

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Acuicultura**

---

**Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de  
insecto (*Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*) en el desempeño  
biológico, digestibilidad, actividad enzimática y perfil de ácidos  
grasos de juveniles de *Totoaba macdonaldi***

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

Karen Elyne Carvajal Soriano

Ensenada, Baja California, México  
2022

Tesis defendida por

**Karen Elyne Carvajal Soriano**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dr. Juan Pablo Lazo Corvera**

Director de tesis

Miembros del comité

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Dr. Benjamín Barón Sevilla

Dr. Rafael Andrés Cabral Tena



---

**Dr. Roberto Cruz Flores**

Coordinador del Posgrado de Acuicultura

---

**Dr. Pedro Negrete Regagnon**

Director de Estudios de Posgrado

*Karen Elyne Carvajal Soriano © 2022*

*Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis*

Resumen de la tesis que presenta Karen Elyne Carvajal Soriano como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Acuicultura

**Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de insecto (*Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*) en el desempeño biológico, digestibilidad, actividad enzimática y perfil de ácidos grasos de juveniles de *Totoaba macdonaldi***

Resumen aprobado por

---

**Dr. Juan Pablo Lazo Corvera**  
Director de tesis

En el cultivo de peces, la harina de pescado (HP) ha sido considerada el ingrediente óptimo para suplir los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo. Sin embargo, su uso es cada vez menos sostenible ya que depende de la captura de organismos del medio natural. Por lo anterior, la búsqueda de ingredientes alternativos a la HP se ha tornado como un tema de gran relevancia, recientemente las harinas de insecto (HI) son una alternativa potencial para cubrir los requerimientos proteicos en las dietas de los peces de cultivo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución progresiva de HP por dos tipos de HI como fuente proteica en el cultivo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Se llevó a cabo un bioensayo de alimentación durante 64 días en un sistema de recirculación, reemplazando parcialmente (25 y 50% ) la harina de pescado en la dieta por harina de mosca soldado negro (HMSN; *Hermetia illucens*) o harina de grillo doméstico (HGD; *Acheta domesticus*). Se formularon cinco dietas isoprotéicas ( $48.88 \pm 0.15\%$ ) e isolipídicas ( $15.77 \pm 0.18\%$ ): una con HP (Control), dos con HMSN (M25 y M50) y dos con HGD (G25 y G50). Juveniles de *Totoaba macdonaldi* ( $112 \text{ g} \pm 15 \text{ g}$ ) fueron alimentados con las diferentes dietas tres veces al día a saciedad aparente; cada tratamiento se realizó por triplicado. No se encontraron diferencias significativas en peso final, peso ganado, ni en la tasa de crecimiento específico entre los tratamientos, sin embargo, la tasa de conversión alimenticia y eficiencia proteica se vieron significativamente reducidas en los peces alimentados con la dieta G25. El coeficiente de digestibilidad (CDA), para G50 ( $71.7 \pm 2.6\%$ ) fue significativamente menor que para el control ( $82.4 \pm 0.4\%$ ) probablemente como resultado del mayor contenido de quitina en estas dietas. El total de PUFAs-n6 en el musculo fue mayor en los peces alimentados con inclusión de HI, mientras que la cantidad de EPA, DHA, PUFAs n3 y LC-PUFAs totales no difirió significativamente entre tratamientos. No se encontraron diferencias significativas en la actividad de las enzimas digestivas en el intestino, ni en ciegos pilóricos de los peces. Con base en los resultados se puede recomendar un remplazo de hasta un 50% de HP por HMSN sin ocasionar un efecto adverso en el crecimiento, la supervivencia, el perfil de ácidos grasos LC-PUFAs, la digestibilidad y la actividad de las enzimas digestivas de *Totoaba macdonaldi*. Por otra parte, dado que la inclusión de harina de grillo *Acheta domesticus* en la dieta afectó los índices productivos y la digestibilidad de las dietas, se requiere mayor investigación evaluando su efecto en la digestión, perfil y disponibilidad de los aminoácidos para poder elucidar estas problemáticas.

**Palabras clave:** Remplazo de Harina de pescado, Harina de insecto, Totoaba, Digestibilidad, Perfil de ácidos grasos

Abstract of the thesis presented by Karen Elyne Carvajal Soriano as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

**Effects of fish meal replacement by *Hermetia illucens* and *Acheta domesticus* meals on growth performance, digestibility, digestive enzyme activity, and fatty acid profile of juvenile *Totoaba macdonaldi*.**

Abstract approved by:

---

**Dr. Juan Pablo Lazo Corvera**  
Thesis director

Fishmeal (FM) is considered an optimal ingredient meeting the requirement of most cultured fish species. However, its production depends on the capture of organisms from the natural environment which is considered non sustainable. Therefore, the search for alternative ingredients to FM has become a topic of great relevance in the industry, where insect meals (IM) are considered a promising alternative. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of the progressive substitution of FM by two types of IM as a protein source in the culture of juveniles of *Totoaba macdonaldi*. A 64 day feeding trial was conducted in a recirculation system to evaluate the effects of partial replacement (i.e., 25% and 50% replacement) of FM by insect meals: black soldier fly (*Hermetia illucens*) and domestic cricket (*Acheta domesticus*) labeled M and G, respectively. Five isonitrogenous (48%) and isolipidic (15%) diets were formulated: Control, M25, M50, G25 and G50. Triplicate groups of fish ( $112 \pm 15$  g) were fed three times a day to apparent satiation. At the end of the trial, no significant differences were found in final body weight, percent weight gain, and specific growth rate ( $p < 0.05$ ). Feed conversion ratio and protein efficiency ratio significantly decreased for fish fed the G25 and G50 diets. Apparent digestibility coefficients (ADC) of dry matter decreased for diets containing cricket meal, G50 ( $71.7 \pm 2.6\%$ ) significantly lower than the control ( $82.4 \pm 0.4\%$ ). Total n6-PUFAs was higher in the fish fed with diets that containing IM, while the amount of EPA, DHA, n-3-PUFAs and total LC-PUFAS did not significantly differ between dietary treatments. Additionally, no significant differences were found in the activity of digestive enzymes in the intestine or pyloric cecum of the fish. In conclusion, the results of the current study demonstrated that up to 50% of *H.illucens* meal, may successfully replace FM in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* without impairing growth, survival, fatty acid profile, digestibility and the activity of the digestive enzymes. On the other hand, inclusion of *A. domesticus* meal may affect the fish productive indices and the digestibility of the diets. More research is warranted to evaluate the effects on the fish digestion, lipid metabolism and amino acid availability to elucidate the observed results

**Key words:** Fishmeal substitution, Insect meal, *Totoaba*, Digestibility, Fatty acid profile

## **Dedicatoria**

En gratitud a las personas que siempre me han apoyado incondicionalmente y me han impulsado a alcanzar cada uno de mis objetivos, dedico esta tesis a mis padres.

¡Gracias por invertir en mi vida durante tantos años!

## Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Departamento de Acuicultura, por darme la oportunidad de ingresar al posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la ayuda económica para cubrir mi manutención durante el desarrollo de mi trabajo.

A mi director de tesis, el Dr. Juan Pablo Lazo, por aceptarme como su estudiante e inspirarme con su notable trayectoria para continuar por la línea de la nutrición acuícola.

Al M.Sc. Abelardo Campos por su inmensa colaboración en todo el proceso de desarrollo de esta tesis, por tomarse el tiempo de instruirme, aconsejarme y ayudarme en todo lo que necesité.

Al técnico Luis Murillo por toda su ayuda en el laboratorio de peces marinos, y siempre estar dispuesto a resolver mis dudas, entre muchas otras cosas.

A los miembros de mi comité, Dra. Mónica Hernández, Dr. Benjamín Barón y Dr. Rafael Cabral por cada uno de sus consejos, su apoyo, y por contribuir de forma muy significativa a mi formación académica en esta maestría.

Al Acuario Oceánico y a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por la donación de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

A la empresa DIPTERRA y Griyum por proporcionar las harinas de *H. illucens* y *A. domesticus*, respectivamente.

A Dalila Mercado por su gran gestión y ayuda en los procesos administrativos, así como todos los investigadores del departamento de acuicultura por todo el conocimiento que me aportaron desde sus diferentes líneas de investigación.

A mi directora de tesis de pregrado, Gloria Helena Ospina, por impulsarme a aplicar para la maestría el mismo día que sustente, y por todo el conocimiento que me brindó durante toda esa etapa.

A Andrés, Daniela, Ana María y Didier por apoyarme siempre a través de los años, y por sus aportes a esta tesis en diferentes maneras.

A Lorena, Olivier, Marco, Eugenio y José por su ayuda en diferentes etapas de este proyecto, desde la obtención de la harina, elaboración de las dietas, la recepción de los peces y biometrías, revisión veterinaria, entre muchas otras cosas.

A Rodrigo Hernández y Esteban Sillas por su ayuda y supervisión constante de los peces en las horas de la noche.

A todos aquellos con los que compartí espacios de esparcimiento durante esta etapa, desde el café en la mañana hasta una cerveza en la noche. En especial a Olivier, Marco, Abelardo y Luis.

Por último, pero más importante, a Dios por todas las oportunidades que me ha brindado a lo largo del camino.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	ix
<b>Capítulo 1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Harina de pescado en la nutrición acuícola .....	2
1.2 Harinas de insecto como alternativa a la harina de pescado.....	4
1.2.1 <i>Hermetia illucens</i> .....	7
1.2.2 <i>Acheta domesticus</i> .....	8
1.3 La totoaba ( <i>Totoaba macdonaldi</i> ).....	10
1.4 Antecedentes.....	11
1.4.1 <i>Hermetia illucens</i> .....	11
1.4.2 <i>Acheta domesticus</i> .....	15
1.5 Justificación.....	17
1.6 Hipótesis.....	17
1.7 Objetivos.....	18
1.7.1 Objetivo general.....	18
1.7.2 Objetivos específicos.....	18
<b>Capítulo 2. Materiales y métodos.....</b>	<b>19</b>
2.1 Dietas experimentales.....	19
2.2 Bioensayo de alimentación.....	20
2.3 Procedimiento de muestreo.....	21
2.4 Análisis de composición proximal.....	22
2.5 Cálculo de índices.....	22
2.5.1 Desempeño en crecimiento.....	22
2.5.2 Supervivencia.....	23
2.5.3 Índices productivos.....	23

2.5.4 Digestibilidad aparente.....	24
2.6 Actividad de las enzimas digestivas.....	24
2.7 Perfil de ácidos grasos .....	25
2.8 Índices económicos.....	26
2.8.1 Índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR).....	26
2.8.2. Relación de conversión económica (ECR).....	27
2.9 Análisis de los datos .....	27
<b>Capítulo 3. Resultados.....</b>	<b>28</b>
3.1 Crecimiento y supervivencia .....	28
3.2 Utilización del alimento y digestibilidad .....	29
3.3 Actividad de las enzimas digestivas.....	30
3.5 Análisis de composición proximal .....	31
3.5.1 Dietas.....	31
3.5.2 Músculo de los peces.....	31
3.6 Perfil de ácidos grasos.....	31
3.6.1 Dietas.....	31
3.6.2 Músculo de los peces.....	34
3.4 ECR e MPDR.....	35
<b>Capítulo 4. Discusión.....</b>	<b>37</b>
4.1 Desempeño en crecimiento y supervivencia.....	37
4.2 Utilización del alimento y digestibilidad.....	41
4.3 Actividad de las enzimas digestivas.....	43
4.5 Composición proximal y perfil de ácidos grasos.....	44
4.4 ECR e MPDR.....	47
4.6 Futuras perspectivas.....	49
<b>Capítulo 5. Conclusiones.....</b>	<b>50</b>
5.1 Recomendaciones.....	51
<b>Literatura citada.....</b>	<b>52</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>65</b>



## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Registro de insectos comestibles por país.....	4
<b>Figura 2.</b> Adulto y estadio larval de la mosca soldado negra <i>Hermetia illucens</i> .....	7
<b>Figura 3.</b> Ciclo de vida de la mosca soldado negra <i>Hermetia illucens</i> .....	8
<b>Figura 4.</b> Adulto y estadio larval de <i>Acheta domesticus</i> .....	9
<b>Figura 5.</b> Juvenil de <i>Totoaba macdonaldi</i> .....	10
<b>Figura 6.</b> Sistema de recirculación utilizado en el ensayo de alimentación.....	21
<b>Figura 7.</b> Curvas de crecimiento de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> a través del tiempo..	28
<b>Figura 8</b> Índice de dependencia a las proteínas marinas (MPDR) .....	36
<b>Figura 9.</b> Relación de conversión económica (ECR) de las dietas experimentales.....	36
<b>Figura 10.</b> Supervivencia de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto.....	65
<b>Figura 11.</b> Tasa de crecimiento específica (TCE) de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto.....	65
<b>Figura 12.</b> Tasa de conversión alimenticia (TCA) y de eficiencia proteica (TCE) de juveniles de <i>Tototaba macdonaldi</i> alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto.....	65
<b>Figura 13.</b> Comparación entre el contenido de ácidos grasos de la dieta (A) y del músculo de <i>Totoaba macdonaldi</i> .....	66
<b>Figura 14.</b> Comparación entre el contenido de PUFAs y LC-PUFAs de la dieta (A) y del músculo de <i>Totoaba macdonaldi</i> .....	67

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición proximal de la harina de mosca soldado negra ( <i>Hermetia illucens</i> ; HMSN), harina de grillo domestico ( <i>Acheta domesticus</i> ; HGD) y harina de sardina (HP).....	9
<b>Tabla 2.</b> Ingredientes ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) de las dietas experimentales para juveniles de <i>T. macdonaldi</i> .....	19
<b>Tabla 3.</b> Rendimiento en crecimiento y eficiencia alimenticia de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto <i>Hermetia illucens</i> (M25 y M50) y <i>Acheta domesticus</i> (G25 y G50).....	29
<b>Tabla 4.</b> Actividad enzimática total ( $\text{U organo}^{-1}$ ) en los intestinos y ciegos pilóricos de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto.....	30
<b>Tabla 5.</b> Análisis proximal (% en peso seco) del músculo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dieta control elaborada con harina de pescado y dietas con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto.....	31
<b>Tabla 6.</b> Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de insecto <i>Hermetia illucens</i> (M25 y M50) y <i>Acheta domesticus</i> (G25 y G50).....	33
<b>Tabla 7.</b> Perfil de ácidos grasos del músculo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentadas con dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de insecto.....	35
<b>Tabla 8.</b> Índice de dependencia a la proteína de harina de pescado (FPDR) y Relación de conversión económica (ECR) de las dietas experimentales.....	66

## Capítulo 1. Introducción

---

La alta demanda de productos marinos en las últimas décadas ha generado una sobreexplotación pesquera de las poblaciones naturales. La actividad pesquera por sí sola ha sido incapaz de cubrir completamente la demanda de alimentos de origen acuático por lo que la acuicultura se ha convertido en la industria de producción animal con mayor crecimiento, destacándose por su enorme potencial para hacer frente a esta necesidad y por contribuir notoriamente a la seguridad alimentaria y a la nutrición adecuada de una población mundial que se prevé alcance los 9.700 millones de habitantes en 2050 (FAO, 2020). En la actualidad, esta actividad proporciona 82,1 millones de toneladas de pescados, moluscos y crustáceos destinados a consumo humano a nivel mundial, y aunque los peces marinos y costeros solo representan el 8.89% del total, en general tienen un valor más alto en el mercado que sus contrapartes continentales (FAO, 2020).

La nutrición juega un papel clave en la industria de la acuicultura, al influir en el crecimiento y salud de los peces, así como en la calidad del producto final, la rentabilidad de las granjas y la generación de desechos. La alimentación de los organismos puede representar más de la mitad de los costos de producción, por lo que es vital el desarrollo de dietas bien balanceadas, eficientes y rentables que cumplan con los requerimientos nutricionales de las especies, permitiéndoles así alcanzar su óptimo desarrollo. Lo anterior ha convertido a la nutrición acuícola en una de las áreas de mayor investigación y desarrollo dentro del sector (Monteros y Labarta, 1987; NRC, 2011).

La harina de pescado (HP) se ha utilizado ampliamente como fuente de proteína de las dietas en general, debido a que es considerada un ingrediente de excelente calidad por su alto contenido proteico, perfil de aminoácidos adecuado, alta digestibilidad y palatabilidad, además de ser una fuente rica en vitaminas y minerales (Hardy, 2010). Sin embargo, su uso implica que la cría de los peces de cultivo dependa de la captura de organismos del medio natural, situación que no promueve una acuicultura sostenible y que además hace de esta harina un insumo costoso debido a la situación actual de las pesquerías (Rana *et al.*, 2009; Manzano-Agugliaro *et al.*, 2012). Es por esta razón que se busca disminuir el uso de HP en las dietas a través de sustitutos más sustentables y rentables, pero con una calidad proteica equiparable. Por lo tanto, la búsqueda de proteínas alternativas y sostenibles se ha tornado como un tema de gran relevancia (van Huis y De Prins, 2013).

Considerando lo anterior, las harinas de insectos (HI) han surgido recientemente como una alternativa económica y nutricionalmente viable para sustituir la HP. Los artrópodos (insectos y crustáceos) están presentes de manera natural en la dieta de muchos peces, por lo que las HI no representan algo ajeno para estos organismos. Estas harinas tienen un buen equilibrio de aminoácidos esenciales, son ricas en proteína (60-70 % dependiendo de la especie y estadio del ciclo de vida del insecto), minerales y vitaminas, por lo que tienen un perfil nutrimental muy similar al de la HP. Además, tienen un alto contenido de energía, grasa y fibra. Todas estas características convierten a la HI en una alternativa a la HP, con gran potencial para la alimentación de peces (Xiaoming *et al.*, 2010; van Huis y De Prins, 2013).

Por su parte, la totoaba es un pez carnívoro marino endémico del Golfo de California cuya dieta natural incluye crustáceos, que al igual que los insectos, se incluyen dentro de los artrópodos. Esta especie de la familia Sciaenidae ha sido sobreexplotado debido al alto valor de su vejiga natatoria en el mercado asiático, y actualmente se encuentra en la lista de especies amenazadas y protegidas por la Convención Internacional del Tráfico de Especies Silvestres de Flora y Fauna en Peligro (Findley, 2010; Minjarez-Osorio *et al.*, 2014; CITES, 2016). En este contexto, gran parte de los esfuerzos de investigación en esta especie se han encaminado a desarrollar la tecnología de su cultivo. Sin embargo, se necesita más investigación para determinar todos sus requerimientos nutricionales. Este trabajo pretende evaluar el efecto de la sustitución progresiva de HP por HI como fuente proteica en el cultivo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

## **1.1 Harina de pescado en la nutrición acuícola**

Los nutrientes esenciales que requieren las especies acuáticas cultivadas consisten principalmente en proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales (NRC, 2011). Las proteínas son moléculas fundamentales debido a la función que tienen en la estructura y metabolismo de los organismos, además de que contribuyen significativamente al aumento de biomasa, siendo los peces marinos los animales cultivados con mayores exigencias respecto a la calidad y cantidad de proteínas en su dieta (Buxbaum, 2007; Dumas *et al.*, 2007; Sánchez-Muros *et al.*, 2014; NRC, 2011). Los aminoácidos son los componentes estructurales básicos de las proteínas, y algunos de ellos, denominados aminoácidos esenciales (AAE) no pueden ser sintetizados en las cantidades requeridas por los peces

por lo que deben ser incorporados en la dieta (NRC, 2011). Si uno de estos aminoácidos es deficiente en la dieta, este va a limitar la síntesis de las proteínas que lo requieran y por lo tanto afectará negativamente algún proceso metabólico esencial y por lo tanto el crecimiento (Webster y Lim, 2002).

En cuanto a los lípidos, son un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos solubles en solventes orgánicos dentro de los cuales se incluyen las grasas, aceites y ceras. Estos compuestos tienen un papel fundamental en la generación de energía metabólica, son fuentes de ácidos grasos y componentes importantes de las membranas celulares, entre muchas otras funciones. Los peces, al igual que los demás vertebrados, no pueden sintetizar los ácidos grasos polinsaturados (PUFAs, por sus siglas en inglés) ni los ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (LC-PUFAs, por sus siglas en inglés) de la serie n3 y n6, por lo que son esenciales y deben ser suministrados en la dieta (Webster y Lim, 2002).

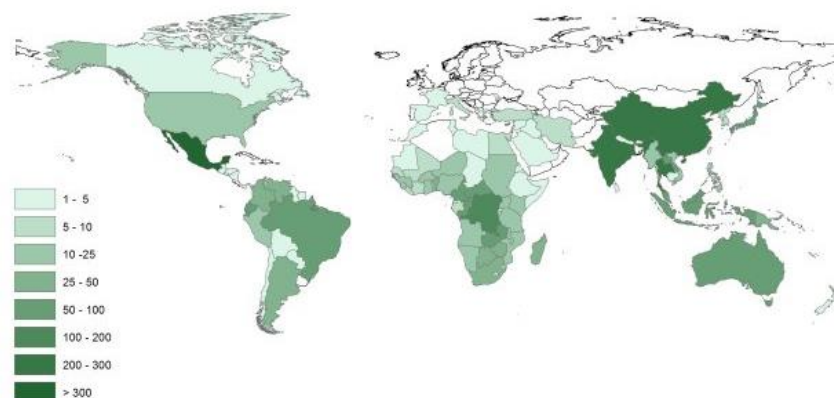
En este contexto la HP y el aceite de pescado (AP) son los ingredientes ideales para cubrir los requerimientos nutricionales de los peces marinos en cultivo debido a su excelente calidad proteica, y a su contenido de LC-PUFAs, respectivamente. Sin embargo, como se mencionó anteriormente su uso cada vez es menos sostenible ya que depende de la producción pesquera, que es limitada e incluso ha disminuido en los últimos años por sobreexplotación de las poblaciones de peces pelágicos (Lim y Webster, 2008; Nordahl, 2011). Alrededor del 12% del total de la captura pesquera global se dedica actualmente a la producción de HP y AP, siendo América del Sur el principal productor de HP de anchoveta, cuya captura es muy variable debido a fenómenos climáticos como El Niño, lo que ha contribuido a aumentar aún más su costo (van Huis y De Prins, 2013; FAO, 2020).

