

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية
Institute of
Veterinary Sciences

جامعة البليدة 1
University
Blida-1



**Elevage des mouches soldats noires comme une
source de protéine dans l'alimentation animale**

Présenté par
Mahamed Omar elfarouk

Soutenu le 27/09/2023

Présenté devant le jury :

Président :	Hammami Nabila	MCA	ISV/Blida 1
Examinateur :	Razali Kahina	MAB	ISV/Blida 1
Promoteur :	Kebbour Djamilia	Professeure	ISV/Blida 1

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Je remercie **Dieu** le tout puissant de me avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce projet de fin d'études.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à ma Promotrice**Pr. kebbour Djamila**, qui m'a fourni le sujet de ce projet et m'a guidé de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'il m'a témoigné tout au long de ce travail.

Nous tenons aussi à gratifier aussi le président du jury et l'examinateur pour l'intérêt qu'ils ont porté à la recherche en acceptant d'examiner notre travail.

J'adresse également mes remerciements à l'ensemble du personnel de la direction de l'institut des sciences vétérinaires qui m'accueillis, et à tous les enseignants de la filière.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à ma mère et mon père, pour leur compréhension, leur aide, leur soutien moral et l'affection qu'ils me ont témoignée. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude ;

- ❖ A mes collègues ;
- ❖ A toute ma famille ;
- ❖ A toute mes amis.

Résumé

L'élevage des mouches soldats noires (*Hermetia illucens*) pour l'alimentation animale présente plusieurs avantages. Ces insectes se reproduisent rapidement , nécessite peu d'espace et peuvent etre nourris avec des déchets organique , réduisant ainsi les déchets et offrant une solution durable pour produire des protéines de qualité pour l'alimentation animale

De plus leur composition nutritionnelle équilibrée en protéines et en matières grasses en fait une alternative attrayante aux sources traditionnelles de protéines animales dans l'alimentation

Pour elever les mouches en besoin de : des bacs avec des substrats organique sont utilises pour heberger les larves , avec des conditions de temperature et d'humidité contrôlées , aboutissant à la récolte des larves pour leur utilisation comme une source des protéines .

Mots clés : mouches soldats noires, protéines, poulets, larve

ملخص

تربيه الذباب الجندي الاسود هي عملية تستخدم لإدارة النفايات العضوية وانتاج مواد غذائية يتم تربيتها على نطاق واسع بسبب قدرتها على حل المواد العضوية بسرعة ويتم ذلك عن طريق استخدام الديدان البيضاء يتم تغذيه الذباب والعلاقات على الفضلات العضوية مثل الفواكه وبقايا الطعام تتطلب تربية الذباب ظروفا مناسبة من حيث درجة الحرارة والرطوبة لتحقيق افضل النتائج وتستخدم الذباب البالغة كمصدر البروتين في تغذيه الحيوانات مثل الدواجن واسماكه صراعاً مما يسهم في تقديم بديل مستدامه غني بالعناصر الغذائية

كلمات مفتاحية: ذباب، بروتين، يرقان، دجاج، لحم، تربية الذباب

Abstract

Breeding black soldier flies (*Hermetia illucens*) is becoming increasingly popular due to their ability to quickly convert organic waste into a rich protein source, making them useful in various fields including animal feed, waste management, and biomass production

Keywords: Black soldier Flies, proteins, chickens, larva, meat

Liste des références

- Achiano, K. & Giliomee, J. (2006). Rearing the house fly predator *Carcinops pumilio* (Erichson) (Coleoptera: Histeridae) on an artificial diet. *Afr. J. Biotechnol.* 5, 1161–1166.
- Allegretti, G., Schmidt, V. & Talamini, E. (2017). Insects as feed: species selection and their potential use in Brazilian poultry production. *Worlds Poult. Sci. J.* 73, 928–937.
- Aniebo, A.O., Erondu, E.S. & Owen, O.J. (2008). Proximate composition of housefly larvae (*Musca domestica*) meal generated from mixture of cattle blood and wheat bran. *Livest. Res. Rural Dev.* 20, 205.
- Arango Gutiérrez, G. P., Vergara Ruiz, R. A., & Mejía Vélez, H. (2004). Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of the larva meal of *Hermetia illuscens* L.(Diptera: Stratiomyidae) at Angelópolis-Antioquia, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 57(2), 2491–2500.
- Ayieko, M., Oriaro, V. & Nyambuga, I.A. (2010). Processed products of termites and lake flies: improving entomophagy for food security within the Lake Victoria region. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.* 10.
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., & van Loon, J. J. A. (2017). Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1–16.
- Barragan-Fonseca, K., Pineda-Mejia, J., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2018a). Performance of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) on Vegetable Residue-Based Diets Formulated Based on Protein and Carbohydrate Contents. *Journal of economic entomology*.
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.-J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A. & PérezBañón, C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C.C., Paoletti, M.G. & Ricci, A. (2013). Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review: Insects in a food perspective.... *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 296–313.

