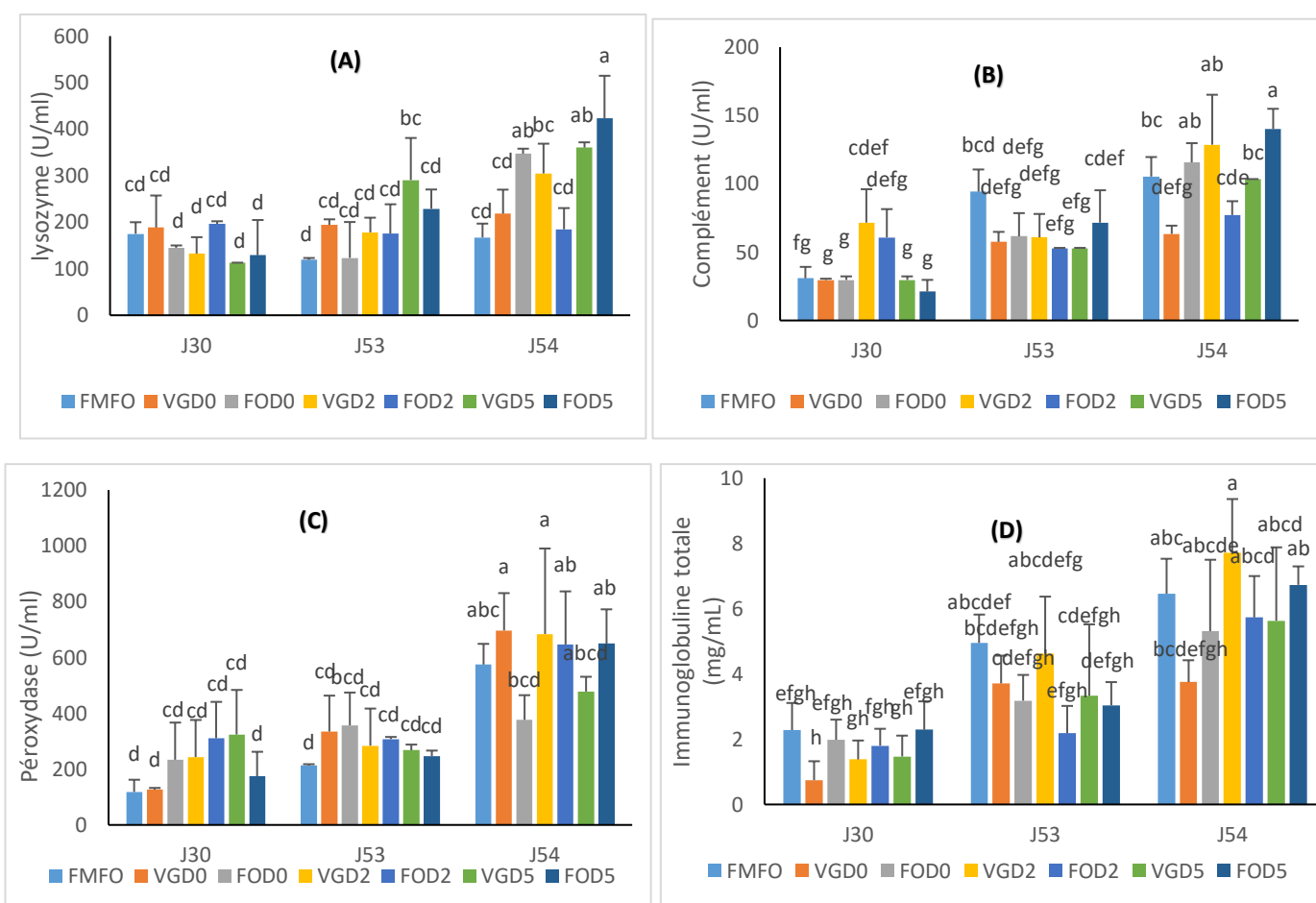


Figure 5 : Paramètres immunitaires (A : activité du lysozyme, B : activité du complément, C : activité de la peroxydase, D : taux d'immunoglobuline totale) chez *Oreochromis niloticus* soumis à différent régimes alimentaire. Les rectangles ne portant pas la même lettre au sein du même graphique sont significativement différents.