Por lo anterior, la comunidad científica ha afrontado el desafío de buscar proteínas alternativas a la HP que reduzcan la presión sobre la pesca y sean más amigables con el ambiente (Torrecillas *et al.*, 2017; Reis *et al.*, 2019). Al considerar estas alternativas se deben analizar varios factores para garantizar su viabilidad técnica y económica, entre los que se destacan el contenido de proteínas y su calidad nutricional (i.e., perfil de AAE y digestibilidad), la presencia de factores antinutricionales (FAN) y los costos de producción (Gatlin, 2007; Hardy, 2010; Oliva-Teles *et al.*, 2015). Entre las opciones más estudiadas se encuentran las harinas vegetales (HV) de soya o maíz, que empezaron a ser competitivas en términos económicos desde 2006 cuando el precio de la HP aumentó

considerablemente (Hardy, 2010; Cabral *et al.*, 2011; Gerile y Pirhonen, 2017). Los principales inconvenientes que presentan las HV son un perfil desequilibrado de AAE (deficientes en metionina y lisina principalmente), presencia de FAN, baja palatabilidad, su contenido de fibra y carbohidratos no es digerible por muchos de los organismos cultivados, y son causantes de inflamación del tracto digestivo de los peces, además del reciente aumento en sus precios debido a la alta demanda para el consumo humano (Papatryphon y Soares, 2001; Gatlin *et al.*, 2007; van Huis y De Prins, 2013; Henry *et al.*, 2015; FAO, 2020). Las limitaciones de digestibilidad y las deficiencias de estas harinas se han abordado con el uso de enzimas, procesos de calor y adición de suplementos (Oliva-Teles *et al.*, 2015).

## 1.2 Harinas de insecto como alternativa a la harina de pescado

Tradicionalmente, los insectos son parte de la dieta humana en muchas partes del mundo (Figura 1). Se estima que se consumen más de 2000 especies de insectos en 113 países de todo el mundo, entre de los que destacan África, Asia, Centro y Sudamérica, estimándose que se consumen más de 2000 especies de insectos en 113 países de todo el mundo (Kouřimská y Adámková, 2016; Jongema, 2017). En México, para los aztecas, mixtecas y otros pueblos, los insectos eran una parte esencial de su dieta, destacando actualmente los gusanos de maguey, las larvas de hormiga (escamoles) y las hormigas (chicatanas), los chapulines, los jumiles (Akhtar e Isman, 2018; Gardner, 2019).



**Figura 1.** Registro de insectos comestibles por país. Obtenido de Jongema, 2017.

El interés de utilizar a los insectos como fuente proteica sostenible y saludable tanto en humanos como en animales de granja ha aumentado en los últimos años, por lo que recientemente las HI se han propuesto como otra alternativa potencial para cubrir los requerimientos proteicos en las dietas de peces (Llagostera *et al.*, 2019; Salter y Lopez-Viso, 2021). Los insectos poseen una alta tasa de reproducción, tasa de conversión alimenticia y eficiencia de producción, y constituyen más de la mitad de la biodiversidad del planeta. Se distribuyen alrededor de todo el mundo con excepción de los hábitats marinos, donde tienen pocos representantes, pero existe una alta biodiversidad de otros grupos de artrópodos como los crustáceos (van Huis y De Prins, 2013; Makkar *et al.*, 2014; Bruni *et al.*, 2018).

Los insectos son una presa básica de varios peces omnívoros y carnívoros de agua dulce, especialmente los pertenecientes a los órdenes Diptera, Trichoptera, Odonata, Hemiptera, Coleoptera y Ephemeroptera (Costa y Soares, 2015; Ferrareze *et al.*, 2015; Abilhoa *et al.*, 2016). Sin embargo, en los estómagos de algunos peces marinos y de aguas salobres también se han encontrado insectos de los órdenes Hymenoptera, Diptera y Coleoptera (Dyer *et al.*, 2015). Varias especies de peces, como la trucha arcoíris y la caballa (*Scomber japonicus*), tienen enzimas quitinolíticas ampliamente distribuidas en el intestino e hígado que ayudan a digerir la quitina de los insectos y crustáceos (Lindsay, 1984; Matsumiya y Mochizuki, 1987; Kono *et al.*, 1987; Rangaswamy, 2006, Ikeda *et al.*, 2017).

La quitina es un polisacárido compuesto por unidades de N-acetil D-glucosamina unidas por un enlace glicosídico  $\beta$  (1-4), considerada como una fibra cruda poco digerible por los animales monogástricos, cuya cantidad varía entre especies y fases de desarrollo de los insectos (Sánchez-Muros *et al.*, 2013). En exceso la quitina en la dieta puede interferir con la digestión de proteínas, pero en cantidades moderadas se ha demostrado que tiene un efecto benéfico en los peces al aumentar la longitud de las microvellosidades del intestino, y mejorar la respuesta del sistema inmune innato estimulando la actividad de los macrófagos e incrementando la tasa de crecimiento y la eficiencia de asimilación (Kono *et al.*, 1987; Sakai *et al.*, 1992; Esteban *et al.*, 2001; Longvah *et al.*, 2011; Zaki *et al.*, 2015).

Las HI tienen un perfil muy similar de AAE, minerales y vitaminas a la HP y tienen un alto contenido de energía, grasa y fibra. Nogales-Mérida *et al.* (2019) destacan el enorme potencial de los insectos

no solo como un sustituto proteico sino también como prebiótico debido a la presencia de quitina y péptidos antimicrobianos, y afirman que la inclusión de harina de insecto en la dieta de los peces, incluso en cantidades relativamente bajas (i.e., 13% de sustitución de HP por HMSN en *Pelteobagrus fulvidraco*), podría estimular su sistema inmunológico y mejorar su rendimiento productivo.

Así mismo, entre de las principales ventajas de las HI, destaca el hecho de que su producción genera una huella de carbono reducida con un bajo impacto ambiental, debido a que los insectos se pueden cultivar y reproducir en condiciones controladas de manera sencilla con poco espacio y agua, además, pueden ser alimentados con desechos orgánicos, contribuyendo a la reducción de residuos (Sealey *et al.*, 2011; Llagostera *et al.*, 2019, Nogales-Mérida *et al.*, 2019). Lo anterior se debe a que los insectos son muy eficientes para transformar una amplia variedad de materiales orgánicos en proteína corporal, principalmente porque son animales ectotermos, y, por lo tanto, utilizan menos energía para regular su temperatura corporal (Taufek *et al.*, 2016a). Recientemente, el uso de harina de insecto de siete especies fue aceptado como alimento para especies acuícolas en la Unión Europea, y existe una tendencia a la baja en sus precios (EC, 2017; Marien *et al.*, 2018; Llagostera *et al.*, 2019).

El valor nutricional de las HI es muy variable debido a la amplia gama de especies existentes y puede diferir según la etapa metamórfica del insecto, el tipo de dieta y las condiciones de cría (van Huis y De Prins, 2013; Henry *et al.*, 2015; Nogales-Mérida *et al.*, 2019). También se tiene que considerar las forma en que se procesa la harina de insecto, ya que tendrá un efecto directo sobre el crecimiento y la eficiencia de la alimentación de los peces (Nogales-Mérida *et al.*, 2019). La digestibilidad de estas harinas también varía dependiendo de la cantidad de aminoácidos que se unen a la quitina reduciendo su digestibilidad. Adicionalmente uno de sus principales inconvenientes desde el punto de vista nutricional, es su reducido contenido de LC-PUFAs (Becker y Yu, 2013; Llagostera *et al.*, 2019).

El perfil de ácidos grasos de los insectos es rico en n6 y pobre en n3, por lo que los peces alimentados con harinas de insecto muestran una menor relación de HUFA  $\sum n3 / \sum n6$  y niveles de ácidos grasos polinsaturados (LC-PUFAs por sus siglas en inglés) significativamente menores que los obtenidos con dietas para peces carnívoros elaboradas con HP (Sealey *et al.*, 2011; Gasco *et al.*, 2016; Renna *et al.*, 2017; Devic *et al.*, 2018). Sin embargo, esta deficiencia se puede solucionar sometiendo la harina de



insecto a un proceso de desgrasado, para generar HI rica en proteína y poder complementarla con lípidos utilizando ingredientes con un perfil de AG más cercano al perfil del aceite de pescado, o enriqueciendo el sustrato para la cría de los insectos con subproductos de pescado para que puedan incorporar parte de los AG esenciales (Sealey *et al.*, 2011; Kroeckel *et al.*, 2012; Henry *et al.*, 2015; Magalhaes *et al.*, 2017 y Renna *et al.*, 2017).

Actualmente las especies con mayor potencial para la producción industrial de harinas de insecto son la mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), los gusanos de la harina (*Tenebrio molitor*), las larvas comunes de las moscas domésticas (*Musca domestica*), los gusanos de seda (*Anaphe panda*), el escarabajo del estiércol (*Alphitobius diaperinus*) y varias especies de grillos como *Acheta domesticus*, *Gryllodes sigillatus* y *Gryllus assimilis* (van Huis, 2012; van Huis y De Prins, 2013; EC, 2017).

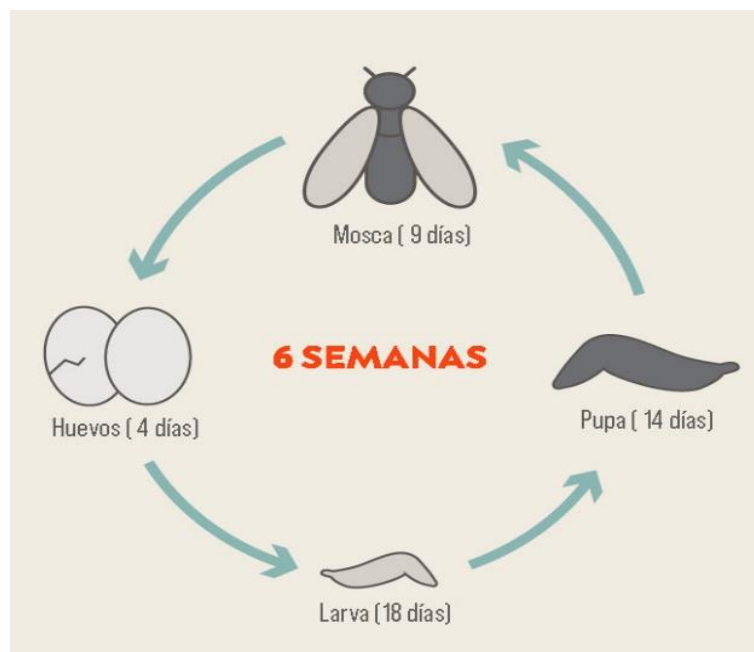
### 1.2.1 *Hermetia illucens*

Las moscas soldado-negras (MSN; Diptera: Stratiomyidae) son moscas grandes, de 12 y 20 mm de longitud, con apariencia de avispa (Figura 2). Su coloración es negro brillante con rayas blancas en la parte inferior de la cabeza y con ojos laterales que se encuentran ampliamente separados (Oliveira *et al.*, 2016). Se localizan en abundancia alrededor de las pilas de estiércol o en desechos orgánicos como pulpa de granos de café, vegetales, desechos de destilados y despojos de pescado (Newton *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Adulto y estadio larval de la mosca soldado negra *Hermetia illucens*. Imágenes obtenidas con licencia de Adobe Stock.

Es uno de los insectos que más se ha estudiado como alternativa a la HP y harinas vegetales (PM), y es el insecto ideal para la producción de harinas, ya que es sencillo de criar, se reproduce muy rápido (Figura 3), tiene una buena tasa de conversión alimenticia y es capaz de crecer en sustratos económicos como los desechos orgánicos, con una mayor eficiencia ambiental en términos de energía total por unidad de producto comparada con otras alternativas a la HP (Llagostera *et al.*, 2019; Macombe *et al.*, 2019; Maiolo *et al.*, 2021). La composición de AAE es muy similar al de la HP (Tabla 1) y las larvas tienen un alto contenido proteico, entre 40 y 50% aproximadamente (Henry *et al.*, 2015; Bruni *et al.*, 2018; Shumo *et al.*, 2019). Una gran ventaja de esta mosca es que tiene la capacidad de asimilar mejor los lípidos de la dieta administrada, que resulta en un perfil de AG más favorable que otros insectos (St-Hilaire *et al.*, 2007b; Makkar *et al.*, 2014; Llagostera *et al.*, 2019).

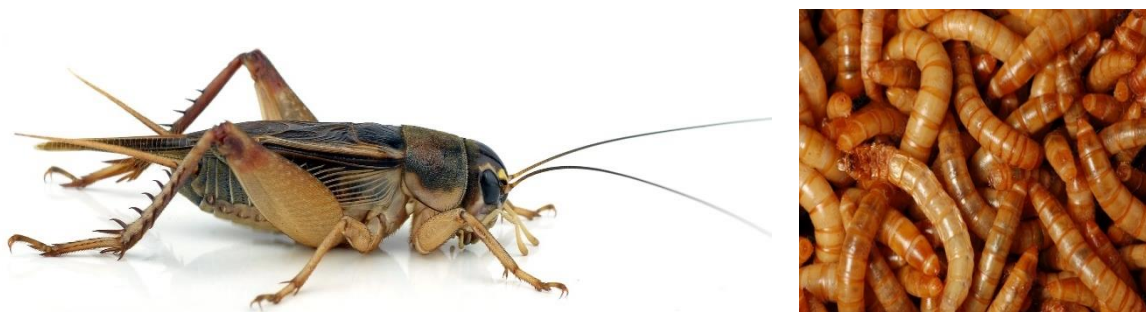


**Figura 3.** Ciclo de vida de la mosca soldado negra *Hermetia illucens*. Tomado y modificado de Skrobonja, 2020.

### 1.2.2 El Grillo Doméstico (*Acheta domesticus*)

Como ya se mencionó anteriormente, las harinas de los grillos son otro tipo de HI con potencial como proteína alternativa a la harina de pescado para dietas de peces, pero han sido muy poco estudiadas (van Huis, 2012; van Huis y De Prins, 2013). El grillo doméstico, *Acheta domesticus*

(Orthoptera: Gryllidae) es de origen surasiático, pero actualmente se encuentra ampliamente distribuido alrededor del mundo debido a que es criado como alimento para animales insectívoros. Su coloración es marrón-amarillenta con tres bandas transversales oscuras en la parte superior de la cabeza y mide entre 16 y 30 mm de largo, con alas que cubren el abdomen (Figura 4). Las harinas de los grillos son uno de los ingredientes más prometedores como alternativa a la HP, debido a su perfil nutricional, su eficiente conversión alimenticia, y a su composición lipídica (entre 29 y 31% de HUFA), además de que son una buena fuente de vitaminas (Walker, 1999; Rumpold y Schlüter, 2013; Fernández-Cassi *et al.*, 2019).



**Figura 4.** Adulto y estadio larval de *Acheta domesticus*. Imágenes obtenidas con licencia de Adobe Stock.

**Tabla 1.** Composición proximal de la harina de mosca soldado negra (*Hermetia illucens*; HMSN), harina de grillo domestico (*Acheta domesticus*; HGD) y harina de sardina (HP)

Composición	HMSN <sup>a</sup>	HGD <sup>b</sup>	HP <sup>c</sup>
Materia seca (%)	94	93	92
Humedad (%)	6	7	8
Proteína cruda (%)	55.34	65.07	65
Grasa cruda (%)	10	14.97	5.5
Cenizas (%)	7.12	4.95	16
Energía metabolizable (MJ/kg)	24.37	19.05	28.60
Aminoácidos			
Metionina (%)	2.1	-	2
Cistina (%)	0.1	-	0.8
Lisina (%)	3.8	-	5.9
Treonina (%)	3.1	-	2.6
Isoleucina (%)	3.3	-	3.3
Histidina (%)	2.2	-	1.8
Valina (%)	4.9	-	3.4
Leucina (%)	5.2	-	3.8
Arginina (%)	3.9	-	2.7
Fenilalanina (%)	3.0	-	2.2

a Harina de larvas de *Hermetia Illucens* procedente de Hermetia Deutschland GmbH & Co. KG (Baruth / Mark, Alemania)

b Harina de *Acheta domesticus* procedente de Griyum (Quéretaro, México) 65% PC, 19.04 MJ/ kg

c Harina de sardina (5-02-015) proveniente del catálogo de ingredientes empleados en la formulación de alimentos balanceados para peces (Lazo *et al.*, 2014).

### 1.3 La totoaba (*Totoaba macdonaldi*)

Los peces de la familia Sciaenidae en general habitan aguas poco profundas cerca de las regiones continentales y se caracterizan por tener una aleta dorsal larga, parcial o completamente separada en radios suaves y duros. Pueden producir sonidos utilizando su vejiga natatoria como cámara de resonancia, y varias especies son de importancia comercial (Nelson *et al.*, 2016).



**Figura 5.** Juvenil de *Totoaba macdonaldi*.

Entre los miembros de la Familia Sciaenidae se encuentra el único representante del género *Totoaba*, *Tototaba macdonaldi* (Figura 5) un pez demersal marino, que se alimenta principalmente de crustáceos y peces. Puede llegar a medir 2 m de largo, pesar hasta 150 kg y vivir hasta los 25 años (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Ramcharitar *et al.*, 2006; Valenzuela-Quiñónez *et al.*, 2011; Coronel Yañez, 2016). Es una especie endémica del Golfo de California, que se distribuye desde el Delta del Río Colorado hasta el Río Fuerte en Sinaloa; y hasta Bahía Concepción en la costa de la península de Baja California (Berdegué, 1995; Valenzuela-Quiñónez *et al.*, 2011).

La pesca de *Totoaba* data de principios del siglo XX, sin embargo, desde hace más de cuatro décadas esta especie fue declarada en veda permanente debido a la sobreexplotación de sus poblaciones, que se relaciona con el alto valor de su vejiga natatoria en el mercado asiático (aprox. \$60,000.00 dólares por kilogramo), aunque su casa furtiva aún continúa (Flanagan y Hendrickson, 1976; Nieto *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 2016). Entre las medidas implementadas por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) para solventar esta problemática, se encuentran el desarrollo de las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA), las cuales tienen como objetivo impulsar el aprovechamiento y reproducción sustentable de totoaba para contrarrestar su pesca y tráfico ilegal (SEMARNAT, 2018).

Actualmente existen seis UMAS registradas en el país; dos en Sonora: Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES), y Cygnus Ocean Farms (CJF); y tres en Baja California: dos de ellas en la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y una en el Acuario Oceánico en San Felipe; y finalmente, una ubicada en Baja California Sur: Earth Ocean Farms (EOF). La totoaba ha mostrado un buen potencial acuícola debido a que tiene un rápido crecimiento durante su primer año de vida y es una especie con gran rusticidad, que se adapta a las condiciones de cautiverio fácilmente, además de que su carne es muy apreciada en el mercado (Berdegué, 1995; Minjarez-Osorio *et al.*, 2014; Juarez *et al.*, 2016).

## 1.4 Antecedentes

### 1.4.1 *Hermetia illucens*

Uno de los primeros estudios en evaluar a la MSN como alimento de peces fue el de Bondari y Sheppard en 1981. Estos autores alimentaron bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) y tilapia (*Oreochromis sp.*) exclusivamente con larvas de *H. illucens* o en combinación con dietas comerciales (50%/50%) con alto (45%) y bajo (30%) contenido proteico, sin embargo, no encontraron diferencias significativas en el peso corporal final y la longitud total de las dos especies de peces.

Por su parte, St-Hilaire *et al.* (2007a) encontraron que en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), un remplazo del 25% de harina de pescado con HMSN en la dieta no tuvo un efecto adverso en la conversión alimenticia de los peces, sin embargo, si generó una reducción de los niveles de LC-PUFAs n3 en el filete. En un estudio posterior, St-Hilaire *et al.* (2007b), abordaron este inconveniente de la carencia de AGE de las HI y encontraron que al enriquecer el sustrato de cría (estiércol) de la MSN con subproductos de pescado, la composición de AG aumentó un 30% y específicamente registraron un incremento de 3% en LC-PUFAs n3. Por otro lado, Sealey *et al.* (2011) trabajando también con la trucha arcoíris, lograron sustituir hasta el 50% de HP en la dieta por prepupas de MSN enriquecidas con subproductos de pescado y lograron un crecimiento similar al de la dieta control.

Por su parte, Kroeckel *et al.* (2012), sustituyeron hasta el 81.7% de HP por harina de prepupas desgrasadas de MSN en la dieta de juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*). El peso final, la tasa de crecimiento específico (TCE), y la tasa de eficiencia proteica (TEP) disminuyeron a medida que se agregó HMSN a la dieta. Posteriormente, Karapanagiotidis *et al.* (2014) evaluaron la sustitución del 10, 20 y 30% de HP por HMSN en las dietas para juveniles de la dorada (*Sparus aurata*), y observaron que las dietas que contenían HMSN tuvieron una baja palatabilidad que se tradujo en un menor aumento de peso en los peces. Sin embargo, la TCE no mostró diferencias significativas entre las dietas que incluían HI y el control.

Lock *et al.* (2016) lograron un reemplazo de hasta del 100% de HP por HMSN suplementada con lisina y metionina con resultados satisfactorios en el crecimiento neto final de juveniles del salmón del Atlántico (*Salmo salar*). En otro estudio, Magalhaes *et al.* (2017) evaluaron la sustitución de 15, 30 y 45% de HP por HMSN en la dieta de juveniles de la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), y no encontraron diferencias en el crecimiento ni en la TCA y TEP. Solo observaron diferencias en la TEP, que disminuyó en los peces alimentados con la dieta con mayor inclusión de HMSN.

Por otro lado, Renna *et al.* (2017) sustituyeron el 25 y 50% de HP en la dieta de juveniles de trucha arcoíris por HMSN y no encontraron diferencias en el crecimiento ni en la tasa de conversión alimenticia (TCA) de los peces, pero si en el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y en la composición de AG entre tratamientos. Los autores atribuyeron estos resultados a un mayor contenido de quitina y menores niveles de HUFA en la dieta donde hubo una sustitución del 50% en comparación con la de 25%. Por su parte, Bruni *et al.* (2018) utilizaron muestras del estudio anterior para analizar la composición del microbioma intestinal y encontraron que los peces alimentados con la dieta en la que se sustituyó el 25% de HP por HMSN, tenían una biodiversidad significativamente mayor en su microbiota con respecto al control (100HP), lo cual podría brindar una mayor protección contra patógenos, así como mejorar su digestión, funciones fisiológicas y bienestar en general.