bertinetti, C., Samayoa, A. C., & Hwang, S. Y. (2019). Effects of feeding adults of *hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on longevity, oviposition, and egg hatchability: Insights into optimizing egg production. *Journal of Insect Science*, 19(1), 1–7. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez001>

Bondari, K. & Sheppard, D.C. (1987). Soldier fly, *Hermetia illucens* L., larvae as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquac. Res.* 18, 209–220.

Bondari, K., & Sheppard, D. C. (1987). Soldier fly, *Hermetia illucens* L., larvae as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture Research*, 24(3), 103–109.

Cheng, J. Y., Chiu, S. L., & Lo, I. M. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management*, 67, 315-323.

Cheng, J. Y., Chiu, S. L., & Lo, I. M. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management*, 67, 315-323.

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

DANIELS, S., Simkiss, K. & Smith, R.H. (1991). A simple larval diet for population studies on the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Med. Vet. Entomol.* 5, 283–292.

de Carvalho, M. J. A., & Mirth, C. K. (2017). Food intake and food choice are altered by the developmental transition at critical weight in *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour*, 126, 195–208.

De Marco, M., Martínez, S., Hernandez, F., Madrid, J., Gai, F., Rotolo, L., Belforti, M., Bergero, D., Katz, H., Dabbou, S., Kovitvadhi, A., Zoccarato, I., Gasco, L. & Schiavone, A. (2015b). Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Anim. Feed Sci. Technol.* 209, 211–218.

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

Table des matières

Chapitre I : Mouche soldat noire.....	3
1. Généralité	4
2. Forme adulte et complète de l'insecte à métamorphoses.	7
3. Reproduction	10
4. Les œufs	11
5. Les larves.....	12
6. Les pupes.....	13
7. Cycle de vie et facteurs influant.....	13
8. La bioconversion	15
Introduction	20
1 . Valeur nutritionnelle des larves de mouche soldat noire	21
Qualité des protéines	26
2. L'utilisation de la farine de MSN pour les volailles	34
3. L'utilisation de la farine de MSN dans l'aquaculture	35
1. Objectif de travail	38
3. Matériel.....	38
3.1 Les mouches	38
3.1 Kit de production de larves de BSF	39
3.1.1 Présentation du kit.....	39
3.1.2 mise en service du kit.....	40
3.2 Étapes d'élevage des mouches soldat noires	42
4. Méthodes d'analyse.....	44

4.1. Mesure de la matière sèche : (AFNOR, 1994).....	45
4.2. Mesure de la matière minérale : (AFNOR 1994).....	46
4.3. Dosage des protéines brutes:	46
4.4. Principe	47
4.5. Mode opératoire	47
4.5.1. Gamme étalon	47
4.5.2. Réactif de Lowry.....	47
4.5.2. Dosage des lipides totaux (FOLCH et al, 1957)	48
4.5.3. Mesure des lipides totaux par la méthode de Soxhlet.....	50
Conclusion générale	56

Liste des tableaux :

Tableau 1: Compositions chimiques moyennes (% , base sèche), minimales et maximales (entre parenthèses) des larves d' <i>Hermetia illucens</i>	21
Tableau 2: Teneur moyenne minimales et maximales (entre parenthèses) en minéraux des larves de MSN (% , base sèche).....	22
Tableau 3: Composition minimales et maximales (entre parenthèses) en acide aminé des larves de MSN (% , base sèche).....	22
Tableau 4: les résultats de la matière minérale des larves, des mouches et des coquilles.....	54
Tableau 5 : les résultats de la matière organique des larves, des mouches et des coquilles.....	54
Tableau 6 : résultats des teneurs en eau en (larve, mouche et coquille).....	55