## 4 Discussion

### 4.1 Effets des différents régimes sur les paramètres de croissance

Le poids final des poissons nourris avec les farines d'insectes supplémentée avec 5g/kg de chitinase (FOD5) a montré une valeur significativement élevée ( $p < 0.05$ ) par rapport au témoin (FOD0). De même, Le taux de croissance spécifique des poissons du lot FOD5 a montré une valeur similaire à celui des poissons du lot témoin (FMFO), tandis cette valeur est significativement plus élevée que celui des poissons du lot FOD0. Ces résultats indiquent un effet positif de la chitinase sur la croissance. La même tendance est observée pour l'efficacité alimentaire et l'efficacité protéique des poissons nourris avec FOD5, qui présentent tous deux des valeurs significativement élevées par rapport au témoin à la chitinase (FOD0). Zhang et al. (2013) a obtenu une augmentation du poids final chez le Tilapia en supplémentant avec une dose de 16,2U/kg de chitinase dans l'alimentation. De même, des doses de 1, 3 et 5g/kg de nanoparticules de chitosan ont montré une augmentation linéaire de la croissance chez *Oreochromis niloticus* (Abd El-Naby et al., 2019). L'effet positif observé dans notre étude et les travaux antérieurs pourrait s'expliquer par le fait que les poissons nourris avec le régime contenant 5g/kg de chitinase et riche en ALA + EPA, ont tirés profit de la dégradation de la chitine. Le profil en ALA et EPA aurait favorisé le métabolisme et l'action de la chitinase. Une étude a montré que la plupart des poissons pouvaient directement absorber le *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosamine (Peres et al., 1973) qui est un composé dérivé de la chitine.

#### 4.1.1 Digestibilité

Dans l'ensemble les lots soumis aux régimes à base de farines d'insectes enrichies en AGLPIs et supplémentée par de la chitinase ont montré une digestibilité similaire au lot témoin (FMFO), indépendamment de la dose de chitinase supplémentée.

La digestibilité de la matière sèche a montré une tendance à la réduction chez les poissons nourris avec les farines de larves de MSN enrichis en AGLPIs comparé au lot témoin. Ce résultat corrobore les études d'Agbohessou et al. (2021) qui ont obtenu une réduction de la digestibilité chez les juvéniles de Tilapia du nil *Oreochromis niloticus* nourri avec les farines de larves de MSN enrichies en AGLPIs.

Les poissons nourris avec le régime FOD5 ont présenté une digestibilité des protéines et de la matière sèche similaire à celle des poissons du lot témoin (FMFO), tandis qu'on observe une tendance à la réduction de cette digestibilité chez les poissons nourris au régime FOD0. Ce résultat montre à nouveau l'effet positif de l'enrichissement en AGLPIs et en chitinase sur la



digestibilité. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que l'action de dégradation de la chitine par la chitinase combinée à celle des AGLPIs qui favorisent la fluidité membranaire (Spector et Burns, 1987 ; Calder et al., 1992 ; Yang et al., 2011) pourrait améliorer l'absorption des nutriments au niveau de l'intestin.

Contrairement au régime FOD5, le régime VGD5 a induit une baisse significative de la digestibilité de ma matière sèche comparé aux témoins (FMFO et VGD0). Le même groupe de poissons (VGD5) montre une diminution de la digestibilité des protéines comparé au groupe nourri avec la farine et l'huile de poisson (FMFO). La dose de chitinase chez les poissons nourris au régime VGD5 auraient peut-être permis l'hydrolyse du contenu plus important de chitine contenue dans le substrat végétal ; ainsi les produits d'hydrolyse de la chitine auraient ralenti le métabolisme et inhiber l'absorption des nutriments dans l'intestin des poissons. Shiau et Yu (1999) ont rapporté que la supplémentation en chitosan alimentaire réduit la digestibilité des protéines et de la matière sèche chez tilapia hybride (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) quel que soit le niveau de supplémentation.

#### **4.1.2 Niveau d'activités des enzymes digestives**

L'activité de l'aminopeptidase a montré de manière générale une tendance à augmenter dans les groupes nourris avec les régimes enrichis en AGLPIs et à réduire chez les poissons dont le régime a été supplémenté par la chitinase. Ce résultat pourrait être lié à la faible digestibilité observée dans le groupe nourri avec le régime enrichi en AGLPIs. En effet, des travaux ont montré que la digestibilité des protéines et ou des acides aminés chez des poissons nourris à base de farine d'insecte était lié à la quantité d'acides aminés liée à la chitine ou à la scléroprotéine qui est le principal constituant de la cuticule des insectes. (Finke, 2007 ; Becker et Yu, 2013).

La trypsine a montré une activité élevée à J30 chez les poissons nourris aux régimes FOD2 et FOD5. Cette augmentation d'enzyme protéolytique pourrait être dû à la présence d'une quantité élevée de protéine dans l'intestin des poissons de ce groupe. En effet, la chitinase à des doses de 2 et 5g/kg aurait dégradé la chitine et libéré les protéines encastées dans cette molécule.