Por su parte, Kurniawan *et al.* (2018) no encontraron diferencias en la retención de proteína y energía en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas con una dieta con sustitución del 14% de HP por HMSN y la dieta control (100% HP). Devic *et al.* (2018), en esta misma especie, sustituyeron 20, 50 y 70% de HP por HMSN en alevines de tilapia y no encontraron diferencias en el

aumento de peso, TCA, TCE y TEP con respecto a la dieta control, sin embargo, si hubo un aumento de los PUFAs n6 y una disminución de los PUFAs n3 en los peces alimentados con las dietas que contenían HMSN. En el mismo año, Zhou *et al.* (2018), estudiaron el efecto de la sustitución del 25, 50, 75 y 100% de HP por HMSN en la dieta para *Cyprinus carpio* y no observaron efectos adversos en el crecimiento, TCA, TCE, índices corporales como el hepatosomático (HSI) y el somático visceral (VSI), composición proximal, ni en el perfil de aminoácidos en músculo, pero si una reducción significativa en la cantidad de LC-PUFAs n3 en los peces a medida que se aumentaba la cantidad de HMSN.

Recientemente, Bruni *et al.* (2020) sustituyeron el 33, 66 y 100% de HP por harina de larvas de MSN criadas en sustratos ricos en HUFAs y encontraron que la sustitución ya sea parcial o completa, no alteró las cualidades fisicoquímicas en el filete de salmón del atlántico (*Salmo salar*). Por otra parte, Caimi *et al.* 2020 sustituyeron 25, 50 y 100 % de HP por HMSN en la dieta del esturión siberiano (*Acipenser baerii*) y observaron que con un 25% de sustitución no se ven afectados el crecimiento, factor de condición, HSI, VSI, ni la composición proximal de los peces.

En el bagre africano (*Clarias gariepinus*), Adeoye *et al.* (2020) evaluaron el remplazo del 25, 50 y 100% de HP por HMSN en la dieta, y observaron que hasta con un 50% de sustitución, el crecimiento y utilización de nutrientes de los peces no se ven comprometidos. Así mismo, Fawole *et al.* (2020), también, sustituyeron el 25, 50 y 75% de HP por HMSN en la dieta para la misma especie y observaron que los peces alimentados con la dieta de 50% HMSN tuvieron mayor peso final, peso ganado y TCE, mientras que la TCA y TEP no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los autores concluyen que para esta especie se podía sustituir hasta un 75% de HP por HMSN sin afectar crecimiento, utilización de nutrientes, ni estado de salud de los peces.

En dos estudios realizados, en la perca regia (*Argyrosomus regius*) se remplazó el 17, 35, y 52% de HP por harina de MSN en la dieta (Guerreiro *et al.*, 2020, 2021). En el primer estudio se observó que a medida que se aumentó el nivel de harina de MSN en la dieta, el crecimiento, la eficiencia alimenticia, la relación de eficiencia proteica, las retenciones de nitrógeno y energía, y los PUFAs n3 se vieron disminuidos. En el segundo estudio, se encontró que los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de materia seca, energía y proteína, disminuyeron con una mayor inclusión de HMSN en la dieta, y que la actividad de las proteasas alcalinas totales aumentó mientras que la de

la tripsina disminuyó con un mayor nivel de inclusión de HMSN en la dieta. En ambos estudios se concluyó que un reemplazo de hasta un 17% de HP por HMSN en la dieta no tiene efectos adversos en los juveniles de la perca regia.

En un estudio comparativo, Mastoraki *et al.* (2020), sustituyeron 30% de HP por harina de tres especies de insectos (*H. Illucens*, *Musca domestica* y *Tenebrio molitor*), en dietas para juveniles de la lubina europea ( $5.7 \pm 1.05$  g). Sus resultados indicaron que el crecimiento y la composición proximal no se vieron afectados por la inclusión de harina de insecto en las dietas. Sin embargo, el contenido de AG de las dietas si modificó la composición de AG de la lubina, en particular la cantidad de LC-PUFAs n3 en los peces alimentados con la dieta control y la dieta con *Hermetia*, en comparación con los peces alimentados con *M. domestica* y *T. molitor* que tuvieron un mayor contenido de PUFAs n6.

También en la lubina europea, Abdel-Tawwab *et al.* (2020), sustituyeron el 25, 35 y 50% de HP por HMSN en la dieta y no observaron diferencias en el crecimiento de los peces, en la utilización del alimento, supervivencia, ni composición proximal, y además determinaron que con el 50% de sustitución el costo del alimento se reduce en un 15.6% en comparación con la dieta control (100% HP). Por otra parte, Stejskal *et al.* 2020 evaluaron el remplazo del 20, 40 y 60% de HMSN, parcialmente desgrasada, en la dieta para juveniles de *Perca fluviatilis*, y encontraron que hasta con el 40% de sustitución no se ven afectados el peso final (PF), peso ganado (PG), tasa de crecimiento específico (TCE), tasa de conversión alimenticia (TCA) ni en la tasa de eficiencia proteica (TEP), y en general, el contenido de ácidos grasos saturados (AGS) en los peces tuvo una relación directa con el nivel de HMSN y la proporción  $\sum n3 / n6$  tuvo una relación inversa a medida que se incrementaba la cantidad de *Hermetia* en la dieta.

En un estudio reciente en la perca trepadora (*Anabas testudineus*), Mapanao *et al.* (2021) evaluaron el remplazo del 25, 50, 75 y 100% de HP por HMSN en la dieta. Estos autores reportan que hasta con un 75% de sustitución de la HP no afecto en forma significativa el PF, PG, TCE, ni la TCA, sino que incluso tuvieron un comportamiento más favorable que el control (100HP). Sin embargo, una mayor inclusión de HMSN produjo un incremento en la cantidad de lípidos en las dietas, provocando una deposición excesiva de grasa en la cavidad visceral y el tejido hepático, y por lo tanto un incremento en el HSI y VSI de los peces alimentados con estas dietas. Recientemente, en la tilapia



del Nilo alimentada con dietas donde se sustituyó el 10, 20, 40, 60, 80 y 100% de HP por HMSN, no se encontraron diferencias significativas en supervivencia, crecimiento, eficiencia en la utilización y consumo de alimento entre los tratamientos (Tippayadara *et al.*, 2021).

Por su parte, Agbohessou *et al.* (2021) evaluaron la sustitución total de AP y HP por aceite vegetal y HMSN en dietas para juveniles de la tilapia del Nilo. Las larvas de mosca utilizadas para fabricar la HMSN fueron criadas en tres sustratos diferentes (subproductos vegetales y pienso comercial para aves, ricos en ácido linoleico; y desechos de pescado, ricos en EPA), con el fin de modificar su composición de ácidos grasos. Los resultados demostraron que se puede reemplazar el 100% de HP por HMSN en la dieta, sin que se observen efectos negativos significativos sobre el crecimiento y el sistema inmunológico y, además, al enriquecer el sustrato de cría de las larvas con AG, se puede obtener un perfil de AG muy similar al obtenido con las dietas con solo HP. Sin embargo, al incluir HMSN en la dieta se observó una reducción en la TEP y en la digestibilidad de la dieta.

Hender *et al.* (2021) evaluaron la sustitución parcial de HP y AP por harina y aceite de HSMN en dietas para juveniles de barramundi (*Lates calcarifer*), reemplazando 30% de HP por HMSN, 30% de AP por aceite de HMSN, y 30% de HP y 30% AP con harina y aceite de MSN simultáneamente. Los autores reportan que el crecimiento y utilización de alimento, así como la composición de AG en el músculo, no fueron influenciados de manera negativa por la sustitución de HP y AP por HMSN y aceite de MSN.

#### **1.4.2 *Acheta domesticus***

Lee *et al.* (2017) evaluaron el efecto de la inclusión de harina de grillo doméstico *Acheta domesticus* (HGD) en la dieta sobre el desempeño de la tilapia roja, *Oreochromis* sp. Evaluaron cinco tratamientos con diferentes proporciones de HGD (60, 70, 80, 90 y 100%) y salvado de arroz (40, 30, 20, 10 y 0%), y el grupo control fue alimentado con una dieta comercial (sin HGD). Se encontraron diferencias en la supervivencia y en la tasa de crecimiento de las tilapias alimentadas con las diferentes dietas, pero la dieta de 60% HGD y 40% salvado de trigo produjo los mejores resultados. No obstante, el análisis histológico reveló que había daño hepático en los peces a medida que aumentó la concentración de *A. domesticus* en la dieta.

Posteriormente Irungu *et al.* (2018a, 20018b) estudiaron el efecto de la sustitución de HP por HGD y HMSN sobre el contenido de minerales y las propiedades fisicoquímicas (flotabilidad, densidad aparente, solubilidad y la estabilidad en el agua, lixiviación, entre otras) de alimento extruido para tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) y bagre africano (*Clarias gariepinus*), utilizando cuatro niveles de sustitución (0, 25, 50 y 75%). Los autores indicaron que todos los niveles de inclusión de ambas harinas tuvieron un efecto reducido en la lixiviación, por lo que pueden usarse como sustituto de la harina de pescado en la elaboración de alimento para estos peces.

Turek *et al.* (2020) evaluaron el efecto de la alimentación de la trucha arcoíris con una dieta comercial y su sustitución parcial y total con dos especies de insectos vivos, *A. domesticus* y el gusano de la harina (*Zophobas morio*). Se evaluaron cinco tratamientos; 1) control (alimento comercial), 2) 25% de remplazo de la energía bruta (EB) del alimento comercial con el equivalente en adultos vivos de *A. domesticus*, 3) 25% de remplazo de la EB por adultos vivos del gusano de la harina *Z. morio*, 4) 25% de remplazo de la EB por una mezcla de ambos insectos (12.5% cada uno) y 5) un grupo alimentado solo con insectos (50% de EB de cada uno). Los resultados indicaron que no hay diferencias significativas en el crecimiento, supervivencia de los peces, ni en la TCA entre tratamientos. Además, la TEP fue más alta en la dieta control y la inclusión de insectos se asoció con un contenido más bajo de PUFAs n3.

Tilami *et al.* (2020) evaluaron el remplazo del 25% de HP por una mezcla de harina de *A. domesticus* y *Z. morio* en proporción 1:1 en la dieta para juveniles de *Perca fluviatilis*. El crecimiento disminuyó y la TCA aumentó en los peces alimentados con la mezcla de insectos en comparación con el control. Además, la alimentación con la dieta de insectos evidenció un aumento significativo de ácido linoleico y del contenido total de PUFAS n6 en músculo, aunque dichos cambios no afectaron considerablemente el valor nutricional del producto para el consumo humano.

En totoaba se ha realizado la sustitución parcial de HP por fuentes proteicas alternativas como harina de subproducto de ave (HA), de soya (PS) y de concentrado de soya (CPS) encontrando resultados favorables en su rendimiento biológico (Carpio-Ramírez, 2013; Espinoza-Acevedo, 2014; Bañuelos-Vargas *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015). Hasta el momento este es el primer estudio en utilizar harina de insecto como fuente alternativa de la HP en dietas para *T. macdonaldi*.

## 1.5 Justificación

Actualmente uno de los temas más relevantes en nutrición acuícola es la búsqueda de nuevas alternativas a la harina de pescado como principal ingrediente en las dietas. Si bien este ingrediente se ha venido utilizando tradicionalmente debido a su alta calidad nutricional, la reciente búsqueda de una acuicultura sostenible y su alto costo requiere la sustitución inminente de esta harina en las dietas para organismos acuáticos, debido a que es un recurso principalmente obtenido de la actividad pesquera y muy limitado teniendo en cuenta el ritmo de sus capturas en la actualidad. Recientemente las harinas de insecto han surgido como una opción viable, sin embargo, la información actual en relación con su implementación en las dietas para organismos acuáticos aun es limitada y existen desafíos en cuanto a composición de LC-PUFAs y su digestibilidad, por lo que es relevante continuar con las investigaciones en el campo de la nutrición en especies que tiene potencial acuícola como *Totoaba macdonaldi*.

La totoaba es una especie que exhibe gran potencial para la acuicultura nacional, la cual es una alternativa para recuperar sus poblaciones naturales y fomentar un producto endémico del Golfo de California en el mercado nacional. Teniendo en cuenta lo anterior, este estudio busca evaluar el efecto de la sustitución parcial de harina de pescado por harina de insecto en dietas para totoaba, además de aportar información nutricional relacionada con la especie.

## 1.6 Hipótesis

- El crecimiento, la supervivencia, el perfil de LC-PUFAs, la digestibilidad y la actividad de las enzimas digestivas de juveniles de *Tototaba macdonaldi* no se verán afectados negativamente por la sustitución del 25% de harina de pescado por la harina de la mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) o la harina del grillo doméstico (*Acheta domesticus*).

## 1.7 Objetivos

### 1.7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la sustitución parcial de la harina de pescado por la harina de la mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) y harina de grillo doméstico (*Acheta domesticus*), en el desempeño biológico, digestión y perfil nutricional de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

### 1.7.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la sustitución en dieta (25 y 50 %) de harina de pescado por harina de larvas de mosca soldado negra (*H. illucens*) y harina de grillo doméstico (*A. domesticus*) en el crecimiento, la supervivencia y el perfil de ácidos grasos del musculo en juveniles de *T. macdonaldi*.
- Evaluar el efecto en la digestibilidad de las dietas de distintos niveles de sustitución de harina de pecado por harina de *H. illucens* y harina de *A. domesticus* en juveniles de *T. macdonaldi*.
- Evaluar el efecto de la sustitución en dieta (25 y 50%) de harina de pescado por harina de *H. illucens* y harina de *A. domesticus* en la actividad enzimática de la tripsina, lipasas y amilasas en el intestino y ciegos pilóricos de juveniles *T. macdonaldi*.

## Capítulo 2. Materiales y métodos

### 2.1 Dietas experimentales

La harina de mosca soldado (HMS) negra utilizada para la formulación del alimento fue suministrada por la empresa DIPTERRA (León, Guanajuato, México) y elaborada a partir de larvas de *Hermetia illucens* secas. En cuanto a la harina de grillo doméstico (HGD), fue elaborada y distribuida por la empresa Griyum (Santiago de Querétaro, Querétaro, México) y producida a partir de grillos adultos criados en un sistema de producción controlado.

**Tabla 2.** Ingredientes ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) de las dietas experimentales para juveniles de *T. macdonaldi*.

Ingredientes	Control	G25	G50	M25	M50
Harina de pescado <sup>a</sup>	400	300	200	300	200
Harina de insecto <sup>b</sup>	0	100	200	119	237
Harina subproducto avícola <sup>c</sup>	200	200	200	195	185
Harina de germen de trigo <sup>d</sup>	100	100	100	100	100
Aceite de pescado <sup>e</sup>	60	60	60	60	60
Aceite de krill <sup>f</sup>	10	10	10	10	10
Harina de gluten de maíz <sup>g</sup>	120	120	120	115	105
Celulosa	64	64	64	55	57
BTA	1	1	1	1	1
Stay C	1	1	1	1	1
Taurina	10	10	10	10	10
Colina	10	10	10	10	10
Lisina	8	8	8	8	8
Treonina	1	1	1	1	1
Metionina	5	5	5	5	5
Mix de vitaminas y minerales <sup>h</sup>	10	10	10	10	10
Composición proximal					
Proteína	49.2±0.4	49.1±0.3	49.0±0.1	48.5±0.5	48.6±0.3
Lípidos	15.9±0.1	15.9±0.4	15.9±0.3	15.6±0.2	15.5±0.3
Ceniza	11.4±2	8.9±0.1	9.8±4.8	11.4±0.3	12.9±0.5
Humedad	4.1±0.1	4.8±0.0	5.2±0.1	3.8±0.3	3.3±0.2
Fibra*	8.0	8.5	9.0	7.5	8.2

a Harina de pescado Mazinsa (*Opisthonema*, *Sardinops sagax*, *Scomber japonicus*, *Engraulis mordax*) 65% PC, 13.35 MJ/kg

b Harina de larvas de *Hermetia Illucens* procedente de DIPTERRA (Guanajuato) 55% PC, 10.2 MJ/kg

b Harina de *Acheta domesticus* procedente de Griyum (Querétaro, México) 65% PC, 19.04 MJ/ kg

c Harina de subproducto avícola (5-03-7989) 58% PC, 12.72 MJ/kg procedente de Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V.

d Harina de germen de trigo procedente de La Milpa 25% PC, 11.8 MJ/kg

e Aceite de pescado 35.48 MJ/kg

f Aceite de Krill Biogrow

g Harina de gluten de maíz

h Premezcla de vitaminas y minerales Grupo ISA

\*Fibra calculada teóricamente con base en los ingredientes de cada dieta

No se proporcionó información sobre el procedimiento de cultivo y el sustrato de alimentación utilizado para la cría de los insectos. Se formularon cuatro dietas isoprotéicas (49%) e isolipídicas (15%) (Tabla 2).

La dieta control se preparó utilizando harina de pescado procedente de la empresa Mazinsa (Sinaloa, México) como fuente principal de proteínas y se sustituyó con harina de larvas de *Hermetia illucens* al 25% (M25), 50% (M50), y de grillo doméstico 25% (G25%) y 50% (G50%). Los ingredientes se pesaron en función de su proporción en las formulaciones de cada tratamiento (Tabla 2), y se mezclaron en una mezcladora comercial Hobart (USA). Se inició por los macronutrientes, seguido de los micronutrientes, y los aceites. Finalmente se añadió un volumen de agua correspondiente al 25% del peso total de la dieta para garantizar una mezcla homogénea y textura adecuada. La masa obtenida se pasó por un molidor de carne (Hobart, USA) con un dado con orificios de 1/16 de diámetro para moldear los pellets, los cuales fueron secados usando un horno de aire forzado de 10 pies cúbicos durante 24 horas; una vez que las dietas estuvieron secas se colocaron en bolsas de plástico selladas y se almacenaron a 4 °C hasta su utilización.

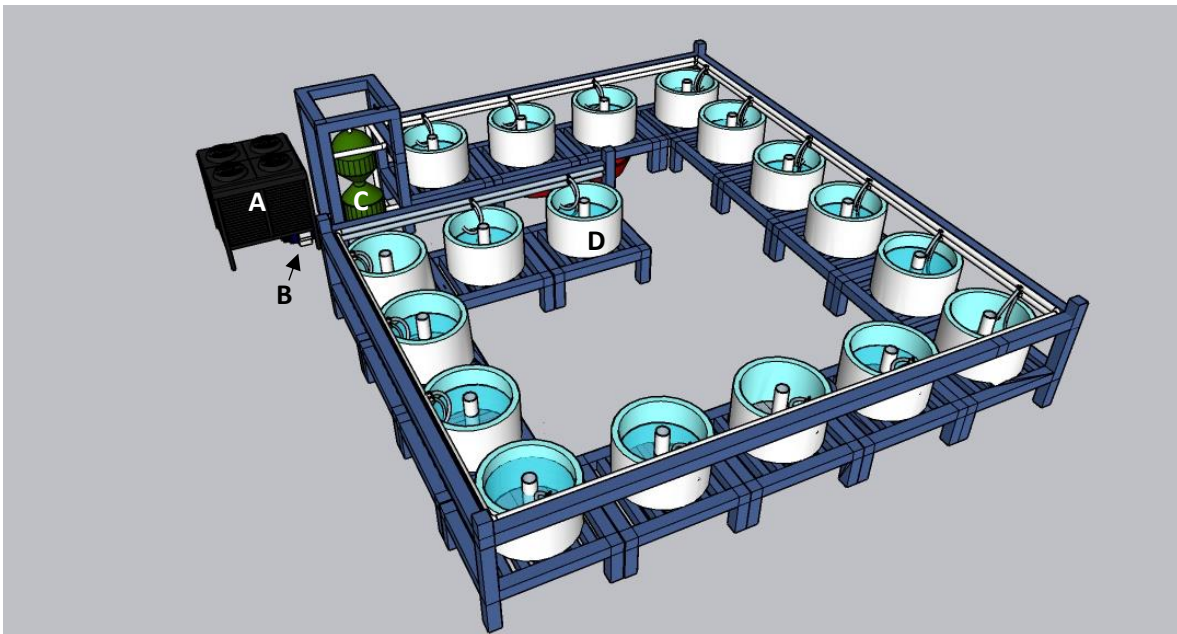
## 2.2 Bioensayo de alimentación

Este estudio se realizó en el laboratorio de peces marinos del Departamento de Acuicultura de CICESE en Ensenada B.C, México. Los juveniles de *T. macdonaldi* utilizados para el experimento fueron donados por el Acuario Oceánico L. de R.L. de C.V. en colaboración con la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Los peces iniciaron con un peso promedio de  $112\text{g} \pm 15\text{g}$ , y se aclimataron en un sistema de recirculación durante dos semanas antes del inicio del bioensayo, periodo en el que se alimentaron con una dieta comercial (Skretting-Europa; 55% proteína y 15% lípidos).

El sistema de cultivo estuvo compuesto por 15 tanques circulares de fibra de vidrio con capacidad de 275 L (Figura 6), provisto de un sistema de recirculación integrado por un biofiltro de cama compactada (patente 5232586, USA), una bomba de calor de 2HP (Titan, Aqualogic Inc, USA) y una bomba de agua de 1 HP (modelo 177954PJ, Century, USA). Las variables de calidad del agua, temperatura (°C), oxígeno disuelto (O.D) y salinidad se monitorearon diariamente con un analizador

multiparametro YSI Pro 2030. El nitrógeno amoniacal total y nitritos se cuantificaron cada tercer día con un kit API (Mars Fishcare North América, Inc. USA).

En el experimento se utilizaron 120 peces, los cuales fueron repartidos en cinco tratamientos por triplicado, cada tanque (i.e., replica) con ocho peces. Cada grupo se alimentó con su dieta respectiva hasta saciedad aparente tres veces al día (07:00, 11:00 y 15:00 h) durante 64 días. El alimento no consumido se retiró del tanque con un sifón media hora después de la segunda alimentación, y las heces sifonadas dos horas después de alimentar. En esta etapa de experimento, el alimento suministrado a los peces fue cuantificado diariamente.



**Figura 6.** Sistema de recirculación utilizado en el ensayo de alimentación. A) Bomba de calor B) Bomba de agua C) Biofiltro D) Sistema de tanques

### 2.3 Procedimiento de muestreo

Al comenzar y finalizar el experimento se determinó la longitud total (cm) y el peso (g) de todos los peces utilizando un ictiómetro (Aquatic Eco – Systems, Inc. FL, USA) y una balanza (Model AND SK – 2000WP) respectivamente. El crecimiento se monitoreo a través de biometrías intermedias realizadas cada 15 días. Para los análisis de laboratorio, se tomaron muestras de tres organismos de

la población inicial al comienzo del experimento y de dos peces por tanque al finalizar. Las totoabas fueron sacrificados utilizando una sobredosis ( $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de metanosulfonato de tricaína (MS-222) y las muestras se almacenaron a  $-20^\circ \text{C}$  hasta su posterior análisis, momento en el que se tomaron muestras del músculo de los peces y se secaron en un horno Thermolyne OV47535 durante 72h hasta obtener su peso constante. Los intestinos y ciegos pilóricos se disecaron y posteriormente se liofilizaron para ser almacenados a  $-20^\circ \text{C}$  hasta su posterior análisis. Las muestras de heces fueron tomadas 45 minutos después de la alimentación de las 11:00 durante cuatro días, finalizando la cuarta semana del ensayo. Para recolectarlas de los tanques se utilizó un sifón de vidrio de 40 cm de largo y 2mm de ancho y un tamiz de  $0.2 \mu\text{m}$ . Posteriormente se secaron durante 24 h a una temperatura de  $50^\circ \text{C}$  y almacenaron a  $-4^\circ \text{C}$  hasta su análisis.