Liste des figures

Figure 1 : Cycle de vie de BSF	4
Figure 2 : Les oeufs de la bsf	5
Figure 3 : Photo des larves BSF.....	6
Figure 4: Description des différentes parties d'une <i>Hermetia illucens</i> adulte	9
Figure 5: : Dimorphisme sexuel chez <i>Hermetia illucens</i>	9
Figure 6: Reproduction chez <i>Hermetia illucens</i>	11
Figure 7: Œufs d' <i>Hermetia illucens</i>	11
Figure 9: Evolution des larves d' <i>Hermetia illucens</i>	13
Figure 10 : Résumé du cycle de vie d' <i>Hermetia illucens</i>	14
Figure 11: quantité de déchet par habitant et par jour	16
Figure 12: Composition mondiale des déchets	17
Figure 13: Teneur absolue en acides aminés de la mouche soldat (prépupes) nourrie avec des déchets végétaux et des résidus de biogaz, par rapport au tourteau de presse du soja (selon Spranghers et al. 2017).....	24
Figure 14: Composition en acides gras et indice de graisse de la matière grasse des insectes (larves, prépupes, nymphes) tirés des ouvrages cités dans la liste	

bibliographique (valeurs moyennes et écarts types; GC = chromatographie en phase gazeuse; SFA = acide.....	26
Figure 15: Profil des acides aminés essentiels dans les protéines d'insectes tirés des ouvrages cités dans la liste bibliographique par rapport au tourteau d'extraction/de presse du soja (MSN = mouche soldat noire; dom. = domestique).	27
Figure 16: identification des œufs	42
Figure 17: Œufs de BSF observés à la loupe binoculaire le jour de la ponte	42
Figure 18: : Pondoirs (photo originale).....	43
Figure 19: l'autorécolte des larves	44

Introduction

L'élevage des mouches soldats noires (Black Soldier Fly, BSF) comme source d'alimentation dans l'alimentation animale représente une approche novatrice et durable pour répondre aux défis croissants de la production alimentaire mondiale. Les mouches soldats noires, originaires du continent américain et aujourd'hui présentes dans de nombreuses régions du monde, ont suscité un intérêt croissant en raison de leur capacité à transformer efficacement les déchets organiques en une ressource précieuse : leurs larves riches en nutriments. Dans cette étude, nous explorerons les aspects essentiels de l'élevage des mouches soldats noires en tant que source d'alimentation alternative pour les animaux d'élevage. Nous analyserons les avantages environnementaux, les aspects nutritionnels, les conditions d'élevage optimales et les implications pour la sécurité alimentaire et la durabilité de cette approche innovante. L'utilisation de larves de BSF dans l'alimentation animale offre un potentiel considérable pour réduire la dépendance aux aliments importés, valoriser les déchets organiques, et contribuer ainsi à une agriculture plus responsable et respectueuse de l'environnement.

Selon les déclarations du ministre de l'Agriculture et du Développement rural, Mohamed Abdelhafid Henni, lors d'une réunion à Alger, l'Algérie importe chaque année environ 4 millions de tonnes de maïs destiné à l'alimentation de la volaille et des bovins. Cette dépendance aux importations de produits alimentaires pour l'élevage a eu un impact significatif sur le prix du poulet, particulièrement après la pandémie, qui a affecté le marché de manière

substantielle. Cependant, l'Algérie pourrait envisager une solution à ce défi en investissant dans l'élevage de la mouche soldat noire. Originaire du continent américain, la mouche soldat noire est naturellement présente depuis plusieurs années en Polynésie française. L'avantage majeur de cette espèce réside dans son comportement non agressif, son absence de transmission de maladies, et son caractère non invasif. Les larves de la mouche soldat noire ont la capacité de se nourrir efficacement de divers déchets organiques, y compris les épluchures, les restes de repas, les tourteaux de coprah ou de soja, les déchets d'animaux, le coco râpé, les fumiers et les lisiers. En outre, la biomasse larvaire se distingue par une teneur en protéines exceptionnellement élevée, atteignant environ 43%, ce qui en fait une source alternative de protéines extrêmement attrayante pour l'alimentation animale. Cette ressource a le potentiel de remplacer en tout ou en partie les aliments importés. De plus, le résidu résultant de la bioconversion de la matière organique constitue un amendement organique naturel qui peut être incorporé dans le sol pour fertiliser les cultures. Ainsi, dans le cadre de notre recherche de fin d'étude, notre objectif principal est d'explorer l'utilisation des larves de la mouche soldat noire, alimentées avec des déchets ménagers, dans l'élevage animal, en particulier chez les poulets.

Chapitre I : Mouche soldat noire

1. Généralité

La mouche soldat noire ou black soldier Fly (BSF) appartient à l'ordre des Diptères, à la famille des Stratiomyidae, au genre *Hermetia* et à l'espèce *Hermetia illucens*.