#### **4.3. Effets des régimes sur le statut immunitaire**

L'effet des régimes sur le statut immunitaire a été évalué dans cette étude en mesurant les niveaux sanguin (plasma ou sérum) du lysozyme, du complément, de la peroxydase ainsi que des immunoglobulines totales. Dans cette étude, une injection intrapéritonéale de 0,1 ml de LPS

pur provenant d'*Escherichia coli* 055 a été utilisé pour stimuler le système immunitaire des poissons.

Les résultats nous montrent que l'activité du lysozyme à J53 chez les poissons alimentés avec le régime enrichi en AGLPIs est similaire à l'activité des poissons du lot témoin (FMFO), avec toutefois une tendance à l'augmentation. Tandis que les lots nourris avec le régime supplémenté en chitinase montrent une activité qui tend à augmenter dans l'ensemble, avec le lot VGD5 qui montre une augmentation d'activité significative comparé au lot témoin. On constate de manière générale que les farines de MSN enrichies en AGLPIs stimulent l'activité du lysozyme et l'action de la chitinase viendrait augmenter cet effet. La farine de BSF semble être une source de peptides antimicrobiens, qui sont des fractions biologiquement actives contre les bactéries pathogènes (Park et al., 2014 ; Jozefiak et Engberg, 2017). L'augmentation de l'activité du lysozyme par supplémentation du COS a été rapporté chez plusieurs espèces : *Trachinotus ovatus*. (Lin et., 2012a) ; la carpe koi *Cyprinus carpio* (Lin et., 2012b) et *Micropterus salmoides* (Lin et., 2017). Après le challenge bactérien au LPS, on observe une augmentation de l'activité du lysozyme des poissons nourris aux régimes FOD0, VGD2, VGD5 et FOD5 comparé au lot témoin (FMFO). Ce qui montre une amélioration de la résistance aux infections. Lin et al. (2012b) ont obtenu le même résultat en supplémentant 0,125g/kg de chito-oligosaccharide (COS) chez la carpe koï. De même, l'augmentation de l'activité du lysozyme après challenge bactérien chez les poissons du lot témoin à la chitinase (FOD0) ne nous laisse pas penser à un éventuel effet de la chitinase sur la résistance aux pathogènes des poissons. Cette augmentation pourrait être dû à la farine de MSN enrichie en AGLPIs.

La survie des poissons est restée élevée durant l'étude. Les régimes expérimentaux n'ont pas eu d'effet sur ce paramètre. Ce qui impliquerait une bonne résistance de l'ensemble des poissons quel que soit le type de régime auquel ils sont soumis.

## **5 Conclusion et perspectives**

Les résultats de l'étude ont révélé que la croissance et l'utilisation alimentaire pourraient être améliorées par la supplémentation de la chitinase dans un régime à base de farine de MSN enrichie en AGLPIs indépendamment de la dose utilisée. Toutefois, la dose de 5g/kg semble avoir des effets plus prononcés. Ainsi, la supplémentation à des doses appropriées est nécessaire pour favoriser la croissance et l'utilisation alimentaire. De même, l'activité des enzymes digestives a suivi une tendance similaire à celle de la croissance. Des effets de la supplémentation de la chitinase ont été observés sur l'activité de l'aminopeptidase et la trypsine. Cependant, les effets sur le système immunitaire ne se sont pas clairement révélés dans cette étude dû au fait que les farines de MSN enrichies en AGLPIs à eux seules stimulaient déjà le système immunitaire à des niveaux considérables. Afin d'optimiser l'utilisation de la chitinase dans l'alimentation des poissons, des études devraient être menées sur

- Les mécanismes d'action des chitinases dans le tube digestif des poissons ;
- La contribution des chitinases exogènes dans le processus de dégradation de la chitine.
- L'investigation d'autres fonctions immunitaires.