## 2.4 Análisis de composición proximal

Los análisis de composición proximal se realizaron para las dietas y músculos de los peces de la siguiente manera: proteína cruda utilizando el método micro-Kjeldahl, compuesto de tres fases, digestión con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , destilación en  $\text{H}_3\text{BO}_3$  y titulación con HCl (AOAC, 2005); lípidos totales mediante el método de Soxhlet, disolviendo los lípidos de la muestra en éter de petróleo, y determinando el contenido de lípidos mediante gravimetría. El contenido de humedad se realizó secando 2 g de cada muestra a  $50^\circ \text{C}$  hasta obtener un peso constante, y posteriormente se determinaron las cenizas incinerando estas muestras a  $550^\circ \text{C}$  durante 24 h.

## 2.5 Cálculo de índices

Con la información anterior se calcularon los siguientes índices:

### 2.5.1 Desempeño en crecimiento

Porcentaje de peso ganado

$$PG = \frac{Pf - Pi}{Pi} \times 100$$



Donde  $P_f$  = peso final (g),  $P_i$  = peso inicial (g)

Tasa de crecimiento específica

$$TCE = \frac{\ln P_f - \ln P_i}{D} \times 100$$

Donde  $D$  = Duración del experimento (días)

Coefficiente de crecimiento térmico

$$CCT = \frac{P_f^{\frac{1}{3}} - P_i^{\frac{1}{3}}}{T \times D} \times 1000$$

Donde  $T$  = temperatura (°C)

### 2.5.2 Supervivencia

$$Supervivencia = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

Donde  $N_f$  = número final de organismos y  $N_i$  = número inicial de organismos

### 2.5.3 Índices productivos

Tasa de conversión alimenticia

$$TCA = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{ganancia en peso (g)}}$$

Tasa de eficiencia proteica

$$TEP = \frac{\text{peso ganado (g)}}{\text{peso de la proteína en el alimento (g)}}$$

#### 2.5.4 Digestibilidad aparente

Cenizas insolubles en acido

$$CIA (\%) = \frac{\text{peso de ceniza insoluble (g)}}{\text{peso de materia seca (g)}} \times 100$$

Coefficiente de digestibilidad aparente

$$CDA = \left[ 100 - \left( \frac{CIA (\%) \text{ en dieta (g)}}{CIA (\%) \text{ en heces (g)}} \right) \right] \times 100$$

### 2.6 Actividad de las enzimas digestivas

Los intestinos y ciegos pilóricos de los peces se descongelaron, pesaron y colocaron en tubos falcón de 50 mL. Posteriormente se homogeneizaron con un molidor de tejidos (POLYTRON® PT-1200, Kinematica AG, Switzerland) en 10 mL de agua destilada a 4 °C, y se centrifugaron a 16000 g durante 30 minutos a 4 °C y el sobrenadante se almacenó a -80 °C.

La actividad de la tripsina en el intestino y ciegos de los peces se cuantificó mediante el método propuesto por Erlanger *et al.* (1961), utilizando como sustrato BAPNA (N $\alpha$ -Benzoyl- DL -arginine 4-nitroanilide hydrochloride) a 1 mM disuelto en 500  $\mu$ L de dimetilsulfóxido (DMSO) en un *buffer* de Tris-HCl a 50 mM con CaCl<sub>2</sub> a 20 mM ajustado a un pH de 8.2. Se colocaron 175  $\mu$ L de la solución *buffer*+sustrato y 25  $\mu$ L de homogenizado en una microplaca de 96 pocillos, y se incubaron en el lector de placas Varioskan Flash (Thermo Scientific, Finlandia) durante diez minutos a 37 °C, a continuación, se detuvo la reacción con 50  $\mu$ L de ácido acético al 30% y después de 15 minutos, se midió la absorbancia a 410 nm. Todas las muestras se analizaron por triplicado, utilizando agua destilada como blanco.

La actividad de la lipasa se cuantificó mediante la metodología de Gjellesvik *et al.* (1992) con 4-nitrofenil-ministrato como sustrato disuelto en 1 mL de DMSO y una solución *buffer* compuesta de Tris-HCl 150 mM con taurocolato de sodio a 15 mM, ajustada a pH 8.5. En una microplaca de 96 pocillos se colocaron 200  $\mu$ L de *buffer*+sustrato y 25  $\mu$ L de homogenizado se incubaron a 37 °C durante 60 minutos y se midió la absorbancia a 405 nm.

Finalmente, la actividad de la amilasa se cuantificó mediante el método de Worthington Biochemical Corporation (1993), con almidón al 1% como sustrato, fosfato de sodio a 20 mM con cloruro de sodio a 6 mM como solución amortiguadora, y 1% de ácido dinitrosalicílico, mezclado con 30% de tartrato potásico sódico tetrahidratado como reactivo colorimétrico. Se incubaron 0.5 mL de homogenizado enzimático en tubos de ensayo en baño maría a 25 °C por 4 minutos, y posteriormente se agregaron 0.5 mL de almidón. Se incubaron los tubos nuevamente durante tres minutos, y se agregó 1 mL de ácido dinitrosalicílico (DNS) a cada uno en intervalos de tiempo de un minuto, para ser llevados a baño maría a 100 °C durante cinco minutos más. Los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente añadirles 10 mL de agua destilada y homogenizarlos. En una microplaca de 96 pocillos se colocaron 300 µL, y se midió la absorbancia a 540 nm.

La cantidad de enzima requerida para incrementar una unidad de absorbancia por minuto fue tomada como una unidad de actividad enzimática. El cálculo de la actividad de cada enzima se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad enzimática (U órgano}^{-1}\text{)} = \frac{(\Delta Abs/T)(V_{rxn})(V_t)}{(CE)(V_m) PO}$$

Donde  $\Delta Abs$ = incremento en absorbancia;  $T$ = tiempo de incubación de la reacción (min);  $V_{rxn}$ = volumen total de la reacción (mL);  $V_t$ = volumen total del extracto enzimático (mL);  $CE$ = coeficiente de extinción=1;  $V_m$ = volumen de muestra utilizada en la reacción (mL);  $PO$ = peso del órgano (g).

## 2.7 Perfil de ácidos grasos

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó para las dietas y el músculo de los peces. Este proceso se dividió en cuatro fases: extracción, saponificación, metilación y cromatografía.

La extracción se realizó mediante una modificación del método propuesto por Folch *et al.* (1957), utilizando diclorometano: metanol (2:1) como solución extractora. La saponificación y metilación fueron hechas mediante el método descrito por Metcalfe y Schmitz (1961), con una solución de KOH

(0.3N) y trifluoruro de boro disuelto en metanol respectivamente. Finalmente se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890A GC System con una columna Agilent JyW GC de 30 metros de longitud a un flujo de 3 mL\*min<sup>-1</sup> para determinar el tipo y la cantidad de ácidos grasos presentes en las muestras. La rampa de temperatura fue de 9 °C\*min<sup>-1</sup>, con una temperatura inicial de 120 °C, hasta alcanzar 190 °C. En seguida, se incrementó la temperatura a una tasa de 3 °C\*min<sup>-1</sup> hasta alcanzar una temperatura de 230 °C por 4 minutos. La identificación de los ácidos grasos se realizó por medio de tres estándares: 1) 37 Component FAME Mix, Supelco (Sigma Cat. 47885-U), 2) PUFA No.3 Menhaden oil, Supelco (Sigma Cat. 47085), 3) PUFA No.1 Marine Source, Supelco (Sigma Cat. 47033).

## 2.8 Índices económicos

### 2.8.1 Índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR)

En la literatura del cultivo de peces, la relación entre la cantidad de proteína de origen marino, *i.e.* HP, consumida en la dieta y la proteína producida como biomasa, se denomina índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR por sus siglas en inglés, Sarker et al., 2013) y es un índice de la sostenibilidad de las dietas para producir un kg de proteína de pescado. La cantidad de HP utilizada en cada dieta se calculó a través de la proporción relativa de proteínas.

El cálculo del MPDR se realizó mediante la siguiente ecuación propuesta por Sarker *et al.* (2013)

$$MPDR = \frac{\text{Proteína de HP en la dieta (Kg)}}{\text{Proteína de pescado producida}}$$

$$MPDR = \frac{NIHP \times [HP] \times FCA}{\%PP}$$

Donde *NIHP*= nivel de inclusión de harina de pescado en cada dieta experimental

*[HP]*= concentración proteica (65%, base de materia seca) en la harina de pescado utilizada en cada dieta experimental (ponderada por su nivel de inclusión y expresada como una proporción)

TCA= tasa de conversión alimenticia.

$\%PP$ = es la concentración de proteína en el cuerpo de la totoaba

### 2.8.2 Relación de conversión económica (ECR)

Como se mencionó anteriormente, el alimento es uno de los insumos más costos en la industria acuícola y depende en gran medida de la cantidad y precio de los ingredientes proteicos en la formulación de la dieta. Para estimar el costo de los ingredientes proteicos de cada dieta necesarios para producir 1 Kg de biomasa, se utilizó la relación de conversión económica (ECR; Hernández *et al.*, 2007) cuya ecuación se menciona a continuación:

$$ECR = \text{Costo de ingredientes proteicos (US)} \times TCA$$

## 2.9 Análisis estadístico de los datos

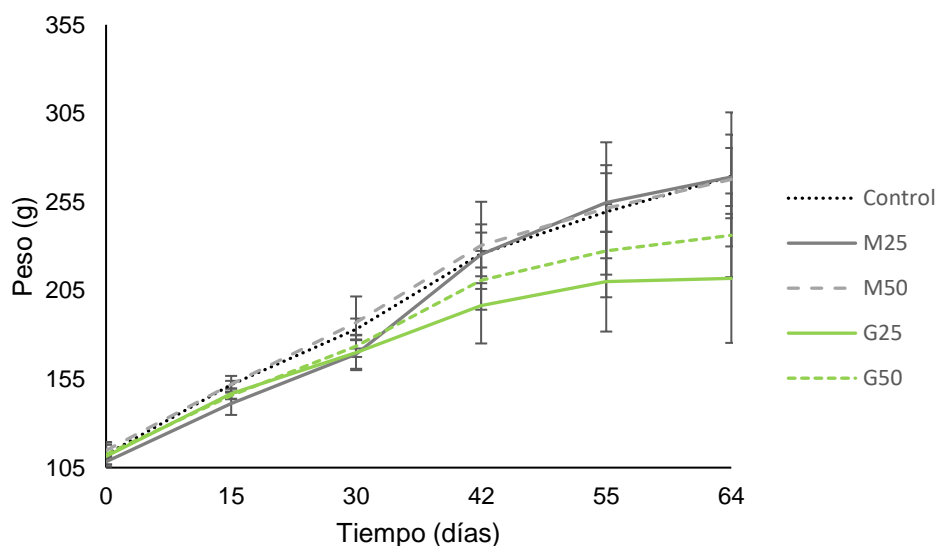
Se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Barlett) para los datos de composición proximal, crecimiento, utilización del alimento, digestibilidad, actividad enzimática y ácidos grasos. En los casos donde se cumplieron ambos supuestos, se aplicaron pruebas paramétricas (ANOVA) de una vía para determinar si por lo menos uno de los tratamientos era diferente de los demás, y en caso afirmativo se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para identificar los tratamientos que producen diferencias en las variables respuesta. En los casos en los cuales no se cumplieron los supuestos, se utilizó estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal Wallis y posteriormente la prueba posthoc de Tukey no paramétrico. Todas las pruebas se evaluaron con un nivel de significancia del 95%, utilizando el software estadístico R versión 4.0.2.

## Capítulo 3. Resultados

### 3.1 Crecimiento y supervivencia

Después de un periodo de 64 días, no se encontraron diferencias significativas en el peso final (PF) de los peces en los diferentes tratamientos. Las totoabas alimentadas con la dieta control obtuvieron un PF de  $269.4 \pm 24$ g, mientras que los alimentados con G25 y G50 tuvieron los menores pesos ( $211.9 \pm 36$  g y  $236.2 \pm 20$ g).

Con respecto al PG al finalizar el bioensayo, tampoco se vieron diferencias significativas entre tratamientos, aunque los peces alimentados con la dieta M25 ( $148.5 \pm 16$ g) tuvieron un PG ligeramente mayor al control ( $140.5 \pm 29$ g) y a los alimentados con la dieta M50 ( $134.5 \pm 42$ g), mientras que las dietas con inclusión de harina de grillo mostraron nuevamente los valores más bajos ( $90.19 \pm 33$  y  $109.4 \pm 4.4$ g). En la Figura 7 se presenta el crecimiento durante el bioensayo de los juveniles de *Totoaba* alimentados con las diferentes dietas, donde a partir del día 30 se observó una diferenciación entre los tratamientos G25 y G50 respecto a M25, M50 y el control.



**Figura 7.** Curvas de crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonaldi* a través del tiempo alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* (M) y *Acheta domesticus* (G). Los valores son expresados como promedio de tres réplicas  $\pm$  DE.

En cuanto a la tasa de crecimiento específica (TCE), los valores oscilaron entre  $0.99 \pm 0.26$  y  $1.42 \pm 0.10$ , sin diferencias significativas entre tratamientos. El coeficiente térmico de crecimiento (CCT) tuvo un comportamiento similar, sin diferencias significativas, aunque con el tratamiento M25 se obtuvo el mayor coeficiente ( $1.10 \pm 0.09$  g) y el menor con el de G25 ( $0.74 \pm 0.22$  g). Por otra parte, la supervivencia osciló entre  $66.67 \pm 38$  % y  $95.83 \pm 7.22$ %, sin diferencias significativas entre tratamientos. La muerte de los peces que se registró durante el experimento fue ocasionada por saltos incidentales fuera del tanque.

**Tabla 3.** Rendimiento en crecimiento y eficiencia alimenticia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* (M25 y M50) y *Acheta domesticus* (G25 y G50). Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  DE. Los promedios en la misma fila con diferentes letras en superíndice indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

	Control	G25	G50	M25	M50	p-valor
PI (gr)	112.3 $\pm$ 5.6	111.4 $\pm$ 0.2	112.5 $\pm$ 7.4	108.3 $\pm$ 2.8	114.7 $\pm$ 4.8	0.44
PF (gr)	269.4 $\pm$ 23.6	211.9 $\pm$ 36.4	236.2 $\pm$ 20.2	269.1 $\pm$ 16.4	267.8 $\pm$ 37.8	0.11
PG (%)	140.5 $\pm$ 28.6	90.2 $\pm$ 32.6	109.8 $\pm$ 4.4	148.4 $\pm$ 15.6	134.5 $\pm$ 41.8	0.14
TCE	1.4 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.03	1.4 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.3	0.13
CCT	1.1 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.05	1.1 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.3	0.12
S (%)	66.7 $\pm$ 38.2	91.1 $\pm$ 7.8	91.7 $\pm$ 7.2	95.8 $\pm$ 7.2	91.7 $\pm$ 0.3	0.36
AC	162.8 $\pm$ 0.4	152.8 $\pm$ 0.2	186.7 $\pm$ 0.3	185.4 $\pm$ 0.1	176.9 $\pm$ 0.1	0.01
TCA	1.2 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.2 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	0.03
TEP	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	0.02
CDA (%)	82.4 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	76.4 $\pm$ 2.3 <sup>ab</sup>	71.7 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	79.1 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	78.4 $\pm$ 4.0 <sup>ab</sup>	0.01

PI, Peso inicial; PF, Peso final; PG, Peso ganado; TCE; Tasa de crecimiento específica; CCT, Coeficiente térmico de crecimiento; Supervivencia, S; AC, Alimento consumido; TCA, Tasa de conversión alimenticia; TEP, Tasa de eficiencia proteica; CDA, Coeficiente de digestibilidad aparente.

### 3.2 Utilización del alimento y digestibilidad

La mayor tasa de conversión alimenticia (TCA) fue significativamente mayor ( $p$ , 0.03) al de las totoabas alimentadas con la dieta G25 ( $1.6 \pm 0.3$ ) que en los peces alimentados con la dieta M25 ( $1.1 \pm 0.1$ ). Lo anterior se vio reflejado también en una menor tasa de eficiencia proteica (TEP) para el tratamiento G25 ( $1.3 \pm 0.2$ ) comparada con el M25 ( $1.9 \pm 0.1$ ;  $p$ , 0.02). Por otra parte, el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) se mantuvo en un rango de valores entre  $71.7 \pm 2.6$  y  $82.4 \pm 0.4$  %. La digestibilidad de la dieta G50 ( $71.7 \pm 2.6$ %) fue significativamente menor respecto al control ( $82.4 \pm 0.4$ %) y al tratamiento de M25 ( $79.1 \pm 0.6$ %;  $p$ , 0.01).

### 3.3 Actividad de las enzimas digestivas

En la Tabla 4, se resume la actividad de las enzimas digestivas en el intestino y ciegos pilóricos de *T. macdonaldi*. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en la actividad de ninguna de las tres enzimas en el intestino. No obstante, se observó menor actividad de la tripsina en el intestino de los juveniles de *Totoaba* alimentados con los mayores niveles de inclusión de harina de insecto, (G50:  $10.2 \pm 5.4$  U organo<sup>-1</sup> y M50  $10.8 \pm 4.6$  U organo<sup>-1</sup>).

En cuanto a la amilasa, la actividad de esta enzima fue mayor en las dietas de mayor inclusión de HI (G50:  $56.6 \pm 49.3$  U organo<sup>-1</sup> y M50:  $40.5 \pm 17.5$  U organo<sup>-1</sup>). La lipasa mostro una mayor actividad en los peces alimentados con inclusión de harina de grillo domestico (G25:  $11.3 \pm 1.1$  U organo<sup>-1</sup> y G50:  $12.2 \pm 1.3$  U organo<sup>-1</sup>)

**Tabla 4.** Actividad enzimática total (U organo<sup>-1</sup>) en los intestinos y ciegos pilóricos de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* (M25 y M50) y *Acheta domesticus* (G25 y G50).

		Inicial	Control	G25	G50	M25	M50	p-valor
Intestino	Tripsina	32.3±26.9	13.7±3.0	17.6±0.1	10.2±5.4	14.1±4.7	10.8±4.6	0.18
	Amilasa	105.0±52.0	33.3±10.9	31.6±10.7	56.6±49.3	28.9±10.8	40.5±17.5	0.66
	Lipasa	15.6±11.4	6.7±3.4	11.3±1.1	12.2±1.3	8.44±2.5	9.44±2.7	0.10
Ciegos pilóricos	Tripsina	41.4±29.5	12.0±3.2	15.0±8.2	11.9±5.3	9.0±1.1	8.3±3.2	0.33
	Amilasa	96.9±61.3	26.43±5.4	38.8±2.6	44.5±9.5	47.6±22.0	33.1±15.2	0.33
	Lipasa	24.9±10.7	2.9±0.3	2.4±0.5	3.6±0.2	2.6±0.1	2.8±0.5	0.13

Con relación a la actividad enzimática en los ciegos pilóricos, no se encontraron diferencias significativas entre los peces alimentados con las diferentes dietas. Adicionalmente la actividad enzimática de la tripsina y la amilasa, entre las regiones del intestino y los ciegos pilóricos de los peces alimentados con las diferentes dietas, tampoco fue estadísticamente diferente.

En el caso de la lipasa, solo en los peces alimentados con G25 y M50 la actividad enzimática fue significativamente menor en los ciegos pilóricos respecto al intestino ( $p < 0.001$ ).



### 3.4 Análisis de la composición proximal

#### 3.4.1 Dietas

El porcentaje de proteína, así como el de lípidos fue similar en todas las dietas, con un promedio de  $48.88 \pm 0.15$  % y  $15.77 \pm 0.18$  % respectivamente. El contenido de humedad fue mayor en las dietas que contenían harina de grillo (G25:  $4.79 \pm 0.02$  y G50:  $5.24 \pm 0.14$ ) en contraste con las demás dietas, mientras que la dieta M50 tuvo el menor valor ( $3.32 \pm 0.19$ ) de humedad.

#### 3.4.2 Músculo de los peces

El porcentaje de proteína en el músculo de los juveniles de *Totoaba* osciló entre el 69.1 y 72.7%, el de lípidos entre 19.2 y 21.5%, cenizas entre 4.84 y 5.32%, y humedad entre 75.50 y 76.20% (Tabla 5). En la composición proximal del musculo de los peces, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 5.** Análisis proximal (% en peso seco) del músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dieta control elaborada con harina de pescado y dietas con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illuscens* (M25 y M50) y *Acheta domesticus* (G25 y G50). Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  D.E.

	Inicial	Control	G25	G50	M25	M50	p-valor
Proteína	82.94 $\pm$ 1.28	69.24 $\pm$ 4.88	72.77 $\pm$ 1.0	70.70 $\pm$ 3.86	66.94 $\pm$ 2.56	69.13 $\pm$ 2.75	0.33
Lípidos	16.62 $\pm$ 3.00	20.27 $\pm$ 0.74	19.18 $\pm$ 0.26	21.37 $\pm$ 2.13	19.45 $\pm$ 0.132	21.54 $\pm$ 1.0	0.14
Ceniza	6.37 $\pm$ 0.22	5.13 $\pm$ 1.17	5.18 $\pm$ 0.44	5.23 $\pm$ 0.80	5.32 $\pm$ 0.86	4.84 $\pm$ 1.09	0.72
Humedad	77.48 $\pm$ 1.07	75.79 $\pm$ 0.71	76.20 $\pm$ 0.79	76.07 $\pm$ 0.63	73.71 $\pm$ 2.90	75.50 $\pm$ 0.22	0.30

### 3.5 Perfil de ácidos grasos

#### 3.5.1 Dietas

En la Tabla 6 se resumen los resultados del análisis de ácidos grasos de las dietas elaboradas con HP y HI. En general, la cantidad total de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) fue similar entre las dietas, encontrándose en un rango entre  $43.2 \pm 1.4$  y  $50.4 \pm 3.7$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>. El ácido oleico (18:1

n9) se encontró en mayor cantidad en las dietas con harinas de insecto que en la dieta control ( $29.2 \pm 0.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). Respecto al total de ácidos grasos saturados (AGS), la dieta control tuvo una mayor cantidad ( $68.1 \pm 0.8$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) respecto a las dietas que contenían harina de insecto, que contenían entre  $61.9 \pm 0.5$  y  $63.4 \pm 0.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>. La cantidad de ácido láurico (C12:0) fue similar entre la dieta control y las dietas M25 y M50, mientras que en las dietas con HGD (G25 Y G50) resultaron en valores más elevados (Tabla 6).