Originaire d'Amérique du sud, la BSF est aujourd'hui distribuée mondialement, notamment dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées qui offrent des conditions environnementales favorables au développement et à la survie de la BSF (27-30°C ,60-90% d'humidité dans l'air, exposition à la lumière naturelle du soleil).

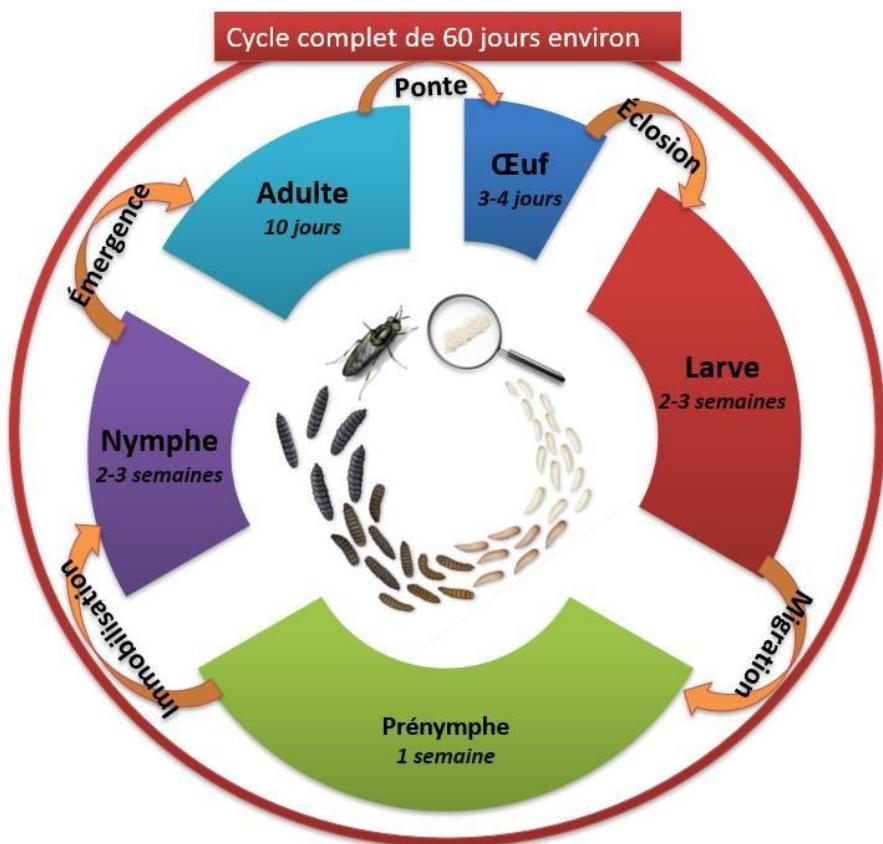


Figure 1 : Cycle de vie de BSF

La figure 1 ci-dessus illustre le cycle de vie de la BSF. Dans la nature, les femelles BSF déposent leurs œufs dans de petits interstices ou cavités proches de matière organique en décomposition (Tomberlin et *al.*, 2002). De cette façon, les œufs sont protégés des prédateurs, du dessèchement et de l'humidité, et les larves sont à proximité de nourriture dès l'éclosion et commencent ainsi à s'alimenter immédiatement (Dortmans et *al.*, 2017). Les œufs de BSF sont de couleur crème et mesurent en moyenne 1mm, ils sont pondus par amas de plusieurs centaines d'œufs (Figure 2)



Figure 2 : Les oeufs de la bsf

Les larves de BSF se caractérisent par leur appétit insatiable et consacrent l'intégralité de leur phase larvaire à se nourrir. Pendant cette période, elles accumulent des réserves de graisse et de protéines (Barragan-Fonseca et *al.*, 2017). À l'éclosion, la larve apparaît blanche et mesure quelques millimètres. Au

fur et à mesure de sa croissance, elle peut atteindre une longueur maximale d'environ 27 millimètres, tandis que sa coloration évolue progressivement vers des teintes plus sombres. Dans des conditions d'alimentation optimales, la phase de croissance des larves de BSF s'étend sur environ deux semaines. Cependant, il est important de noter que la larve de BSF est un organisme résilient capable de prolonger sa période larvaire en réponse à des conditions environnementales moins favorables (Dortmans et al., 2017).