## Références bibliographiques

- Abd El-Naby, Fatma S., Mohammed A. E. Naiel, Adham A. Al-Sagheer, et Samar S. Negm. 2019. « Dietary Chitosan Nanoparticles Enhance the Growth, Production Performance, and Immunity in *Oreochromis Niloticus* ». *Aquaculture* 501 (février): 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.014>.
- Adam Mariod, Abdalbasit, éd. 2020. *African Edible Insects As Alternative Source of Food, Oil, Protein and Bioactive Components*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-32952-5>.
- Agbohessou, Pamphile S., Syaghalirwa N. M. Mandiki, Armel Goughédji, Rudy Caparros Megido, Md Sakhawat Hossain, Pauline De Jaeger, Yvan Larondelle, Frédéric Francis, Philippe A. Lalèyè, et Patrick Kestemont. 2021. « Total Replacement of Fish Meal by Enriched-Fatty Acid *Hermetia Illucens* Meal Did Not Substantially Affect Growth Parameters or Innate Immune Status and Improved Whole Body Biochemical Quality of Nile Tilapia Juveniles ». *Aquaculture Nutrition* 27 (3): 880-96. <https://doi.org/10.1111/anu.13232>.
- Agbohessou, Pamphile S., Syaghalirwa N. M. Mandiki, Armel Goughédji, Rudy Caparros Megido, Lil-Marlys W. Lima, Valérie Cornet, Jérôme Lambert, et al. 2021. « Efficiency of Fatty Acid-Enriched Dipteran-Based Meal on Husbandry, Digestive Activity and Immunological Responses of Nile Tilapia *Oreochromis Niloticus* Juveniles ». *Aquaculture* 545 (décembre): 737193. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737193>.
- Alegbeleye, Wilfred O., Sam O. Obasa, Olugbenga O. Olude, Kehinde Otubu, et Wahab Jimoh. 2012. « Preliminary Evaluation of the Nutritive Value of the Variegated Grasshopper (*Zonocerus Variegatus* L.) for African Catfish *Clarias Gariepinus* (Burchell. 1822) Fingerlings ». *Aquaculture Research* 43 (3): 412-20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02844.x>.
- Alli, Rajshekhar, Balasubramanian Savithri, Suvendu Das, Chavvakula Varalakshmi, Nandini Rangaraj, et Ashok Khar. 2004. « Involvement of NKR-P2/NKG2D in DC-Mediated Killing of Tumor Targets: Indicative of a Common, Innate, Target-Recognition Paradigm? » *European Journal of Immunology* 34 (4): 1119-26. <https://doi.org/10.1002/eji.200324793>.
- Arru, Brunella, Roberto Furesi, Laura Gasco, Fabio A. Madau, et Pietro Pulina. 2019. « The Introduction of Insect Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming ». *Sustainability* 11 (6): 1697. <https://doi.org/10.3390/su11061697>.
- Ayoola, Ayuub. 2010. « Replacement of Fishmeal with Alternative Protein Source in Aquaculture Diets ». <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31506.81606>.
- Barragan-Fonseca, K.B., M. Dicke, et J.J.A. van Loon. 2017. « Nutritional Value of the Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens* L.) and Its Suitability as Animal Feed – a Review ». *Journal of Insects as Food and Feed* 3 (2): 105-20. <https://doi.org/10.3920/JIFF2016.0055>.
- Becker, P. M., & Yu, P. (2013). What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(10), 1695–1707
- B. Hoc, G. Noel, J. Carpentier, F. Francis, R.C. Megido, Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction, *PloS One* 14 (2019) 1–13, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216160>.

Biller-Takahashi, J. D., et E. Urbinati. 2014. « Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. » *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*.

« Boyd C.E., McNevin A.A. Aquaculture, Resource Use, and the Environment [PDF] ». s. d. Consulté le 17 juillet 2021. <https://sciarium.com/file/144570/>.

Burel, Christine, et Françoise Médale. 2014. « Quid de l'utilisation des protéines d'origine végétale en aquaculture ? » *OCL* 21 (4): D406. <https://doi.org/10.1051/ocl/2014013>.

CAHU, C. 2004. « Domestication et fonction nutrition chez les poissons ». *INRAE Productions Animales* 17 (3): 205-10. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2004.17.3.3593>.

Carcelain, Guislaine, Alain Chevailler, Sylvie Fournel, Brigitte Gubler, Jean-Daniel Lelièvre, Estelle Seillès, Joana Vitte, et Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française. 2018. *Immunologie fondamentale et immunopathologie : enseignements thématique et intégré : tissu lymphoïde et sanguin, immunopathologie et immuno-intervention / coordonné par Guislaine Carcelain, Alain Chevailler, Sylvie Fournel, ... [et al.]; [publié par l'] ASSIM, Collège des enseignants d'immunologie*. Les cours de DFGSM 2-3 médecine. Issy-les-Moulineaux Elsevier-Masson DL 2018.

Dumas, André, Thiago Raggi, Justin Barkhouse, Elizabeth Lewis, et Erika Weltzien. 2018. « The Oil Fraction and Partially Defatted Meal of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia Illucens*) Affect Differently Growth Performance, Feed Efficiency, Nutrient Deposition, Blood Glucose and Lipid Digestibility of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Aquaculture* 492 (juillet): 24-34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.038>.

Elhag, Osama, Dingzhong Zhou, Qi Song, Abdul Aziz Soomro, Minmin Cai, Longyu Zheng, Ziniu Yu, et Jibin Zhang. 2017. « Screening, Expression, Purification and Functional Characterization of Novel Antimicrobial Peptide Genes from *Hermetia Illucens* (L.) ». *PloS One* 12 (1): e0169582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169582>.