En general, la cantidad total de PUFAS n6, fue significativamente mayor en las dietas con harinas de mosca (M50:  $37.5 \pm 1.8$  y M25:  $32.5 \pm 1.6$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) respecto a las dietas con harina de grillo (G25:  $27.2 \pm 0.6$  y G50:  $25.6 \pm 1.3$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) y a la dieta control ( $16.7 \pm 0.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). La cantidad de ácido linoleico (C18:2 n6) fue mayor en las dietas con harina de mosca (M50:  $37.2 \pm 1.8$  y M25:  $31.8 \pm 1.6$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) respecto a las dietas con harina de grillo (G25:  $26.7 \pm 0.5$  y G50:  $25.1 \pm 1.8$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>), y a su vez mayor en las dietas con HI que en la dieta control ( $15.9 \pm 0.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). El ácido araquidónico (ARA; C20:4n 6), se mantuvo relativamente constante en un rango de 0.09 a 0.12 mg AG\*g dieta<sup>-1</sup> entre las dietas.

En lo referente a los PUFAS n3, el ácido  $\alpha$ -linoleico (C18:3 n3) se mantuvo entre  $2.1 \pm 0.1$  y  $2.6 \pm 0.2$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>. En cuanto al ácido docosahexaenoico (DHA), se encontró una mayor cantidad en la dieta control ( $17.4 \pm 3.4$ ) respecto a las dietas con harina de mosca (M25:  $12.4 \pm 0.8$  y M50:  $13.2 \pm 6.6$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). El ácido eicosapentaenoico (EPA) fue mayor en la dieta control ( $16.4 \pm 0.7$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>), seguida de las dietas con harina de grillo (G50  $14.9 \pm 0.0$  y G25  $14.3 \pm 0.5$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>), mientras que los valores menores se obtuvieron en las dietas con harina de mosca (M25:  $11.4 \pm 1.1$  y M50:  $12.8 \pm 6.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). La cantidad de PUFAS n3 presentes en la dieta control ( $36.7 \pm 2.9$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) y en las dietas con harina de grillo (G25  $31.9 \pm 1.27$  y G50  $32.8 \pm 1.1$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) fue mayor respecto a las dietas con harina de mosca (M25:  $32.8 \pm 1.1$  y M50:  $21.6 \pm 1.4$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>).

La relación  $\sum n3/n6$  fue mayor en la dieta control ( $2.2 \pm 0.1$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) respecto a los tratamientos, donde las dietas con harina de grillo (G25:  $1.2 \pm 0.02$  y G50:  $1.3 \pm 0.02$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) contenían un valor más alto comparadas con las dietas con harina de mosca soldado-negra (M25:  $0.8 \pm 0.1$  y M50:  $0.6 \pm 0.05$  mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>).

**Tabla 6.** Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de insecto *Hermetia illuscens* (M25 y M50) y *Acheta domesticus* (G25 y G50) (mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>). Los valores corresponden al promedio de tres replicas ± DE.

	Control	G25	G50	M25	M50
C12:0	0.2±0.01	2.0±0.1	3.7±0.3	0.2±0.02	0.1±0.03
C14:0	7.5±0.2	7.1±0.1	7.9±0.5	5.4±0.3	4.6±0.3
C15:0	0.8±0.02	0.6±0.01	0.6±0.04	0.6±0.01	0.5±0.02
C16:0	38.5±0.8	35.1±0.1	34.4±1.6	37.6±0.3	38.3±1.4
C17:0	1.8±0.04	1.5±0.1	1.6±0.11	1.4±0.1	1.2±0.1
C18:0	10.9±0.4	9.2±0.3	8.8±0.1	12.5±0.6	13.1±1.2
C20:0	0.6±0.02	0.6±0.01	0.5±0.03	0.7±0.02	0.7±0.1
C22:0	3.2±0.3	2.6±0.3	3.7±0.2	2.1±0.5	1.8±0.3
C18:1n9	29.2±0.4	33.3±1.5	34.4±2.6	31.6±0.7	35.7±1.6
C18:2n6	15.6±0.4	26.7±0.5	25.1±1.3	31.8±1.6	37.2±1.8
C18:3n3	2.2±0.01	2.5±0.04	2.6±0.2	2.2±0.03	2.1±0.1
C20:4n6	0.1±0.01	0.1±0.00	0.1±0.00	0.1±0.01	0.1±0.02
C20:5n3	16.4±0.7	14.3±0.5	14.8±0.01	11.4±1.1	9.4±0.7
C22:6n3	17.4±3.4	14.9±0.7	14.6±0.9	12.4±0.8	9.7±0.6
Σ AGS	68.1±0.8	61.9±0.5	63.3±2.8	63.4±0.4	62.1±2.5
Σ AGM	45.0±0.8	47.9±2.0	50.4±3.7	43.2±1.4	45.4±1.3
Σ PUFAS n6	16.7±0.4	27.2±0.6	25.6±1.3	32.5±1.6	37.5±1.8
Σ PUFAS n3	36.7±2.9	31.9±1.3	32.8±1.1	26.5±1.9	21.6±1.4
Σ n3/n6	2.2±0.1	1.2±0.02	1.3±0.02	0.8±0.1	0.6±0.1
Σ DHA/EPA	1.1±0.2	1.1±0.01	1.0±0.1	1.1±0.04	1.0±0.01
ΣLC-PUFAS	33.9±2.3	29.3±1.2	29.5±0.9	23.9±1.8	19.2±1.3

AGS: Σ C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0 y C24:0;

AGM: Σ C14:1; C15:1; C16:1; C17:1; C18:1 n9; C20:1 n9; C22:1 n9; C24:1;

PUFAS n6: Σ C18:2 n6c; C18:2 n6t; C20:3 n6; C20:4 n6;

PUFAS n3: Σ C18:3 n3, C20:3 n3, C20:5 n3, C22:6 n3;

LC-PUFAS: Σ C20:4 n6, C20:5 n3, C22:6 n3.

En cuanto a la relación DHA/EPA, los valores fueron muy similares entre las dietas experimentales, y oscilaron entre 1.0±0.06 a 1.1±0.2mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>. Respecto a ΣLC-PUFAS, el contenido de estos AG fue muy similar a la de Σ PUFAS n3, donde la dieta control (33.9±3.0mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) y las dieta con harina de grillo (G25 29.3±1.2 y G50 29.5±0.9mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>) fueron mayores respecto a las dietas con harina de mosca (M25: 23.9±1.8 y M50: 19.2±1.3mg AG\*g dieta<sup>-1</sup>).

### 3.5.2 Músculo

El total de los AGM, fue mayor en el músculo de los peces alimentados con M50 ( $21.3 \pm 1.7$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>) comparado con la de los peces alimentados con la dieta control ( $14.9 \pm 1.2$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>), G25 ( $15.9 \pm 1.3$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>) y M25 ( $15.7 \pm 2.1$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>;  $p < 0.001$ ). Los peces alimentados con las dietas que incluían 50% de harina de insecto (G50 y M50) tuvieron mayor cantidad de C18:1 n9 ( $12.9 \pm 1.5$  y  $13.8 \pm 0.6$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>, respectivamente), aunque solo en los peces alimentados con la dieta M50 la cantidad fue significativamente mayor a la encontrada en los alimentados con la dieta control ( $10.3 \pm 0.8$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>) y G25 ( $10.3 \pm 1.4$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>;  $p < 0.001$ ).

Los valores de AGS, se mantuvieron en un rango entre  $22.8 \pm 1.6$  y  $26.8 \pm 0.6$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>, sin mostrar diferencias entre los peces alimentados con las diferentes dietas (Tabla 7). La cantidad de C12:0 solo fue significativamente mayor en los peces alimentados con M50 ( $0.4 \pm 0.1$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>) respecto a los demás ( $p$ , 0.001).

Respecto a los PUFAS n6, los valores más altos de C18:2 n6 se encontraron en los peces alimentados con las dietas que contenían harina de grillo (G25  $8.29 \pm 0.79$  y G50  $9.93 \pm 1.44$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>), seguido de los peces alimentados con M25 y M50 ( $7.74 \pm 1.26$  y M50:  $8.21 \pm 0.52$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>). Es decir, los peces alimentados con las dietas con inclusión de insecto, independiente de la especie y el nivel de inclusión, tuvieron una mayor cantidad de C18:2 n6 a los peces alimentados con la dieta control ( $5.05 \pm 0.54$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>;  $p < 0.001$ ). En cuanto a cantidad de ARA en músculo, este se mantuvo constante en un rango de  $0.04 \pm 0.0$ -  $0.05 \pm 0.01$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>, con diferencias solamente entre los peces alimentados con las dietas con harina de mosca ( $p$ , 0.04). De manera similar, el total de PUFAS n6 fue significativamente menor en los peces alimentados con la dieta control ( $5.32 \pm 0.58$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>) comparado con los alimentados con las demás dietas ( $p < 0.001$ ).

Con relación a los PUFAS n3, el contenido de C18:3 n3 solo fue mayor en los peces alimentados con la dieta M50 ( $0.8 \pm 0.04$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>). La cantidad de EPA en músculo no fue afectada por las dietas, se mantuvo entre  $6.19 \pm 0.87$  y  $7.48 \pm 1.22$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>, y la de DHA entre  $8.08 \pm 0.27$  y  $10.19 \pm 3.02$  mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>. En contenido total de PUFAS n3 en el músculo de las totoabas estuvo entre  $16.0 \pm 0.87$  y  $18.9 \pm 4.1$ .

**Tabla 7.** Perfil de ácidos grasos del músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentadas con dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de insecto *Hermetia illucens* (M25 y M50) y *Acheta domesticus* (G25 y G50) (mg AG\*g músculo<sup>-1</sup>). Los valores corresponden al promedio de tres replicas ± DE. Los promedios en la misma fila con diferentes letras en superíndice difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

	Inicial	Control	G25	G50	M25	M50	p-valor
C12:0	0.01±0.00	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>a</sup>	0.08±0.08 <sup>a</sup>	0.08±0.03 <sup>a</sup>	0.4±0.13 <sup>b</sup>	<0.001
C14:0	1.4±0.2 <sup>ab</sup>	2.3±0.4 <sup>ab</sup>	2.1±0.04 <sup>ab</sup>	1.8±0.1 <sup>ab</sup>	1.78±0.1 <sup>a</sup>	2.8±0.6 <sup>b</sup>	0.02
C15:0	0.2±0.02	0.2±0.03	0.2±0.01	0.2±0.03	0.2±0.01	0.3±0.03	0.06
C16:0	11.0±1.9	12.2±1.4 <sup>a</sup>	13.0±1.1 <sup>ab</sup>	13.9±0.8 <sup>ab</sup>	13.3±0.7 <sup>ab</sup>	15.30±0.50 <sup>b</sup>	0.02
C17:0	0.5±0.1	0.5±0.1 <sup>ab</sup>	0.5±0.01 <sup>ab</sup>	0.4±0.1 <sup>ab</sup>	0.4±0.02 <sup>a</sup>	0.5±0.04 <sup>b</sup>	0.04
C18:0	3.6±0.6	4.0±1.12	4.4±0.8	4.7±0.9	4.5±1.0	4.1±0.4	0.85
C20:0	0.05±0.09	2.1±0.5	0.1±0.03	0.2±0.01	0.14±0.04	0.13±0.01	0.17
C22:0	2.6±0.4	1.5±0.5	1.0±0.3	1.5±0.4	0.9±0.3	1.52±0.5	0.93
C18:1 n9	9.80±1.44	10.26±0.80 <sup>a</sup>	10.27±0.95 <sup>a</sup>	12.86±1.50 <sup>ab</sup>	10.98±0.89 <sup>ab</sup>	13.75±0.63 <sup>b</sup>	<0.001
C18:2 n6	6.01±0.78	5.05±0.54 <sup>a</sup>	8.29±0.56 <sup>b</sup>	9.93±1.44 <sup>b</sup>	7.74±1.26 <sup>b</sup>	8.21±0.52 <sup>b</sup>	<0.001
C18:3 n3	0.56±0.11	0.61±0.04 <sup>a</sup>	0.64±0.03 <sup>ab</sup>	0.69±0.08 <sup>ab</sup>	0.67±0.05 <sup>ab</sup>	0.81±0.04 <sup>b</sup>	0.01
C20:4 n6	0.03±0.00	0.05±0.01 <sup>ab</sup>	0.04±0.00 <sup>ab</sup>	0.04±0.01 <sup>ab</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	0.04
C20:5 n3	5.95±1.32	6.23±0.87	6.19±0.40	6.34±0.52	6.34±0.16	7.48±1.22	0.24
C22:6 n3	13.60±2.16	8.08±0.27	9.04±2.25	9.76±4.57	9.43±1.58	10.19±3.02	0.97
Σ AGS	20.71±3.28	24.41±3.3	22.82±1.61	24.02±1.18	22.84±1.13	26.78±0.60	0.49
Σ AGM	16.76±2.65	14.94±1.20 <sup>a</sup>	15.91±1.27 <sup>a</sup>	19.44±2.22 <sup>ab</sup>	15.70±2.10 <sup>a</sup>	21.30±1.70 <sup>b</sup>	<0.001
PUFAs n6	6.24±0.81	5.32±0.58 <sup>a</sup>	8.56±0.82 <sup>b</sup>	10.23±1.43 <sup>b</sup>	7.99±1.25 <sup>b</sup>	8.51±0.52 <sup>b</sup>	<0.001
PUFAs n3	20.43±3.42	15.99±0.87	16.21±1.15	17.12±3.90	16.73±1.51	18.89±4.06	0.70
n3/n6	3.27±0.25	3.02±0.86 <sup>a</sup>	1.90±0.26 <sup>b</sup>	1.66±0.16 <sup>b</sup>	2.12±0.31 <sup>b</sup>	2.21±0.34 <sup>b</sup>	<0.001
DHA/EPA	2.31±0.33	1.44±0.18	1.47±0.35	1.58±0.82	1.49±0.27	1.35±0.24	0.98
LC-PUFAs	19.59±3.29	15.16±0.96	15.28±1.19	16.15±4.04	15.80±1.48	17.72±4.08	0.79

AGS: Σ C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0 y C24:0;

AGM: Σ C14:1; C15:1; C16:1; C17:1; C18:1 n9; C20:1 n9; C22:1 n9; C24:1;

PUFAs n6: Σ C 18:2 n6c; C18:2 n6t; C20:3 n6; C20:4 n6;

PUFAs n3: Σ C18:3 n3, C20:3 n3, C20:5 n3, C22:6 n3;

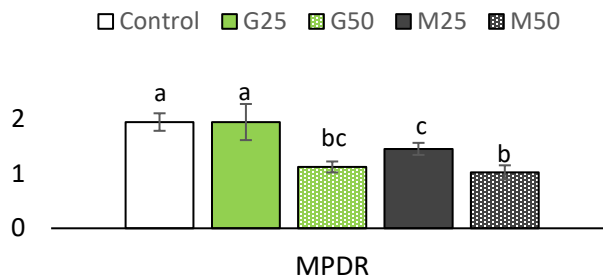
LC-PUFAs: Σ C20:4 n6, C20:5 n3, C22:6 n3.

La relación de DHA/EPA y el total de LC-PUFAs no difirieron significativamente entre tratamientos. La relación Σn3/n6, fue significativamente mayor en los peces alimentados con la dieta control (3.02±0.21) respecto a los alimentados con las dietas de harinas de insecto ( $p, < 0.001$ ).

### 3.6 Índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR) y relación de conversión económica (ECR)

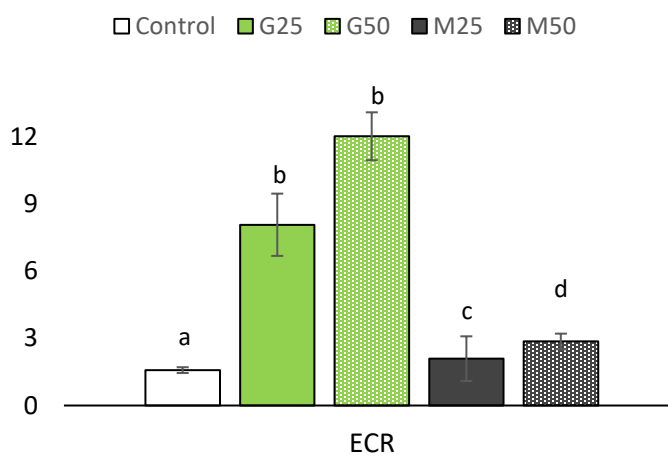
Los peces alimentados con la dieta control (1.94±0.16) y G25 (1.94±0.33) mostraron una mayor dependencia de las proteínas marinas (Figura 8). Un efecto similar se observó en los peces

alimentados con la dieta M25 ( $1.45 \pm 0.11$ ). El mayor nivel de inclusión de HI produce una mayor reducción en la dependencia de las proteínas de origen marino.



**Figura 8.** Índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR) de las dietas experimentales. Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  D.E. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

La relación de conversión económica (ECR), el costo de la producción de un kg de biomasa es mayor con las dietas elaboradas con HG (G25 y G50). Con la dieta control y las dietas elaboradas con HMSN el costo se redujo en forma significativas ( $p, < 0.001$ ), con el menor valor para la dieta control ( $1.58 \pm 0.13$ ).



**Figura 9.** Relación de conversión económica (ECR) de las dietas experimentales. Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  D.E. Las letras en superíndice indican las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

## Capítulo 4. Discusión

---

La investigación relacionada con los ingredientes alternativos a la harina de pescado sigue siendo uno de los temas de mayor relevancia en la búsqueda de una acuicultura sostenible. En este sentido por sus características nutricionales, las harinas de insecto tienen un gran potencial, aunque el conocimiento de sus efectos aun requiere mayor investigación, y en su mayoría se han centrado en pocas especies de insectos. El presente trabajo es el primero en evaluar la inclusión de harina de dos especies de insecto (*Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*) como sustituto parcial de la harina de pescado en la dieta para juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

### 4.1 Desempeño en crecimiento y supervivencia

La inclusión de harina de insecto en la dieta no afectó negativamente la supervivencia de los peces, estos datos son consistentes con lo encontrado en la mayoría de los estudios de este tipo (Kroeckel *et al.*, 2012; Karapanagiotidis *et al.*, 2014; Magalhaes *et al.*, 2017; Renna *et al.*, 2017, Zhou *et al.*, 2018; Abdel-Tawwab *et al.*, 2020; Caimi *et al.*, 2020; Fawole *et al.*, 2020; Mastoraki *et al.*, 2020; Stejskal *et al.*, 2020; Tilami *et al.*, 2020; Agbohessou *et al.*, 2021; Hender *et al.*, 2021).

Los peces mostraron una buena aceptación de las dietas con harinas de insecto, sin diferencias significativas en el alimento consumido con los distintos tratamientos. Si bien numéricamente el PF y el PG fueron ligeramente menores en los peces alimentados con HGD (Figura 7), estas variables no mostraron diferencias significativas entre grupos. La misma tendencia se observó con la TCE y el CCT. Los resultados de crecimiento en los peces alimentados con dietas que incluían harina de *Hermetia* son consistentes con los respuestas observadas en algunos peces dulceacuícolas como tilapias (*Oreochromis* sp.), bagres (*Clarias gariepinus*, *Ictalurus punctatus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y perca de río (*Perca fluviatilis*), con sustituciones de 25 y 50% de HP por HMSN, y en algunos casos hasta un porcentaje mayor, y no se observaron efectos negativos en el crecimiento de los peces (Bondari y Sheppard, 1981; Devic *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018; Fawole *et al.*, 2020; Adeoye *et al.*, 2020; Agbohessou *et al.*, 2021; Tippayadara, *et al.*, 2021). En salmónidos como trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y el salmón del atlántico (*Salmo salar*) también se han evaluado remplazos

del 25 y 50% con HMSN, sin repercusión en el PF ni PG (St-Hilaire *et al.*, 2007a, Sealey *et al.*, 2011, Lock *et al.*, 2016, Renna *et al.*, 2017).

Estudios similares con peces marinos, como la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) han evaluado remplazos desde 15% y hasta el 50% sin que se observaran efectos negativos en el PF, PG y TCE (Magalhaes *et al.*, 2017; Mastoraki *et al.*, 2020; Abdel-Tawwab *et al.*, 2020). En el esturión (*Acipenser baerii*), Caimi *et al.* (2020) remplazaron 25 y 50% de HP por HMSN, y observaron que con el 25% de sustitución no se afectaban adversamente el PF, PG, ni la TCE. Resultados similares se obtuvieron en el barramundi (*Lates calcarifer*), un remplazo del 30% de HP y AP por harina y aceite de MSN (Hender *et al.*, 2021). En la corvina asiática (*Argyrosomus regius*), una especie de la misma familia de *T. macdonaldi*, Guerreiro *et al.* (2020) encontraron que remplazos de 17 y 35% no generaron una disminución significativa en PG, sin embargo, cuando el remplazo fue de 52% observaron un menor PG.

El buen desempeño en el crecimiento de los peces cuando son alimentados con inclusión de HMSN en sus dietas, similar al observado en otras especies de peces de agua dulce y marinas, se atribuye en parte a que el perfil de AA de esta harina es similar a la HP, y por lo tanto cubre los requerimientos de los peces, inclusive de los marinos carnívoros (Magalhaes *et al.*, 2017; Guerreiro *et al.* 2020). Los resultados de la presente investigación muestran que un porcentaje de sustitución de HP por HMSN en dietas para *Totoaba* hasta del 50% no produce efectos adversos en el crecimiento. Estos resultados positivos sirven de base para proponer el estudio de niveles mayores de sustitución de HP por HMSN.