Ellis, A. E. 2001. « Innate Host Defense Mechanisms of Fish against Viruses and Bacteria ». *Developmental & Comparative Immunology* 25 (8): 827-39. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00038-6).

Engin, Kenan, et Chris Guy Carter. 2005. « Fish Meal Replacement by Plant and Animal By-Products in Diets for the Australian Short-Finned Eel, *Anguilla Australis Australis* (Richardson) ». *Aquaculture Research* 36 (5): 445-54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01224.x>.

FAO, éd. 2016. *Contributing to Food Security and Nutrition for All*. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Rome.

———, éd. 2018. *Meeting the Sustainable Development Goals*. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Rome.

Fines, B.C., et G.J. Holt. 2010. « Chitinase and Apparent Digestibility of Chitin in the Digestive Tract of Juvenile Cobia, *Rachycentron Canadum* ». *Aquaculture* 303 (1-4): 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.010>.

Finke, M. D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association, 26(2), 105–115.

- Finke, Mark D. 2015. « Complete Nutrient Content of Four Species of Commercially Available Feeder Insects Fed Enhanced Diets during Growth ». *Zoo Biology* 34 (6): 554-64. <https://doi.org/10.1002/zoo.21246>.
- Francis, George, Harinder P.S Makkar, et Klaus Becker. 2001. « Antinutritional Factors Present in Plant-Derived Alternate Fish Feed Ingredients and Their Effects in Fish ». *Aquaculture* 199 (3-4): 197-227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9).
- Fronte, Baldassare, Francesca Abramo, Fabio Brambilla, Mahanama De Zoysa, et Vincenzo Miragliotta. 2019. « Effect of hydrolysed fish protein and autolysed yeast as alternative nitrogen sources on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth performances and gut morphology ». *Italian Journal of Animal Science* 18 (1): 799-808. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1581584>.
- Gadde, U., W. H. Kim, S. T. Oh, et Hyun S. Lillehoj. 2017. « Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review ». *Animal Health Research Reviews* 18 (1): 26-45. <https://doi.org/10.1017/S1466252316000207>.
- Gatlin, Delbert M., Frederic T. Barrows, Paul Brown, Konrad Dabrowski, T. Gibson Gaylord, Ronald W. Hardy, Eliot Herman, et al. 2007. « Expanding the Utilization of Sustainable Plant Products in Aquafeeds: A Review ». *Aquaculture Research* 38 (6): 551-79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Glencross, B. D., M. Booth, et G. L. Allan. 2007. « A Feed Is Only as Good as Its Ingredients – a Review of Ingredient Evaluation Strategies for Aquaculture Feeds ». *Aquaculture Nutrition* 13 (1): 17-34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x>.
- Gomes, Emídio F., Paulo Rema, et Sadasivam J. Kaushik. 1995. « Replacement of Fish Meal by Plant Proteins in the Diet of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*): Digestibility and Growth Performance ». *Aquaculture* 130 (2): 177-86. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00211-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00211-6).
- Gómez Candela, C., L. M. Bermejo López, et V. Loria Kohen. 2011. « Importance of a Balanced Omega 6/Omega 3 Ratio for the Maintenance of Health: Nutritional Recommendations ». *Nutricion Hospitalaria* 26 (2): 323-29. <https://doi.org/10.1590/S0212-16112011000200013>.
- Henry, M., L. Gasco, G. Piccolo, et E. Fountoulaki. 2015. « Review on the Use of Insects in the Diet of Farmed Fish: Past and Future ». *Animal Feed Science and Technology* 203 (mai): 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>.
- Herbomel, P., B. Thisse, et C. Thisse. 1999. « Ontogeny and behaviour of early macrophages in the zebrafish embryo ». *Development* 126 (17): 3735-45. <https://doi.org/10.1242/dev.126.17.3735>.
- Hu, Yajun, Yanhua Huang, Tao Tang, Lei Zhong, Wuying Chu, Zhenyan Dai, Kaijian Chen, et Yi Hu. 2020. « Effect of Partial Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens* L.) Larvae Meal Replacement of Fish Meal in Practical Diets on the Growth, Digestive Enzyme and Related Gene Expression for Rice Field Eel (*Monopterus Albus*) ». *Aquaculture Reports* 17 (juillet): 100345. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100345>.
- Hua, Katheline, Jennifer M. Cobcroft, Andrew Cole, Kelly Condon, Dean R. Jerry, Arnold Mangott, Christina Praeger, et al. 2019. « The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets ». *One Earth* 1 (3): 316-29. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>.
- Huang, Chao, Weiliang Feng, Jing Xiong, Teilin Wang, Weiguo Wang, Cunwen Wang, et Fang Yang. 2019. « Impact of Drying Method on the Nutritional Value of the Edible Insect Protein from Black

Soldier Fly (*Hermetia Illucens* L.) Larvae: Amino Acid Composition, Nutritional Value Evaluation, in Vitro Digestibility, and Thermal Properties ». *European Food Research and Technology* 245 (1): 11-21. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3136-y>.

Huchette, S. M. H, et M. C. M Beveridge. 2003. « Technical and Economical Evaluation of Periphyton-Based Cage Culture of Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) in Tropical Freshwater Cages ». *Aquaculture* 218 (1): 219-34. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00414-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00414-3).

Huis, Arnold van. 2013. *Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security*. FAO Forestry Paper 171. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Karasuda, Shuji, Kosuke Yamamoto, Michiko Kono, Shohei Sakuda, et Daizo Koga. 2004. « Kinetic Analysis of a Chitinase from Red Sea Bream, *Pagrus Major* ». *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 68 (6): 1338-44. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.1338>.

Khoushab, Feisal, et Montarop Yamabhai. 2010. « Chitin Research Revisited ». *Marine Drugs* 8 (7): 1988-2012. <https://doi.org/10.3390/md8071988>.

Klahan, Rungkan, Nontawith Areechon, Ruangvit Yoonpundh, et Arunee Engkagul. 2009. « Characterization and Activity of Digestive Enzymes in Different Sizes of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus* L.) ». *Agriculture and Natural Resources* 43 (1): 143-53.

Kroeckel, S., A. -G. E. Harjes, I. Roth, H. Katz, S. Wuertz, A. Susenbeth, et C. Schulz. 2012. « When a Turbot Catches a Fly: Evaluation of a Pre-Pupae Meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) as Fish Meal Substitute — Growth Performance and Chitin Degradation in Juvenile Turbot (*Psetta Maxima*) ». *Aquaculture* 364-365 (octobre): 345-52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>.

Leduc, Alexandre, Céline Zatylny-Gaudin, Marie Robert, Erwan Corre, Gildas Le Corguille, Hélène Castel, Antoine Lefevre-Scelles, et al. 2018. « Dietary aquaculture by-product hydrolysates: impact on the transcriptomic response of the intestinal mucosa of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed low fish meal diets ». *BMC Genomics* 19 (1): 396. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4780-0>.

Lee, Kyeong-Jun, Samad Rahimnejad, Madison S. Powell, Frederick T. Barrows, Scott Smiley, Peter J. Bechtel, et Ronald W. Hardy. 2015. « Salmon Testes Meal as a Functional Feed Additive in Fish Meal and Plant Protein-Based Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum) and Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus* L.) Fry ». *Aquaculture Research* 46 (7): 1590-96. <https://doi.org/10.1111/are.12313>.

Li, Qing, Longyu Zheng, Ning Qiu, Hao Cai, Jeffery K. Tomberlin, et Ziniu Yu. 2011. « Bioconversion of Dairy Manure by Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) for Biodiesel and Sugar Production ». *Waste Management* 31 (6): 1316-20. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005>.

Liland, Nina S., Irene Biancarosa, Pedro Araujo, Daan Biemans, Christian G. Bruckner, Rune Waagbø, Bente E. Torstensen, et Erik-Jan Lock. 2017. « Modulation of Nutrient Composition of Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) Larvae by Feeding Seaweed-Enriched Media ». *PLOS ONE* 12 (8): e0183188. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183188>.

Lock, E. R., T. Arsiwalla, et R. Waagbø. 2016. « Insect Larvae Meal as an Alternative Source of Nutrients in the Diet of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Postsmolt ». *Aquaculture Nutrition* 22 (6): 1202-13. <https://doi.org/10.1111/anu.12343>.