Por otra parte, algunos estudios en peces marinos han arrojado resultados negativos en el crecimiento con la inclusión de HMSN en la dieta, aun en niveles bajos. Por ejemplo, Kroeckel *et al.* (2012) encontraron un efecto adverso en el PG y TCE del rodaballo (*Scophthalmus maximus*) al sustituir del 17 al 76% de la HP por la HMSN. Así mismo, Karapanagiotidis *et al.* (2014), sustituyeron el 10, 20 y 30% de HP por HMSN en *Sparus aurata* y observaron una disminución en el PF y PG aun con los niveles más bajos, aunque la TCE no se vio afectada. En ambos estudios, los autores observaron que los peces alimentados con las dietas que contenían HMSN redujeron su consumo de alimento. Por lo tanto, atribuyeron los resultados a una mala palatabilidad de las dietas, ocasionada presuntamente por el exceso de quitina de la HMSN. En la presente investigación, por



el contrario, no se encontró una diferencia significativa en el alimento consumido por los peces alimentados con dietas que contenían HMSN.

No obstante, cabe señalar que las discrepancias entre estos estudios pueden atribuirse no solo a las diferentes especies de peces evaluadas, sino también a las diferencias en la composición proximal de la harina de *H. illucens* utilizada, que puede variar de manera importante, dependiendo del estadio larval del insecto, de las condiciones de cultivo del insecto y del procesamiento de la harina, entre otros factores (van Huis y De Prins, 2013; Henry *et al.*, 2015; Magalhaes *et al.*, 2017; Nogales-Mérida *et al.*, 2019; Caimi *et al.*, 2020). El estudio de Lock *et al.*, (2016), en el que se evaluaron dos tipos de harinas de *H. illucens*, obtenidas mediante técnicas de aislamiento y procesamiento de nutrientes diferentes, ejemplifica de forma clara este efecto, ya que solo con una de ellas se obtuvo un buen crecimiento del salmón del Atlántico. Los efectos negativos sobre el crecimiento se atribuyeron a incremento en los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que reducen su palatabilidad.

En cuanto a la harina de grillo doméstico *Acheta domesticus*, se ha documentado en la literatura su potencial como alternativa a la HP, principalmente por su alto contenido proteico (van Huis y De Prins, 2013; Barroso *et al.*, 2014). Recientemente se han realizado experimentos para evaluar el potencial biotecnológico de esta harina en dietas para peces, así como el efecto de la sustitución de HP por HGD en la composición proximal y en algunas características fisicoquímicas de los pellets para peces (Irungu *et al.*, 2018a, 2018b, 2018c; Talan *et al.*, 2019). En este sentido, Lee *et al.* (2017), evaluaron el efecto de la inclusión diferentes proporciones de HGD (60, 70, 80, 90 y 100%) y salvado de arroz (40, 30, 20, 10 y 0%) en la dieta de la tilapia roja, *Oreochromis sp* sobre su desempeño biológico y observaron que la dieta con la menor concentraciones de HGD (60/40) produjo las mejores TCE. Es posible que los mayores niveles de inclusión de HGD también involucraran una mayor cantidad de quitina en las dietas y que repercutieran negativamente en el crecimiento de los peces.

Por su parte Turek *et al.* (2020), alimentaron la trucha arcoíris con una dieta a base pellets comerciales o una dieta mixta a base de pellets comerciales y dos especies de insectos vivos: adultos de *A. domesticus* y larvas de *Zophobas morio*. Los grillos fueron mantenidos a 6°C con el fin de mantenerlos vivos pero inactivos, mientras que las larvas del gusano se mantuvieron a 22°C. El grupo

de control fue alimentado solo con pellets, mientras que en los otros grupos se reemplazó el 25% de la energía bruta de los pellets con grillos domésticos adultos (grupo C) y larvas de *Z. morio* (grupo L) o reemplazando 12,5% de energía bruta con cada una de las especies de insectos por separado (LC). El grupo I, fue alimentado solo con grillos y larvas de gusano (50:50 de la energía bruta de la dieta). No se observaron diferencias significativas en el crecimiento ni en la supervivencia entre tratamientos.

Tilami *et al.* (2020) evaluaron el reemplazo de un 25% de la HP por una mezcla de harinas de *A. domesticus* y *Z. morio* en una proporción 1:1, en dietas para juveniles de la *Perca fluviatilis* y observaron que el PF y PG de los peces alimentados con la mezcla de HI disminuyó en comparación con el control. Estos resultados contrastan con los encontrados en el presente estudio, ya que se logró un reemplazo del 25% e inclusive del 50% de HP por HGD sin efectos negativos en el PF y PG. Sin embargo, es importante resaltar que las diferencias en los resultados del estudio de Tilami *et al.* (2020), se deben al efecto combinado de las harinas de *Z. morio* y *A. domesticus*, y se ha reportado que la harina de *Z. morio* tiene un perfil de AAE desequilibrado y una baja palatabilidad (Jabir *et al.*, 2012).

En otros estudios donde se ha evaluado la sustitución parcial de HP por harina de ortópteros (i.e., grillos, saltamontes, etc.) en dietas para peces, se han observado buenos resultados en el crecimiento. Por ejemplo, en dietas para el bagre africano (*Clarias gariepinus*), se reemplazaron el 25, 50, 75 y 100% de HP por harina del saltamontes *Zonocerus variegatus*, y se observó que un reemplazo del 25% mejoró significativamente el crecimiento de los peces (Alegbeleye *et al.* 2012). Esta respuesta se atribuyó a un efecto benéfico de la quitina cuando está presente en una cantidad moderada. Por otra parte, en esta misma especie de bagre, Taufek *et al.* (2018) evaluaron el reemplazo del 25, 50, 75 y 100% de HP por harina del grillo de dos puntos (*Gryllus bimaculatus*), perteneciente a la misma subfamilia que *A. domesticus* (Gryllinae), y se evidenció que un reemplazo del 100% con harina de este grillo mejoró el PG y TCE de los peces. No obstante, estos resultados se debieron a la mala calidad de la HP utilizada, baja en proteína (53.6%) y alta en cenizas (19%).

Por su parte, Jeong *et al.* (2021) reemplazaron el 20, 40, 60 y 80% de HP por harina de grillo de dos puntos en juveniles del lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) y no observaron efectos negativos en el PG y la TCE con una sustitución de hasta el 60% de la HP, a pesar de que el aumento de quitina

en las dietas ocasiono una baja digestibilidad de los nutrientes. Los resultados de estas últimas investigaciones concuerdan con los del presente estudio, donde el crecimiento de los peces no se vio afectado por la inclusión de hasta un 50% de harina de grillo en sus dietas.

## 4.2 Utilización del alimento y digestibilidad

En relación con los índices productivos (TCA y TEP), en general, los peces alimentados con las dietas adicionadas con HMSN y con la dieta control tuvieron un mejor aprovechamiento del alimento (i.e., menores valores de la TCA y mayores de la TCE) que los alimentados con las dietas que incluían HGD. Los valores de TCA y TEP encontrados en el presente estudio, para los peces alimentados con la dieta control y las de inclusión de HMSN, son similares a los reportados previamente para juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas bien balanceadas nutricionalmente, lo que indica un buen desempeño de las dietas con HMSN, aun con el 50% de reemplazo de HP (Madrid *et al.*, 2019).

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha (Alegbeleye *et al.*, 2012; Karapanagiotidis *et al.*, 2014; Renna *et al.*, 2017; Devic *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018; Abdel-Tawwab *et al.*, 2020; Adeoye *et al.*, 2020; Caimi *et al.*, 2020; Fawole *et al.*, 2020; Stejskal *et al.*, 2020; Hender *et al.*, 2021), muestran que una sustitución entre el 25 y 50% de HP por HMSN no ejerce un efecto negativo sobre TCA y TEP, lo que concuerda con los resultados del presente estudio. Esto indica que los peces alimentados con HMSN utilizaron de manera eficiente las proteínas de la dieta y que es una buena fuente proteica para sustituir la HP en las dietas para totoaba (De Silva y Anderson, 1994; Devic *et al.*, 2018).

Aunque se observó una mayor TCA y una TEP menor en los peces alimentados con HGD respecto a los demás tratamientos, solo en G25 las diferencias fueron significativas respecto a M25. El hecho de que G50 no fuera estadísticamente diferente en estos índices, a pesar de tener un porcentaje de inclusión mayor de HGD, podría deberse a que se observó una menor velocidad de hundimiento de esta dieta en comparación con G25, situación que pudo favorecer su consumo por parte de las totoabas. Para futuros estudios se recomienda realizar una prueba de estabilidad y flotabilidad de las dietas para evitar que estas variables puedan tener un efecto sobre los resultados.

En algunos estudios se ha reportado un aumento en la TCA de peces alimentados con 25% de sustitución de HP por la mezcla de insectos (*A. domesticus* y *Z. morio*), en comparación con el control (Tilami *et al.* 2020). Por otra parte, Taufek *et al.* 2016a, con una sustitución del 75 y 100% de HP por harina de *Gryllus bimaculatus* en la dieta para *Clarias gariepinus*, y a pesar de que las diferencias en la TCA y TEP no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos, observaron una reducción en la TCA y un aumento en la TEP a medida que aumentó la inclusión de harina de grillo respecto al control. No obstante, existen otros estudios en peces en los que el remplazo del 20 al 100% de HP por harina de esta especie de grillo no afecta la TCA ni TEP (Taufek *et al.*, 2018; Jeong *et al.*, 2021).

Se sabe que los dípteros tienen un perfil de AAE (principalmente metionina y lisina), más similar a la HP que los ortópteros, lo que podría afectar la TEP de los peces (Makkar *et al.*, 2014; Barroso *et al.*, 2014; Oliva-Teles *et al.*, 2015). En el presente estudio las dietas se suplementaron con treonina, metionina y lisina para que una posible deficiencia no afectara los resultados. Aunque los AA cristalinos se han utilizado satisfactoriamente en *T. macdonaldi* (Madrid *et al.*, 2019), su eficiencia puede verse afectada por el tipo de dieta y los ingredientes utilizados para formularla (Furuya *et al.*, 2004). Además, la disponibilidad de los AA en las dietas depende no solo del tipo de insecto utilizado para elaborar la harina, sino también del proceso utilizado para obtener estas harinas como se mencionó anteriormente (Nogales-Mérida *et al.*, 2019), información que en este estudio se desconoce.

Es posible que en el presente estudio los valores de las TCA y TEP de los peces alimentados con las dietas elaboradas con harina de grillo, se deba en parte al exceso de quitina, que pueden causar un menor consumo de alimento, lo que resultó en un menor crecimiento (Kroeckel *et al.*, 2012; Caimi *et al.*, 2020; Tilami *et al.*, 2020), y también una afectación en los índices productivos como TCA y TCE (Alegbeleye *et al.*, 2012; Taufek *et al.*, 2016b).

La inclusión de HI produjo una reducción en la digestibilidad de la dieta a medida que aumentó el nivel de inclusión. Esto resultados concuerdan con estudios previos donde se evaluó la sustitución de HP por HI (Taufek *et al.*, 2016b; Renna *et al.*, 2017; Basto *et al.*, 2020; Caimi *et al.*, 2020; Guerreiro *et al.*, 2021; Agbohessou *et al.*, 2021). No obstante, los CDA para las dietas con harina de mosca (M25: 79.1 y M50: 78.4%) fueron similares a los de la dieta control (80.4%), mientras que los peces alimentados con dietas con inclusión de HGD mostraron menores porcentajes (G50, 71.7%) con

respecto al control. Jeong *et al.*, (2021) observaron una disminución similar del CDA al sustituir más del 20% de HP por harina de grillo de dos puntos. Los CDA obtenidos en el presente estudio para las dietas con HMSN son similares a los encontrados por Guerreiro *et al.* (2020) en dietas para la corvina (*Argyrosomus regius*) y por Basto *et al.*, (2020) en la lubina europea; sin embargo, con las dietas que incluían *A. domesticus* (76.36 y 71.68%) los CDA en general son mayores que los reportados por Jeong *et al.* (2021) (66.1-74.5%) y por Taufek *et al.* 2016b (62.26%) en diferentes niveles de sustitución HP por *Gryllus bimaculatus*.

Analizando la composición nutrimental de las HI, es evidente que al incrementar su contenido en las dietas también se incrementa el contenido de quitina y disminuye el CDA. En este sentido también se observa una menor eficiencia alimenticia (mayor TCA) y una menor eficiencia proteica (TEP reducido), que se relacionan con un CDA reducido. La hipótesis de que la quitina sea la responsable del efecto adverso en estas variables también se respalda por el hecho de que las dietas elaboradas con HGD son las de mayor contenido de fibra, que se relaciona directamente con la cantidad de quitina en la dieta. Cabe subrayar que la diferencia en el contenido de quitina de la HMSN y la HGD se puede relacionar con el estadio del insecto que se utilizó para su elaboración. En el caso de la HMSN, según el proveedor, se elaboró a partir de larvas de insecto, mientras que para la HGD se utilizaron grillos adultos (Sánchez-Muros *et al.*, 2013; Barroso *et al.*, 2014).

La disminución en CDA ocasionada por la inclusión de harina de insecto, especialmente en las dietas que contenían HGD, sugiere que la *Totoaba* no posee quitinasas capaces de degradar este polímero (i.e. Quitina) (St-Hilaire *et al.*, 2007a; Sánchez-Muros *et al.*, 2013). Por lo que se recomienda para estudios futuros estudiar la actividad quitinasa intestinal de *T. macdonaldi*.

### **4.3 Actividad de las enzimas digestivas**

La inclusión de HI en las dietas no tuvo ningún efecto negativo en las enzimas digestivas en la totoaba, ya que no se encontraron diferencias en la actividad de la tripsina, amilasa y lipasa en el intestino y ciegos pilóricos de las totoabas alimentadas con la dieta control y las dietas que contenían HI. En un estudio reciente, Agbohessou *et al.* (2021), observaron un incremento en la actividad de la tripsina en el intestino de la tilapia de Nilo al reemplazar el 100% de HP por HMSN.

El aumento de la producción de tripsina se ha relacionado con una baja digestibilidad de las proteínas (Becker y Yu, 2013; Agbohessou *et al.*, 2021), por lo que en el presente estudio era razonable esperar un aumento de la actividad de esta enzima proteolítica en los peces alimentados con dietas con inclusión de HI, en especial con HGD, dados los menores valores de CDA, sin embargo, esto no fue así. Es probable que alguna otra proteasa u otra clase de enzima digestiva haya sido afectada por las dietas, pero no se cuantificaron en el presente estudio, por lo que sería interesante evaluar otras enzimas digestivas de la totoaba en futuros estudios con harinas de insecto.

En contraste con el estudio de Agbohessou *et al.* (2021), Guerreiro *et al.* 2021 reportaron una disminución de la actividad de la tripsina en el intestino de la corvina *Argyrosomus regius* a medida que se incrementó el % de HMSN en la dieta, una tendencia similar a la observada en el presente estudio con *T. macdonaldi*. Estos autores indican que el aumento de la quitina de HI presente en las dietas pudo ocasionar una reducción del acceso de la enzima proteolítica a sus sustratos (Henry *et al.*, 2015; Guerreiro *et al.* 2021). Por otro lado, Lu *et al.* 2020 observaron una menor actividad de la amilasa y lipasa en el intestino de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*, al sustituir las proteínas de la harina de soya de su dieta con un 50, 75 y 100% de HMSN, contrastante con lo encontrado en la totoaba en esta investigación al sustituir HP por HI.

En otro estudio, Hu *et al.* (2020) no encontraron diferencias significativas en la actividad de la tripsina ni de la amilasa al sustituir del 2.5 al 7.5% de HP por HMSN en el intestino de la anguila (*Monopterus albus*). Sin embargo, la actividad de la lipasa si aumentó con el incremento de HMSN en las dietas, lo que se relacionó con un posible efecto negativo en la digestión, absorción y asimilación de las grasas. Este resultado es similar a lo encontrado en la presente investigación, aunque el incremento de la lipasa en los peces alimentados con HI no fue significativo. En general, los estudios que evalúan el efecto de la sustitución de HP por HI en las enzimas digestivas en peces son muy recientes y limitados, además de discrepantes, por lo que es necesario el desarrollo de una mayor investigación.

#### **4.4 Composición proximal y perfil de ácidos grasos**

La composición proximal (i.e., % de proteínas, lípidos y CH) del músculo de los peces alimentados con las diferentes dietas, no mostro diferencias entre grupos, resultados esperados dado que todas

las dietas fueron isolípídicas e isoprotéicas. Estos resultados también concuerdan con otros estudios donde se evaluó la sustitución de HP por HMSN en diferentes niveles de inclusión (Karapanagiotidis *et al.*, 2014; Devic *et al.*, 2018; Mastoraki *et al.*, 2020; Stejskal *et al.*, 2020).

En contraste, las dietas si tuvieron un efecto importante en el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces. La cantidad de ácido oleico (18:1n 9) y linoleico (18:2n 6) fue significativamente mayor con las dietas de harina de insecto que con la dieta control, lo que se vio directamente reflejado en el músculo de la totoaba, sobre todo para el 18:2n 6. Esto es consistente con el hecho de que el perfil de AG del músculo de los peces generalmente refleja el contenido de AG de la dieta suministrada (Turchini *et al.*, 2009; Renna *et al.*, 2017). Un aumento 18:1 n9 en los peces alimentados con inclusión de HMSN fue reportado también por Lock *et al.* (2016) en salmón del Atlántico, y por Caimi *et al.* 2020 en el esturión *Acipenser baerii*. La cantidad total de AGM se vio ligeramente aumentada en el músculo de los peces alimentados con los mayores niveles de sustitución de HI (M50 y G50), comportamiento similar al observado por Guerreiro *et al.* (2020) en *A. regius* y Devic *et al.*, (2018) en tilapia del Nilo.

En estudios anteriores se ha encontrado una cantidad elevada de C12:0 en las dietas que contienen HMSN (Sealey *et al.*, 2011; Lock *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2018; Abdel-Tawwab *et al.*, 2020; Caimi *et al.*, 2020; Guerreiro *et al.*, 2020; Hender *et al.*, 2021). En la presente solo con las dietas que incluían harina de grillo se observó un incremento de la concentración de este AG monoinsaturado, en especial en los peces alimentados con la dieta G50. A pesar de que estas diferencias dietéticas no se vieron reflejadas en el músculo de los peces, resultados concordantes con Lock *et al.* (2016), se ha reportado que las dietas ricas en C12:0 pueden reducir la ingesta de alimento de los peces (Figueiredo-Silva *et al.*, 2012), lo que es consistente con el comportamiento de las totoabas alimentadas con HGD.

El contenido total de AGS fue ligeramente más elevado en la dieta control que en las dietas con HI. No obstante, en el músculo de los peces no se encontraron diferencias en la cantidad de AGS. Estos resultados son similares a los reportados por Devic *et al.*, (2018) en la tilapia de Nilo. Sin embargo, contrastan con los valores reportados por otros autores donde observaron un aumento de AGS en los peces alimentados con dietas que incluían HMSN y con HGD respecto al control (Renna *et al.*,

2017, Zhou *et al.*, 2018 Caimi *et al.*, 2020; Stejskal *et al.*, 2020; Tilami *et al.*, 2020; Agbohessou *et al.*, 2021). El aumento de AGS en la mayoría de estos casos fue producto del incremento de C12:0.

El contenido de ARA se mantuvo relativamente constante en todas las dietas y en el músculo de los peces alimentados con las diferentes dietas. Zhou *et al.*, (2018), evaluaron el efecto de la sustitución de HP por HMSN en la dieta de *Cyprinus carpio* y no encontraron diferencias en la cantidad de ARA en el músculo de con un 25% de sustitución, pero si con una sustitución del 50%. Por su parte Caimi *et al.* (2020) observaron un aumento del contenido de ARA en los esturiones (*A. baerii*) alimentados con una dieta con el 25% de sustitución de HP por HMSN, mientras que con el 50% de sustitución no observaron diferencias significativas respecto al control. Respecto a la cantidad total de PUFAS n6, como se esperaba con base en la literatura, fue mayor en las dietas con HI, en especial con las de HMSN. El menor contenido de PUFAS n6 en la dieta control se vio reflejado en una menor cantidad de estos AG (en particular del C18:2 n6) en el músculo de las totoabas del grupo control, un resultado que es consistente con estudios anteriores (Lock *et al.*, 2016; Devic *et al.*, 2018; Caimi *et al.*, 2020; Guerreiro *et al.*, 2020; Tilami *et al.*, 2020).

Aunque la cantidad de EPA, DHA y PUFAS n3 y LC-PUFAS fue mayor en la dieta control, no se evidenció una diferencia significativa en la cantidad de estos AG en el músculo de los peces, e incluso se vieron ligeramente aumentados en las totoabas alimentadas con las dietas que incluían HI. Estos resultados concuerdan con los reportado por Lock *et al.* (2016) para el salmón, alimentado con dietas con un 25% de remplazo de HP por HMSN. De manera similar, Caimi *et al.* (2020) alimentaron al *A. baerii* con dietas en la que se remplazó el 25 y 50% de HP por HMSN, y observaron un incremento en la cantidad de EPA, DHA, y PUFAS n3 respecto a la dieta control con 100% HP. A pesar de las diferencias en la composición lipídica entre dietas con diferentes niveles de inclusión de HI, no se observaron diferencias en la cantidad de EPA, DHA, PUFAS n3 y LC-PUFAS totales en el músculo entre tratamientos. Lo anterior resalta la importancia por parte de los peces, en especial los marinos, de conservar niveles adecuados de estos PUFAS a partir de fuentes dietéticas dada la relevancia biológica de estos AG en su desarrollo (Lazo *et al.*, 2020).

En contraste, en varios estudios donde se ha evaluado la sustitución de HP por HI, se ha reportado una disminución por lo menos uno de estos AG, en especial del grupo de los PUFAS n3, a medida que se incrementa la cantidad de HI en la dieta (Renna *et al.*, 2017; Devic *et al.*, 2018; Zhou *et al.*,



2018; Jeong *et al.*, 2021; Stejskal *et al.*, 2020; Tilami *et al.*, 2020). Por otra parte, en esta investigación la relación  $\Sigma n3/n6$  tampoco se vio afectada por la inclusión de HI en las dietas, un resultado consistente con los reportado por Renna *et al.* (2017) en trucha arcoiris y Caimi *et al.* (2020) en *A.baerii*, con un nivel de sustitución del 25% de HP por HMS, y por Agbohessou *et al.* (2021) con un 100% de sustitución.

El éxito de un ingrediente alternativo a la HP no se basa únicamente en que pueda mantener el crecimiento de los peces, sino también la calidad deseada en términos de AG en el filete para el consumo humano, ya que de esto dependerá su calidad nutricional y por ende su aceptación y precio en el mercado (St-Hilaire *et al.* 2007a; Amberg y Hall, 2008; Caimi *et al.*, 2020). Varios autores han reportado, que un enriquecimiento adecuado del alimento utilizado para la cría de los insectos (i.e, con LC-PUFAs) juega un papel fundamental en la producción de harinas de insecto de mejor calidad, para que puedan ser un sustituto adecuado de la HP (Sealey *et al.*, 2011; Lock *et al.*, 2016; Renna *et al.*, 2017; Agbohessou *et al.*, 2021).