- Luquet, Pierre, et Yann Moreau. 1989. « Energy : protein management by some warmwater finfishes » 9 (janvier).
- Makkar, Harinder, Gilles Tran, Valérie Heuzé, et Philippe Ankers. 2014. « State-of-the-art on use of insects as animal feed ». *Animal Feed Science and Technology* 197 (novembre). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- Marono, Stefania, Giovanni Piccolo, Rosa Loponte, Carmelo Di Meo, Youssef A. Attia, Antonino Nizza, et Fulvia Bovera. 2015. « *In Vitro* Crude Protein Digestibility of *Tenebrio Molitor* and *Hermetia Illucens* Insect Meals and Its Correlation with Chemical Composition Traits ». *Italian Journal of Animal Science* 14 (3): 3889. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3889>.
- Meneguz, Marco, Achille Schiavone, Francesco Gai, Andrea Dama, Carola Lussiana, Manuela Renna, et Laura Gasco. 2018. « Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly ( *Hermetia illucens* ) larvae: Rearing substrate effects on performance and nutritional composition of black soldier fly ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98 (mai). <https://doi.org/10.1002/jsfa.9127>.
- Merino, Gorka, Manuel Barange, Julia L. Blanchard, James Harle, Robert Holmes, Icarus Allen, Edward H. Allison, et al. 2012. « Can Marine Fisheries and Aquaculture Meet Fish Demand from a Growing Human Population in a Changing Climate? » *Global Environmental Change* 22 (4): 795-806. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2012.03.003>.
- Miles, R.D, et F.A. Chapman. 2006. « View of The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets | EDIS ». 2006. <https://journals.flvc.org/edis/article/view/115917/114118>.
- Mondal, K., Kaviraj A, Mukhopadhyay P.k, Datta M, et Sengupta C. 2007. « Evaluation of Fermented Fish Offal in Formulated Diet of the Indian Major Carp, Rohu, Labeo Rohita [Hamilton] ». *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 2 (37): 99-105.
- Moniruzzaman, Mohammad, Jim Hyacinth Damusaru, Seonghun Won, Seong-Jun Cho, Kyung Hoon Chang, et Sungchul C. Bai. 2020. « Effects of Partial Replacement of Dietary Fish Meal by Bioprocessed Plant Protein Concentrates on Growth Performance, Hematology, Nutrient Digestibility and Digestive Enzyme Activities in Juvenile Pacific White Shrimp, *Litopenaeus Vannamei* ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100 (3): 1285-93. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10141>.
- Naylor, R. L., R. W. Hardy, D. P. Bureau, A. Chiu, M. Elliott, A. P. Farrell, I. Forster, et al. 2009. « Feeding Aquaculture in an Era of Finite Resources ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (36): 15103-10. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905235106>.
- Newton, Larry, D. Sheppard, D. Watson, Gary Burtle, C. Dove, Jeffery Tomberlin, et E. Thelen. 2005. « The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool », janvier.
- Nishshanka, Krishni Manesha, Kumudu Radampola, et Vajira Bulugahapitiya. 2021. « Effects of partial replacement of dietary fishmeal using plant-protein sources on the growth performance, coloration and liver histology of guppy fry (*poecilia reticulata*) in outdoor farming conditions ». *Journal of Applied Aquaculture* 0 (0): 1-19. <https://doi.org/10.1080/10454438.2021.1886216>.
- Olsen, Ragnar L., et Mohammad R. Hasan. 2012. « A Limited Supply of Fishmeal: Impact on Future Increases in Global Aquaculture Production ». *Trends in Food Science & Technology* 27 (2): 120-28. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.003>.



- PRIYADARSHANA, MANIYANGAMAGE, CHAMINDA RUWANDEEPIKA, NAVEENAN MANOHARAN, MANJULA MAGAMAGE, et Darshanee Ruwandeepika. 2021. « Substitution of Fishmeal with Black Soldier Fly *Hermetia illucens* Linnaeus, 1758 Larvae in Finfish Aquaculture -A Review ». *Asian Fisheries Science* 34 (juin). <https://doi.org/10.33997/j.afs.2021.34.2.001>.
- Ramos-Elorduy, Julieta. 1997. « Insects: A sustainable source of food? » *Ecology of Food and Nutrition* 36 (2-4): 247-76. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991519>.
- Rebl, Alexander, et Tom Goldammer. 2018. « Under Control: The Innate Immunity of Fish from the Inhibitors' Perspective ». *Fish & Shellfish Immunology* 77 (juin): 328-49. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.016>.
- Rema, Paulo, Subramanian Saravanan, Benjamin Armenjon, Constant Motte, et Jorge Dias. 2019. « Graded Incorporation of Defatted Yellow Mealworm (*Tenebrio Molitor*) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Diet Improves Growth Performance and Nutrient Retention ». *Animals* 9 (4): 187. <https://doi.org/10.3390/ani9040187>.
- Rinaudo, Marguerite. 2006. « Chitin and Chitosan: Properties and Applications ». *Progress in Polymer Science* 31 (7): 603-32. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.
- Ringø, E., Z. Zhou, R. E. Olsen, et S. K. Song. 2012. « Use of Chitin and Krill in Aquaculture – the Effect on Gut Microbiota and the Immune System: A Review ». *Aquaculture Nutrition* 18 (2): 117-31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00919.x>.
- Rombout, J. H. W. M., H. B. T. Huttenhuis, S. Picchiatti, et G. Scapigliati. 2005. « Phylogeny and Ontogeny of Fish Leucocytes ». *Fish & Shellfish Immunology*, Fish Larval immunity, 19 (5): 441-55. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.007>.
- salah, Azaza, Mensi Fethi, Ibrahim Toko, Mohamed Dhraief, A Abdelmouleh, B Brini, et M.M. Kraïem. 2006. « Effets de l'incorporation de la farine de tomate dans l'alimentation du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*, L., 1758) en élevage dans les eaux géothermales du sud tunisien ». *Bull Inst Nat Sci Tech Mer* 33 (janvier).
- Sealey, Wendy M., T. Gibson Gaylord, Frederic T. Barrows, Jeffery K. Tomberlin, Mark A. McGuire, Carolyn Ross, et Sophie St-Hilaire. 2011. « Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia Illucens* ». *Journal of the World Aquaculture Society* 42 (1): 34-45. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00441.x>.
- Secombes, Chris. 2016. « What's new in fish cytokine research? » *Fish & Shellfish Immunology* 53 (mars). <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.035>.
- Silva, S. S. de, et T. A. Anderson. 1994. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Springer Science & Business Media.
- St-Hilaire, Sophie, Craig Sheppard, Jeffery K. Tomberlin, Stephen Irving, Larry Newton, Mark A. McGuire, Erin E. Mosley, Ronald W. Hardy, et Wendy Sealey. 2007. « Fly Prepupae as a Feedstuff for Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss* ». *Journal of the World Aquaculture Society* 38 (1): 59-67. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x>.
- Tharanathan, Rudrapatnam, et Farooqahmed Kittur. 2003. « Chitin — The Undisputed Biomolecule of Great Potential ». *Critical reviews in food science and nutrition* 43 (janvier): 61-87. <https://doi.org/10.1080/10408690390826455>.