#### **4.5 Índice de dependencia de las proteínas marinas (MPDR) y relación de conversión económica (ECR)**

La relación de conversión económica (ECR) se utilizó para evaluar el costo de los ingredientes proteicos de cada dieta necesarios para producir 1 Kg de biomasa. El ECR de las dietas elaboradas con HI fue significativamente mayor que el de la dieta control, se incrementó a medida que se incrementó el nivel de sustitución y fue mayor con la HGD que con la HMSN. Los resultados del ECR coinciden con los reportados por Stejskal *et al.* 2020, donde se evidenció un aumento del ECR como resultado del incremento del nivel de sustitución de HP por HMSN. En contraste, Abdel-Tawwab *et al.* (2020), a través de un análisis económico encontraron que el costo de la dieta disminuyó al aumentar los niveles de HMSN. Las inconsistencias entre estudios se deben directamente a la diferencia en el costo de la HMSN, ya que mientras en la presente investigación y en el estudio de Stejskal *et al.*, (2020) el costo por Kg de HMSN fue de \$5.75 y \$4.10 USD respectivamente, en el de Abdel-Tawwab *et al.*, (2020) fue de 0.41 US. Es importante considerar que los costos de cada harina dependen en parte de la oferta y demanda del producto, así como de la tecnología para su obtención, por lo que cambian dependiendo del país y el proveedor.

En cuanto al costo de HGD, en el presente estudio fue de \$39.00 USD, un valor muy superior al de HMSN, lo que arroja un valor del ECR muy elevado. En este sentido, Turek *et al.* (2020), sustituyeron la HP por una mezcla de harinas de *A. domesticus* y *Z. morio*, y determinaron que el alto costo de las harinas de estos insectos en comparación con los ingredientes típicamente utilizados en los alimentos comerciales limitaba su uso generalizado para el cultivo de peces. Sin embargo, hay una tendencia a la baja en los precios de las HI (Llagostera *et al.*, 2019), por lo que a medida que se amplíe su producción y uso, el valor probablemente se reducirá. Uno de los primeros insectos que se empezó a investigar como fuente de remplazo de HP en la alimentación animal, fue la mosca soldado-negra, por lo que actualmente varias empresas alrededor del mundo producen HMSN de manera comercial y sus precios son más competitivos en el mercado y se han reducido progresivamente, de \$5.6 USD/kg en 2016 a \$2.5 USD/kg en 2018, y actualmente se puede conseguir hasta por \$0.41 USD/kg (Llagostera *et al.*, 2019; Abdel-Tawwab *et al.* 2020), situación muy diferente a la de *A. domesticus*, cuya producción aún sigue siendo realizada a pequeña escala.

El MPDR relaciona la cantidad de proteína de HP usada en la dieta para producir 1 kg de proteína de pescado cultivado (Bendiksen *et al.*, 2011; Sarker *et al.* 2013). Dado que la dieta control contenía el mayor % de HP, era de esperarse que los peces alimentados con esta dieta tuvieran un MPDR significativamente mayor respecto a los alimentados con dietas con inclusión de HI, sin embargo, no fue así para el tratamiento G25, debido a la TCA de este grupo (1.59). Lo anterior implica que a pesar de que en la dieta G25 se sustituyó un 25% de HP por HGD, no resultó en una disminución de la cantidad necesaria de HP para producir 1kg de proteína de pescado, ya que los peces alimentados con esta dieta consumieron más alimento, que no fue tan eficientemente utilizado.

Los peces alimentados con las dietas con mayor nivel de inclusión de HI (G50 y M50), mostraron los MPDR más bajos ( $1.12 \pm 0.10$  y  $1.02 \pm 0.13$  respectivamente), aunque el MPDR del grupo M25 ( $1.45 \pm 0.11$ ) también fue significativamente menor que el del control ( $1.94 \pm 0.16$ ). Esto quiere decir que si los peces se alimentan con la dieta M25 se requieren 1.45 kg de HP para producir 1 kg de proteína de pescado, mientras que alimentándolos con las dietas G50 y M50 se requieren 1.12 y 1.02 kg respectivamente. Lo anterior representa una reducción del 25, 42 y 47% en la dependencia de la HP con las dietas M25, G50 Y M50 respectivamente, comparados con la dieta control, lo que reafirma el potencial de estas harinas como ingredientes alternativos a la HP (Bendiksen *et al.*, 2011)

## 4.6 Futuras perspectivas

Los estudios enfocados al uso de las harinas de insectos como ingredientes alternativos a la HP aumentan cada vez más, y se evalúan nuevas especies de insectos con potencial. Poco a poco se han identificado y abordado los inconvenientes que presentan estas harinas y se puede concluir que la mayor parte del éxito de estas harinas radica principalmente en su calidad, que depende del sustrato alimenticio para la cría de los insectos que se van a utilizar como materia prima, así como de otros factores relacionados con su procesamiento, por lo que es importante que las empresas que producen comercialmente harinas de insectos busquen una estandarización de sus productos en el mercado.

A medida que avanza el conocimiento con relación al uso de las harinas de insecto en las dietas para organismos acuáticos, sus precios tenderán a bajar, como ha ocurrido con las harinas de *Hermetia* y *Tenebrio*. Dada la situación actual en la que la producción y uso de HP es cada vez menos rentable, las harinas de insecto son una alternativa prometedora. Además, la reducida huella de carbono involucrada en su producción, con poco espacio y agua, y su capacidad de alimentarse de desechos orgánicos, que contribuyen al reciclaje de nutrientes, hacen de estas harinas uno de los ingredientes alternativos más sostenibles actualmente.

## Capítulo 5. Conclusiones

---

El crecimiento en peso de *Totoaba macdonaldi* no se vio significativamente afectado por la inclusión de HGD y HMSN I en la dieta, aunque la harina de *Hermetia illucens* tuvo mejores resultados.

Los peces alimentados con dietas de *Acheta domesticus* mostraron una mayor TCA y menor TEP, aunque solo con la dieta G25 los valores fueron significativamente menores con respecto al grupo con el mejor comportamiento en estas variables (i.e., M25).

El CDA fue menor con las dietas que contenían 50% de sustitución de harina *Acheta domesticus*, que con la dieta control. Se observó que esta disminución en el CDA, se relacionó con una menor TEP y mayor TCA, posiblemente debido a su mayor contenido de quitina.

La actividad de las enzimas digestivas en el intestino y ciegos pilóricos de los peces alimentados con las distintas dietas no fueron afectadas significativamente.

A pesar de que las dietas con harinas de insecto mostraron un perfil con menor cantidad de PUFAS n-3, DHA, EPA y LC-PUFAS, no se encontraron reducciones significativas en el contenido de estos lípidos en el músculo de la totoaba, lo cual evidencia la importancia de mantener niveles fisiológicos óptimos de estos AGE en los peces, aun cuando hay menor cantidad en la dieta.

Con base en los resultados del presente estudio se puede recomendar un remplazo de hasta un 50% de HP por harina de mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) sin inducir un efecto negativo en el crecimiento, la supervivencia, el perfil de ácidos grasos LC-PUFAs, la digestibilidad y la actividad de las enzimas digestivas de *Tototaba macdonaldi*.

La inclusión de harina de *Acheta domesticus* en la dieta, afectó los índices productivos (TCA y TEP) y la digestibilidad de las dietas, por lo que se requiere continuar la evaluación sus efectos en la digestión y el perfil y disponibilidad de los aminoácidos para poder elucidar estas problemáticas.

## 5.1 Recomendaciones

Procurar obtener por parte de los proveedores de las harinas de insecto información general acerca del sustrato de cría y el proceso de obtención de estas, debido a que determina su calidad.

Realizar un análisis de composición proximal, contenido de quitina, perfil de aminoácidos y de ácidos grasos de las harinas a evaluar con la finalidad de tener información precisa que permita entender las diferencias entre estudios, dada la alta variabilidad encontrada en la composición de estas harinas.

Evaluar la actividad de quitinasas en el intestino de *Totoaba macdonaldi* con el fin de determinar si tiene la capacidad de digerir la quitina que contienen las HI.

## Literatura citada

---

- Abilhoa, V., Valduga, M.O., Frehse, F.A., Vitule, J.R. 2016. Use of food resources and resource partitioning among five syntopic species of *Hypostomus* (Teleostei: Loricariidae) in an Atlantic Forest River in southern Brazil. *Zoología*, 33, 1-7.
- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R.H., Metwally, A.A., Shakweer, M.S., Khallaf, M.A., Abdel-Latif, H.M. 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522, 735136.
- Adeoye, A.A., Akegbejo-Samsons, Y., Fawole, F. J., Davies, S. J. 2020. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(4), 1024-1033.
- Adobe Stock. Consultado el 22 de julio de 2021, de <https://stock.adobe.com/mx/>
- Agbohessou, P.S., Mandiki, S.N., Gougbédji, A., Megido, R.C., Hossain, M.S., De Jaeger, P., Kestemont, P. 2021. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 27(3), 880-896.
- Akhtar, Y., Isman, M.B. 2018. Insects as an alternative protein source. In *Proteins in food processing* (pp. 263-288). Woodhead Publishing.
- Alegbeleye, W.O., Obasa, S.O., Olude, O.O., Otubu, K., Jimoh, W. 2012. Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. *Aquaculture Research*, 43(3), 412-420.
- Amberg, S.M., Hall, T.E. 2008. Communicating risks and benefits of aquaculture: a content analysis of US newsprint representations of farmed salmon. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2), 143-157.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists).2005. *Official Methods of Analysis*, 18th edition. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A., Peres, H. 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 170, 18-25.

- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C. 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422, 193-201.
- Basto, A., Matos, E., Valente, L. M. 2020. Nutritional value of different insect larvae meals as protein sources for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 521, 735085.
- Becker, P.M., Yu, P. 2013. What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects? *Molecular Nutrition and Food Research* 57: 1695–1707.
- Bendiksen, E.Å., Johnsen, C.A., Olsen, H.J., Jobling, M. 2011. Sustainable aquafeeds: progress towards reduced reliance upon marine ingredients in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 314(1-4), 132-139.
- Berdegue, A.J. 1955. La pesquería de Totoaba (*Cynoscion macdonaldi*) en San Felipe, Baja California. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, 16(1-4), 45-78.
- Bondari, K., Sheppard, D.C. 1981. Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24, 103-109.
- Bruni, L., Pastorelli, R., Viti, C., Gasco, L., Parisi, G. 2018. Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. *Aquaculture* 487, 56-63.
- Bruni, L., Belghit, I., Lock, E. J., Secci, G., Taiti, C., Parisi, G. 2020. Total replacement of dietary fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae does not impair physical, chemical or volatile composition of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3), 1038-1047.
- Buxbaum, E. 2007. *Fundamentals of protein structure and function*. Vol., 31. New York: Springer.
- Cabral, E.M., Bacelar, M., Batista, S., Castro-Cunha, M., Ozorio, R.O.A., Valente, L.M.P. 2011. Replacement of fishmeal by increasing levels of plant protein blends in diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture* 322 (323),74-81.
- Caimi, C., Renna, M., Lussiana, C., Bonaldo, A., Gariglio, M., Meneguz, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Gai, F., Elia, A.C., Prearo, M., Gasco, L. 2020. First insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. *Aquaculture*, 515, 734539.
- Carpio-Ramírez, A.E. 2013. Efecto de la substitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el perfil de ácidos grasos y crecimiento en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 39 pp.

- Cisneros-Mata, M.A., Montemayor-López, G., Román-Rodríguez, M.J. 1995. Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*, 9(4), 806-814.
- CITES (Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres). 2016. *Totoaba (Totoaba macdonaldi)* –oportunidades de colaboración internacional en el marco de la CITES. Ginebra, Suiza. SC66 Doc. 58. 3 p.
- Costa, I.D., Soares, M.O. 2015. The seasonal diet of *Aequidens tetramerus* (Cichlidae) in a small forest stream in the Machado River basin, Rondonia, Brazil. *Acta Amazonica* 45: 365–372.
- Coronel-Yáñez, L. 2016. La totoaba: gigante del alto golfo de California. Centro de Estudios sobre la Universidad. Universidad Autónoma de Baja California. 36 p.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1994. *Fish nutrition in aquaculture*, 1st ed. London, UK: Chapman & Hall
- Devic, E., Leschen, W., Murray, F., Little, D.C. 2018. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquaculture nutrition*, 24(1), 416-423.
- Dumas, A., De Lange, C.F.M., Fance, J., Bureau, D.P. 2007. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 263: 165-181.
- Dyer, D.C., Perissinotto, R., Carrasco, N.K. 2015. Temporal and spatial dietary dynamics of the longspine glassy (*Ambassis ambassis*) in the St. Lucia estuarine system, Simangaliso Wetland Park. *Water SA* 41: 91-104.
- EC (European Commission). 2017. Commission Regulation (EU) 2017/893 of 24 May 2017 Amending Annexes I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/ 2011 as Regards the Provisions on Proce.
- Erlanger, B.F., Kokowsky, N., Cohen, E. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 95(2) 271-278.
- Esteban, M.A., Cuesta, A.J., Ortuna, J., Mesegue, J. 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Fish Shellfish Immunol*, 11: 303-315.
- Espinoza-Acevedo H.M. 2014. Efecto del contenido de proteína de soya en la dieta sobre la hematología y química sanguínea en Juveniles de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 52 pp.



- FAO (Food and Agriculture Organization). 2020. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. 243 p.
- Fawole, F.J., Adeoye, A.A., Tihamiyu, L.O., Ajala, K.I., Obadara, S.O., Ganiyu, I.O. 2020. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. *Aquaculture*, 518, 734849.
- Ferreze, M., Nogueira, M.G., Casatti, L. 2015. Differences in ichthyofauna feeding habits among lateral lagoons and the river channel in a large reservoir. *Brazilian Journal of Biology* 75: 380–390.
- Fernández-Cassi, X., Supeanu, A., Vaga, M., Jansson, A., Boqvist, S., Vagsholm, I. 2019. The house cricket (*Acheta domestica*) as a novel food: a risk profile. *J. Insects as Food and Feed* 5 (2): 137–1.
- Figueiredo-Silva, A.C., Kaushik, S., Terrier, F., Schrama, J.W., Médale, F., Geurden, I. 2012. Link between lipid metabolism and voluntary food intake in rainbow trout fed coconut oil rich in medium-chain TAG. *Br. J. Nutr.*, 107, 1714–1725.
- Findley, L. 2010. *Totoaba macdonaldi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T22003A9346099. Consultado el 01 de agosto de 2020, de: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T22003A9346099.en>
- Flanagan, C.A., Hendrickson, R. 1976. Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the Totoaba *Cynoscion macdonaldi* in the northern Gulf of California. *Fishery Bulletin*. 74, 531-544.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H. 1957. A simple method for total lipid extraction and purification. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Furuya, W. M., Pezzato, L. E., Barros, M. M., Pezzato, A. C., Furuya, V. R., Miranda, E. C. 2004. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquacult. Res.*, 35(12), 1110-1116.
- Gatlin, D.M. 2007. Dietary supplements for the health and quality of cultured fish. CABI press. 244 p.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquacult. Res.* 38 (6), 551-579.
- Gardner, A. 2019. The Ultimate Edible Insect Travel Guide – Mexico. Consultado el 22 de julio de 2021 de <https://www.eatcrickster.com/blog/insect-travel-guide-mexico>.

- Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Chatzifotis, S. 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, 220, 34-45.
- Gerile, S., Pirhonen, J. 2017. Replacement of fishmeal with corn gluten meal in feeds for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) does not affect oxygen consumption during forced swimming. *Aquaculture* 479, 616-618.
- Gjellesvik, D.R., Lobardo, D., Walther, B.T. 1992. Pancreatic bile salt dependent lipase from cod (*Gadus morhua*): purification and properties. *Biochimica et Biophysica Acta*. (1124) 123-134.
- Guerreiro, I., Castro, C., Antunes, B., Coutinho, F., Rangel, F., Couto, A., Gasco, L. 2020. Catching black soldier fly for meagre: Growth, whole-body fatty acid profile and metabolic responses. *Aquaculture*, 516, 734613.
- Guerreiro, I., Serra, C.R., Coutinho, F., Couto, A., Castro, C., Rangel, F., Peres, H., Pousão-Ferreira, P., Matos, E., Gasco, L., Gai, F., Oliva-Teles, A., Enes, P. 2021. Digestive enzyme activity and nutrient digestibility in meagre (*Argyrosomus regius*) fed increasing levels of black soldier fly meal (*Hermetia illucens*). *Aquaculture Nutrition*, 27(1), 142-152.
- Hardy, R.W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquacult. Res.* 41, 770-776.
- Hender, A., Siddik, M.A., Howieson, J., Fotedar, R. 2021. Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* as an alternative to fishmeal protein and fish oil: Impact on growth, immune response, mucosal barrier status, and flesh quality of juvenile barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Biology*, 10(6), 505.
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E. 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203, 1-22.
- Hernández, M. D., Martínez, F. J., Jover, M., García, B. G. 2007. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture*, 263(1-4), 159-167.
- Hu, Y., Huang, Y., Tang, T., Zhong, L., Chu, W., Dai, Z., Chen, K., Hu, Y. 2020. Effect of partial black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) 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, 100345.
- Ikeda, M., Kakizaki, H., Matsumiya, M. 2017. Biochemistry of fish stomach chitinase. *International journal of biological macromolecules*, 104, 1672-1681.

- Irungu, F.G., Mutungi, C.M., Faraj, A.K., Affognon, H., Tanga, C., Ekesi, S., Nakimbugwe, D., Fiaboe, K.K.M. 2018a. Minerals content of extruded fish feeds containing cricket (*Acheta domestica*) and black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) fractions. *International Aquatic Research*, 10(2), 101-113.
- Irungu, F.G., Mutungi, C.M., Faraj, A.K., Affognon, H., Ekesi, S., Nakimbugwe, D., Fiaboe, K.K.M. 2018b. Proximate composition and in vitro protein digestibility of extruded aquafeeds containing *Acheta domestica* and *Hermetia illucens* fractions. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(4), 275-284.
- Irungu, F.G., Mutungi, C.M., Faraj, A.K., Affognon, H., Kibet, N., Tanga, C., Ekesi, S., Nakimbugwe, D., Fiaboe, K.K.M. 2018c. Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domestica*) meals. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(1), 19-30.
- Jabir, M. A. R., Jabir, S. A. R., Vikineswary, S. 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Biotechnology*, 11(24), 6592-6598.
- Jeong, S. M., Khosravi, S., Mauliasari, I. R., Lee, B. J., You, S. G., Lee, S. M. 2021. Nutritional evaluation of cricket, *Gryllus bimaculatus*, meal as fish meal substitute for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Jongema, Y. 2017. *World List of Edible Insects*, Laboratory of Entomology, Wageningen University, Wageningen. 100 p.
- Juarez, L.M., Konietzko, P.A., Schwarz, M.H. 2016. Totoaba aquaculture and conservation: Hope for an endangered fish from Mexico's Sea of Cortez. *World Aquaculture*, 47(4), 30-38.
- Karapanagiotidis, I.T., Daskalopoulou, E., Vogiatzis, I., Rumbos, C., Mente, E., Athanassiou, C.G. 2014. Substitution of fishmeal by fly *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Proceedings of the HydroMedit*, 110-114.
- Kroeckel, S., Harjes, A.G.E., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C. 2012. When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364-365, 345-352.
- Kono, M., Matsui, T., Shimizu, C. 1987. Effect of chitin, chitosan, and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53, 125- 129.
- Kouřimská, L., Adámková, A. 2016. Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS journal*, 4, 22-26.

- Kurniawan, D., Arief, M., Agustono, Lamid, M. 2018. Effect of maggot (*Hermetia illucens*) flour in commercial feed on protein retention, energy retention, protein content, and fat content in tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Lazo, J., González, M.L., Pérez, M. 2014. Catálogo de ingredientes empleados en la formulación de alimentos balanceados para peces. Fondo Sectorial de Investigación en Materias Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos. México, 46 p.
- Lazo, J. P., Fuentes-Quesada, J. P., Villareal-Rodarte, G., Viana, M. T., Baron-Sevilla, B. 2020. The effect of dietary n-3 LC-PUFA levels on growth, survival, and feed utilization in juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 525, 735350.
- Lee, S.W., Tey, H.C., Wendy, W., Wan Zahari, M. 2017. The effect of house cricket (*Acheta domesticus*) meal on growth performance of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). *Int. J. of Aquatic Science*, 8(2), 78-82.
- Lim, C., Webster, C.D. 2008. Alternative protein sources in aquaculture diets. C. S. Lee (Ed.). New York: Haworth Press.
- Lindsay, G.J.F. 1984. Distribution and function of digestive tract cholinolytic enzymes in fish. *Journal of Fish Biology* 24, 529-536.
- Llagostera, P.F., Kallas, Z., Reig, L., De Gea, D.A. 2019. The use of insect meal as a sustainable feeding alternative in aquaculture: Current situation, Spanish consumers' perceptions and willingness to pay. *Journal of Cleaner Production*, 229, 10-21
- Longvah, T., Mangthya, K., Ramulu, P. 2011. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food Chem.* 128, 400-403.
- Lock, E.R., Arsiwalla, T., Waagbø, R. 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquaculture Nutrition*, 22(6), 1202-1213.
- López, L.M., Flores-Ibarra, M., Bañuelos-Vargas, I., Galaviz, M.A., True, C.D. 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 41(4), 921-36.
- Lu, R., Chen, Y., Yu, W., Lin, M., Yang, G., Qin, C., Meng, X., Zhang, Y., Ji, H., Nie, G. 2020. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal can replace soybean meal in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) diets. *Aquaculture Reports*, 18, 100520.
- Macombe, C., Le Feon, S., Aubin, J., Maillard, F. 2019. Marketing and social effects of industrial scale insect value chains in Europe: case of mealworm for feed in France. *J. Insects as Food Feed* 1, 1-10.