- Toriz-Roldan, Alberto, Jaime Ruiz-Vega, Manuel García-Ulloa, Alfredo Hernández-Llamas, Jorge Fonseca-Madrigal, et Hervey Rodríguez-González. 2019. « Assessment of Dietary Supplementation Levels of Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*1, Pre-Pupae Meal for Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* ». *Southwestern Entomologist* 44 (1): 251-59. <https://doi.org/10.3958/059.044.0127>.
- Tort, Lluís. 2011. « Stress and Immune Modulation in Fish ». *Developmental and Comparative Immunology* 35 (12): 1366-75. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.07.002>.
- Wan, Alex H.L., Simon J. Davies, Anna Soler-Vila, Richard Fitzgerald, et Mark P. Johnson. 2019. « Macroalgae as a Sustainable Aquafeed Ingredient ». *Reviews in Aquaculture* 11 (3): 458-92. <https://doi.org/10.1111/raq.12241>.
- Wang, Guoxia, Kai Peng, Junru Hu, Cangjin Yi, Xiaoying Chen, Haomin Wu, et Yanhua Huang. 2019. « Evaluation of Defatted Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae Meal as an Alternative Protein Ingredient for Juvenile Japanese Seabass (*Lateolabrax japonicus*) Diets ». *Aquaculture* 507 (mai): 144-54. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.023>.
- Wang, Tiehui, et Christopher J. Secombes. 2013. « The Cytokine Networks of Adaptive Immunity in Fish ». *Fish & Shellfish Immunology* 35 (6): 1703-18. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.08.030>.
- Zhang, Yuting, Zhigang Zhou, Yuchun Liu, Yanan Cao, Suxu He, Fengmin Huo, Chubin Qin, Bin Yao, et Einar Ringø. 2014. « High-Yield Production of a Chitinase from *Aeromonas Veronii* B565 as a Potential Feed Supplement for Warm-Water Aquaculture ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 98 (4): 1651-62. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5023-6>.
- Yano, T., 1996. The non-specific immune system: humoral defense. In: Iwama, G., Nakanishi, T., 1996. The fish immune system, organism, pathogen and environment. Vol. 15 of fish Physiology series, Academic Press, California, pp.105-157
- Yoshida, Y., Sera, H., 1970. On Chitinolytic Activities in the Digestive Tracts of Several Species of Fishes and the Mastication and Digestion of Foods by them. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI* 86, 751–754. <https://doi.org/10.2331/suisan.36.751>
- Zhang, Yuting, Zhigang Zhou, Yuchun Liu, Yanan Cao, Suxu He, Fengmin Huo, Chubin Qin, Bin Yao, et Einar Ringø. 2014. « High-Yield Production of a Chitinase from *Aeromonas Veronii* B565 as a Potential Feed Supplement for Warm-Water Aquaculture ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 98 (4): 1651-62. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5023-6>.
- Zhou, J.S., Liu, S.S., Ji, H., Yu, H.B. 2018. Effect of replacing dietary fishmeal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition* 24:424–433. <https://doi.org/10.1111/anu.12574>