- Madrid, J., Pohlenz, C., Viana, M. T., Lazo, J. P. 2019. Dietary lysine requirement for juvenile, *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 500, 92-98.
- Magalhaes, R., Sanchez-Lopez, A., Leal, R.S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., Peres, H. 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79-85.
- Maiolo, S., Cristiano, S., Gonella, F., Pastres, R. 2021. Ecological sustainability of aquafeed: An emergy assessment of novel or underexploited ingredients. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126266.
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197, 1-33.
- Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., Perez-Banon, C. 2012. Insects for biodiesel production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16 (6), 3744-3753.
- Mapanao, R., Jiwyam, W., Nithikulworawong, N., Weeplian, T. 2021. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae as a fish meal replacement on growth performance, feed utilisation, morphological characters and carcass composition of Thai climbing perch (*Anabas testudineus*). *Journal of Applied Aquaculture*, 1-15.
- Marien, A., Debode, F., Aerts, C., Ancion, C., Francis, F., Berben, G. 2018. Detection of *Hermetia illucens* by real-time PCR. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(2), 115-122.
- Mastoraki, M., Ferrándiz, P.M., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E. 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 528, 735511.
- Matsumiya, M., Mochizuki, A. 1987. Distribution of chitinase and N-acethyl-hexos-aminidase in the organs of several fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53, 305-310.
- Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33(3), 363-364.
- Minjarez-Osorio, M.C., González, M.L., Perez-Velazquez, M.P. 2014. Totoaba: Endangered fish species has aquaculture potential in México. *Global aquaculture advocate*. pp. 44-46.
- Monteros, J., Labarta, U. 1987. Nutrición en acuicultura. Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura. 1, 85-107.

- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp Board on Agriculture and Natural Resources Division on Earth and Life Studies. National Research Council. Washington, D.C.376 p.
- Nelson, J.S., Grande, T.C., Wilson, M.V. 2016. Fishes of the World. John Wiley & Sons. 752 p.
- Newton, L., Sheppard, C., Watson, D.W., Burtle, G., Dove, R. 2005. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. Animal and Poultry Waste Management Center, North Carolina State University, Raleigh, NC, 17, 18.
- Nieto, F. 2016. Totoaba, el pez más caro que la cocaína, Especiales LSR, La Silla Rota. Consultado el 01 de agosto de 2020, de: [http://lasillarota.com/buche-de-totoaba-el-pez-mas-caro-que-la-cocaina#.V7Oyx\\_nhDIU](http://lasillarota.com/buche-de-totoaba-el-pez-mas-caro-que-la-cocaina#.V7Oyx_nhDIU).
- Nordahl, G. 2011. Is the Aquaculture Industry Caught in a Fishmeal Trap. Master Thesis in Economic Analysis. Norwegian School of Economics and Business Administration. 109 p.
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kieronczyk, B., Józefiak, A. 2019. Insect meals in fish nutrition. Reviews in Aquaculture, 11(4), 1080-1103.
- Oliva-Teles, A., Enes, P., Peres, H. 2015. Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. In: Feed and Feeding Practices in Aquaculture, pp. 203-233.
- Oliveira, F., Doelle, K., Smith, R. 2016. External Morphology of *Hermetia illucens* Stratiomyidae: Diptera (L.1758) Based on Electron Microscopy. Annual Research & Review in Biology, 9(5): 1-10.
- Papatryphon, E., Soares, J.H. 2001. Optimizing the levels of feeding stimulants for use in high-fish meal and plant feedstuff-based diets for striped bass, *Morone saxatilis*. In: Aquaculture, pp. 279-288.
- Rana, K.J., Siriwardena, S., Hasan, M.R. 2009. Impact of Rising Feed Ingredient Prices on Aquafeeds and Aquaculture Production, Rome. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. 63 p.
- Rangaswamy, C.P. 2006. Physiology of digestion in fish and shrimp. In: Ali SA (ed.) Training Manual on Shrimp and Fish Nutrition and Feed Management. Central Institute of Brackish Water Aquaculture, Chennai. pp. 2-9.
- Ramcharitar, J., Gannon, D.P., Popper, A.N. 2006. Bioacoustics of fishes of the family Sciaenidae (croakers and drums). Transactions of the American Fisheries Society, 135(5), 1409-1431.

- Reis, B., Marques, A., Campos, I., Dias, E., Valente, L.M. 2019. Wheat germ as an alternative ingredient to a fair average quality fishmeal in diets for European seabass. *Aquaculture Nutrition*, 25(4), 932-945.
- Renna, M., Biasato, I., Brugiapaglia, A., Gai, F., De Marco, M., Schiavone, A., Malfatto, V., Zoccarato, I., Gasco, L., Biasibetti, E., Lussiana, C., Prearo, M., Capucchio, M.T., Dabbou, S. 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8.
- Rumpold, B.A., Schlüter, O.K. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 57, 802–823.
- Sakai, M., Kamiya, R., Ishii, S., Atsuta, S., Kobayashi, M. 1992. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. In: Shariff, M., Subasinghe, R.P., Arthur, J.P. (Eds.), *Diseases in Asian Aquaculture*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 413-417.
- Salter, A. M., Lopez-Viso, C. 2021. Role of novel protein sources in sustainably meeting future global requirements. *Proceedings of the Nutrition Society*, 80(2), 186-194.
- Sánchez-Muros, M.J., Villacreces, S., Miranda-de la Lama, G., de Haro, C., García-Barroso, F. 2013. Effects of chemical and handling exposure on fatty acids, oxidative stress and morphological welfare indicators in gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). *Fish physiology and biochemistry*, 39(3), 581-591.
- Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F. 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16-27.
- Sarker, P.K., Bureau, D.P., Hua, K., Drew, M.D., Forster, I., Were, K., Hicks, B., Vandenberg, G.W. 2013. Sustainability issues related to feeding salmonids: a Canadian perspective. *Reviews in Aquaculture*, 5(4), 199-219.
- Sealey, W.M., Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Tomberlin, J.K., McGuire, M.A., Ross, C., St-Hilaire, S., 2011. Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. *J. World Aquacult. Soc.* 42, 34-45.
- SEMARNAT. 2018. Importancia de las UMAS. Consultado el 01 de agosto de 2020, de: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/las-uma-sitios-dedicados-a-la-conservacion-de-la-vida-silvestre>
- Skrobonja, E. 2020. 13 Reasons why you should try the black soldier fly in 2020. Consultado el 22 de julio de 2021 de <https://www.eatcrickster.com/blog/black-soldier-fly>.

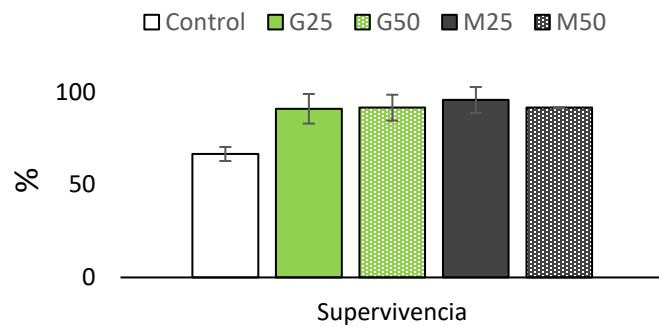
- Stejskal, V., Tran, H.Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P.T., Gai, F., Gasco, L. 2020. Partially defatted *Hermetia illucens* larva meal in diet of eurasian perch (*Perca fluviatilis*) juveniles. *Animals*, 10(10), 1876.
- St-Hilaire, S., Sheppard, C., Tomberlin, J.K., Irving, S., Newton, L., McGuire, M.A., Sealey, W. 2007a. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the world aquaculture society*, 38(1), 59-67.
- St-Hilaire, S., Cranfill, K., McGuire, M.A., Mosley, E.E., Tomberlin, J.K., Newton, L., Sealey, W., Sheppard, C., Irving, S. 2007b. Fish offal recycling by the black soldier fly produces a foodstuff high in omega-3 fatty acids. *J. World Aquacult. Soc.* 38, 309-313.
- Shumo, M., Osuga, I.M., Khamis, F.M., Tanga, C.M., Fiaboe, K.K.M., Subramanian, S., Ekesi, S., van Huis, A. Borgemeister, C. 2019. The nutritive value of black soldier fly larvae reared on common organic waste streams in Kenya. *Sci. Rep.* 9, 101-110.
- Taylor, B.L., Rojas-Bracho, L., Moore, J., Jaramillo-Legorreta, A., VerHoef, J.M, Cardenas-Hinojosa, G., Nieto-Garcia, E., Barlow, J., Gerrodette, T., Tregenza, N., Thomas, L., Hammond, P.S. 2016. Extinction is imminent for Mexico's endemic porpoise unless fishery by catch is eliminated. *Conserv Lett* 10,588–595.
- Taufek, N.M., Aspani, F., Muin, H., Raji, A.A., Razak, S.A., Alias, Z. 2016a. The effect of dietary cricket meal (*Gryllus bimaculatus*) on growth performance, antioxidant enzyme activities, and haematological response of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish physiology and biochemistry*, 42(4), 1143-1155.
- Taufek, N. M., Muin, H., Raji, A. A., Razak, S. A., Yusof, H. M., Alias, Z. 2016b. Apparent digestibility coefficients and amino acid availability of cricket meal, *Gryllus bimaculatus*, and fishmeal in African catfish, *Clarias gariepinus*, diet. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(6), 798-805.
- Taufek, N. M., Muin, H., Raji, A. A., Md Yusof, H., Alias, Z., Razak, S. A. 2018. Potential of field crickets meal (*Gryllus bimaculatus*) in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 541-546.
- Talan, M.S., Lapin, A.A., Dokuchaeva, I.S. 2019. Biotechnological potential of the straight-wing species *Acheta domesticus* as raw material for the production of feed for aquaculture. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 315, No. 7, p. 072035). IOP Publishing.
- Tippayadara, N., Dawood, M.A., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H.V., Paolucci, M. 2021. Replacement of fish meal by Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals*, 11(1), 193.



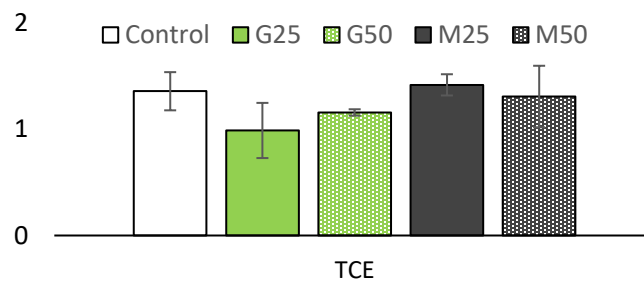
- Tilami, S. K., Turek, J., Červený, D., Lepič, P., Kozák, P., Burkina, V., Sakalli, S., Tomčala, A., Sampels, S., Mráz, J. 2020. Insect meal as a partial replacement for fish meal in a formulated diet for perch (*Perca fluviatilis*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 20(12), 867-878.
- Turek, J., Samples, S., Tilami, S.K., Cervený, D., Kolarova, J., Randak, T., Mraz, J., Masilko, J., Steinbach, C., Burkina, V., Kozak, P., Zlabek, V. 2020. Insects in the feed of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygii, Salmonidae): Effect on growth, fatty acid composition, and sensory attributes. Acta Ichthyologica et Piscatoria 50 (2), 171-181.
- Turchini, G.M., Torstensen, W.K. Ng. 2009. Fish oil replacement in fish nutrition. Reviews in Aquaculture 1:10–57.
- Torrecillas, S., Mompel, D., Caballero, M.J., Montero, D., Merrifield, D., Rodiles, A., Robaina, L., Zamorano, M.J., Karalazos, V., Kaushik, S. and Izquierdo, M. 2017. Effect of fishmeal and fish oil replacement by vegetable meals and oils on gut health of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 468, 386-398.
- Valenzuela-Quiñonez, F., García-de-León, F.J., De Anda-Montañez, J.A., Balart-Páez, E.F. 2011. La Totoaba del Golfo de California ¿una especie en peligro de extinción? Interciencia 36(9), 664-671.
- van Huis, A., 2012. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annual Review of Entomology 58: 563-583.
- van Huis, A., De Prins, J. 2013. Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security. FAO 02. pp. 47-48.
- Walker, T. 1999. *Acheta domesticus* (Linnaeus) (Insecta: Orthoptera: Gryllidae). University of Florida. <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/crickets/adomest.html> (13 de mayo 2021)
- Webster, C. D., Lim, C. 2002. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing. UK. 418 p.
- Worthington V. Alpha amylase. En: Worthington V, ed. Worthington Enzyme Manual; enzymes and related biochemicals. Lakewood, NJ: Worthington Biochemical Corporation, 1993; 36-41.
- Xiaoming, C., Ying, F., Hong, Z., Zhiyong, C. 2010. Review of the nutritive value of edible insects. Forest insects as food: humans bite back. 85.
- Zaki, M.A., Salem, M.E., Gaber, M.M., Nour, A.M. 2015. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, feed utilization, body composition and histology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). World Journal of Engineering and Technology, 3, 38–47.

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

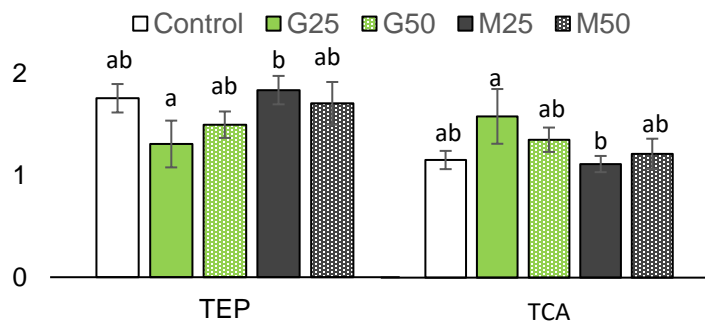
## Anexos



**Figura 10.** Supervivencia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*. Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  DE.



**Figura 11.** Tasa de crecimiento específica (TCE) de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*. Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  DE.

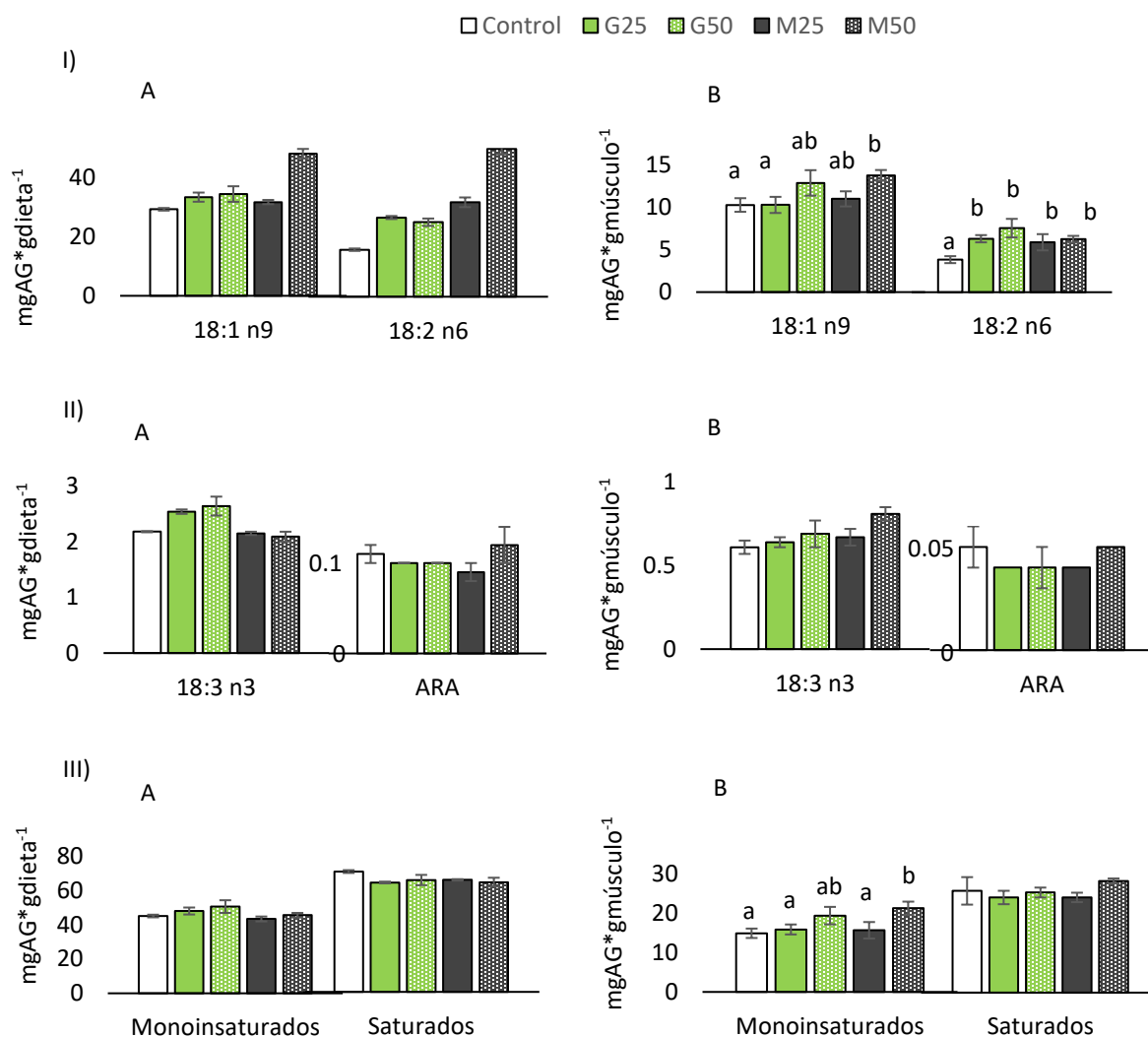


**Figura 12.** Tasa de conversión alimenticia (TCA) y de eficiencia proteica (TEP) de juveniles de *Tototaba macdonaldi* alimentados con dos niveles de sustitución (25 y 50%) de harina de pescado por harina de insecto *Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

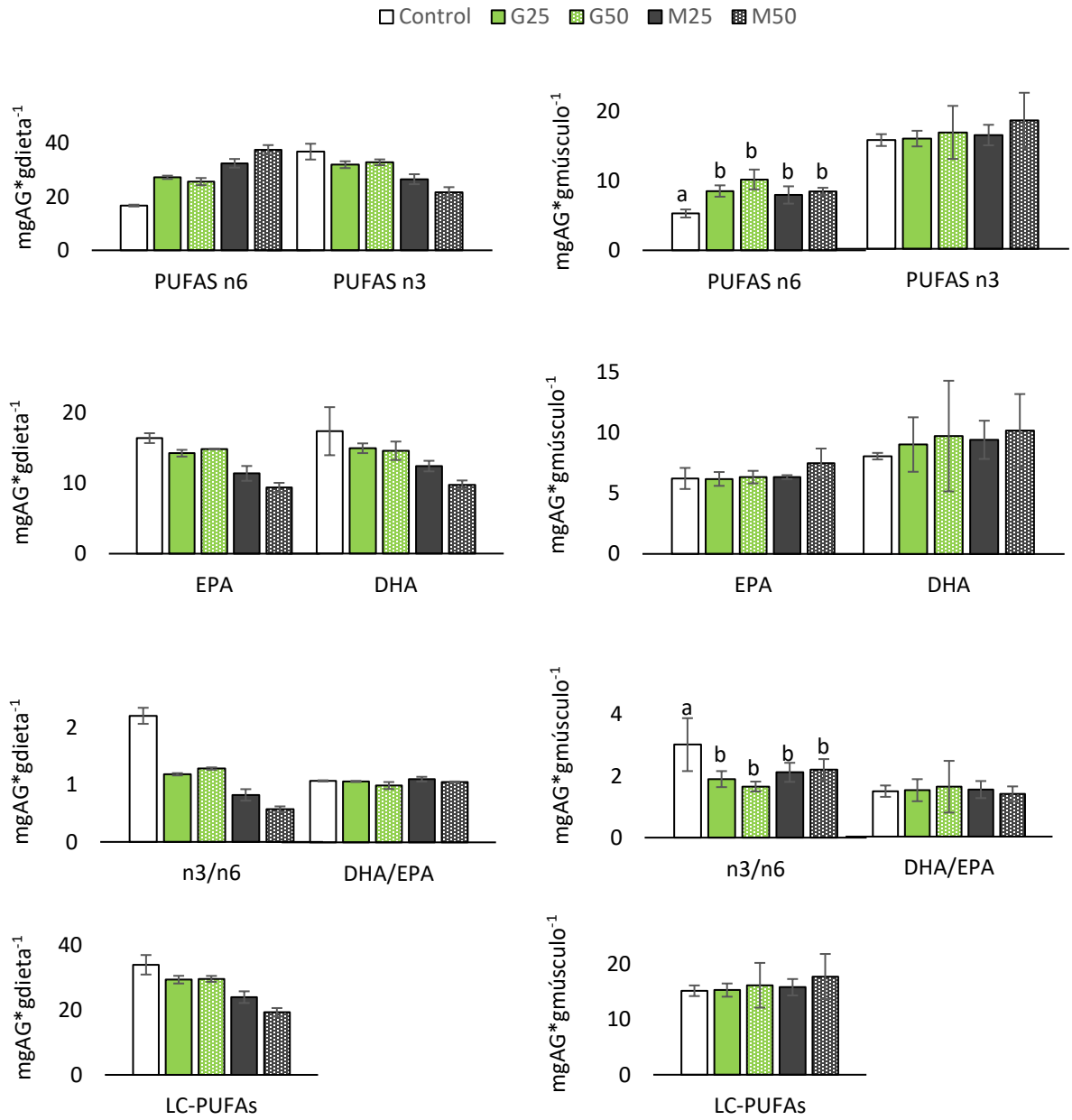
**Tabla 8.** Índice de dependencia a la proteína de harina de pescado (FPDR) y Relación de conversión económica (ECR) de las dietas experimentales. Los valores corresponden al promedio de tres replicas  $\pm$  DE. Los promedios en la misma fila con diferentes letras en superíndice difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

	Control	G25	G50	M25	M50	p-valor
MPDR	1.94 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	1.94 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	1.12 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	1.45 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	1.02 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.00
ECR	1.58 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	8.07 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>	12.02 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	2.09 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	2.86 $\pm$ 0.35 <sup>d</sup>	0.00

FPDR, índice de dependencia a la proteína de harina de pescado; ECR, relación de conversión económica.



**Figura 13.** Comparación entre el contenido de ácidos grasos de la dieta (A) y del músculo de *Totoaba macdonaldi* (B). I) Ácido oleico y linoleico. II) Ácido  $\alpha$ -linoleico y araquidónico (ARA). III) Ácidos grasos monoinsaturados y saturados.



**Figura 14.** Comparación entre el perfil de ácidos grasos de la dieta (A) y del músculo de *Totoaba macdonaldi* (B). I) PUFAS n3 y n6. II) EPA y DHA. III) Relación n3/n6 y DHA/EPA. IV) LC-PUFAs.