Figure 3 : Photo des larves BSF

Le stade final de la larve est appelé le stade pré-nymphé. Lorsqu'elle atteint ce stade, la larve subit des transformations importantes : elle remplace sa structure buccale utilisée pour se nourrir par une structure en forme de crochet et prend une teinte brune. Ce crochet lui permet de se déplacer facilement et de s'éloigner de la source de nourriture vers un environnement propre et sec en vue du stade de nymphose (Barros et al., 2019). Ce comportement pourrait idéalement être exploité pour mettre en place une méthode d'auto-collecte des larves. Une fois dans un environnement approprié et à l'abri des prédateurs, la pré-nymphé subit une transformation pour devenir une nymphe. Son enveloppe devient plus sombre, et la pré-nymphé cesse de bouger jusqu'à ce que la mouche émerge deux à trois semaines plus tard. Après son émergence, la mouche adulte se reproduit pour assurer la survie de son espèce. Il est à noter que la BSF adulte ne se nourrit presque pas, mais sa durée de vie est prolongée lorsqu'elle a accès à

de l'eau ou à des sources sucrées (Bertinetti et al., 2019). En conséquence, elle peut vivre pendant une à deux semaines.

2. Forme adulte et complète de l'insecte à métamorphoses.

Regardons donc, de plus près, ce que cette mouche a comme particularité. Il s'agit de mouches de taille moyenne qui mesurent entre 15 et 20mm de long (May 1961), une couleur noire, avec des reflets métalliques bleu vert, et parfois légèrement marron au bout de l'abdomen. Deux ailes se replient l'une sur l'autre au-dessus du corps ainsi que des ailes en haltères (figure 04).

Comme tous les insectes, elle possède un corps en 3 parties : Tête, Thorax et Abdomen.

La tête porte des antennes, qui sont composées de trois segments et qui font environ deux fois la taille de la tête. Pour la vision, la mouche soldat possède trois ocelles et deux grands yeux composés (Oonincx *et al* 2016), légèrement plus écartés chez le mâle que chez la femelle. Chez l'adulte, les pièces buccales sont atrophiées, ce qui ne change rien au succès reproducteur mais il a été supposé que cela l'empêchait de se nourrir (Olivera *et al* 2016).

D'autres études au contraire, montrent que, bien que ces pièces buccales soient atrophiées, l'adulte reste capable de se nourrir, et possède un tractus digestif entièrement fonctionnel (Lupi *et al* 2019, Bruno *et al* 2019). Différents essais de nourriture ont été réalisés, menant à la conclusion que l'adulte survivait plus longtemps avec de la nourriture sous forme liquide (ou juste de l'eau) mais que cela n'augmentait pas le nombre d'œufs pondus (Bertinetti *et al* 2019). Par ailleurs, l'adulte est capable, à l'instar d'autres espèces du genre *Musca*, de régurgiter de la salive, pour faciliter l'absorption d'aliments solides (Bruno *et al* 2019).

Un dimorphisme sexuel a d'ailleurs été trouvé au niveau des pièces buccales (Pezzi *et al* 2020).

Le thorax est la partie du corps, qui, comme chez tous les ptérygotes, porte les ailes, deux paires d'ailes. Cependant chez les diptères, la paire d'ailes postérieure est atrophiée et est dite en haltère. *Hermetia illucens* n'échappe pas à la règle. Son thorax est en trois parties, le premier segment, le prothorax, porte la première paire de pattes, le mésothorax, porte la deuxième paire de pattes ainsi que les ailes (celles responsables du vol à proprement parlé) et enfin le métathorax, troisième et dernier segment, porte la troisième paire de pattes ainsi que les ailes en haltère (figure 22).

Les pattes sont en trois parties, et ont un segment blanc. Les ailes antérieures sont membraneuses et possèdent des nervures, caractéristiques de la famille des *Stratiomyidae*.

Sur la face dorsale, entre le thorax et l'abdomen, il y a le scutellum, qui chez la plupart des *Stratiomyidae*, possède deux épines, qui donnèrent le nom aux mouches soldat. Les épines sont absentes du scutellum chez *Hermetia illucens* (Oliveira *et al* 2015).

L'abdomen est la troisième partie du corps des insectes. Chez *Hermetia illucens*, il est composé de 8 segments, le premier est celui qui porte une partie translucide (Oliveira *et al* 2016), ajoutant encore à son apparence élancée, lui donnant un aspect de “taille de guêpe”. C'est de cette fenêtre que le nom latin “*illucens*” tire son origine. Le dernier segment qui porte les organes reproducteurs, est d'ailleurs la principale partie où s'exerce le dimorphisme sexuel (figure 05).

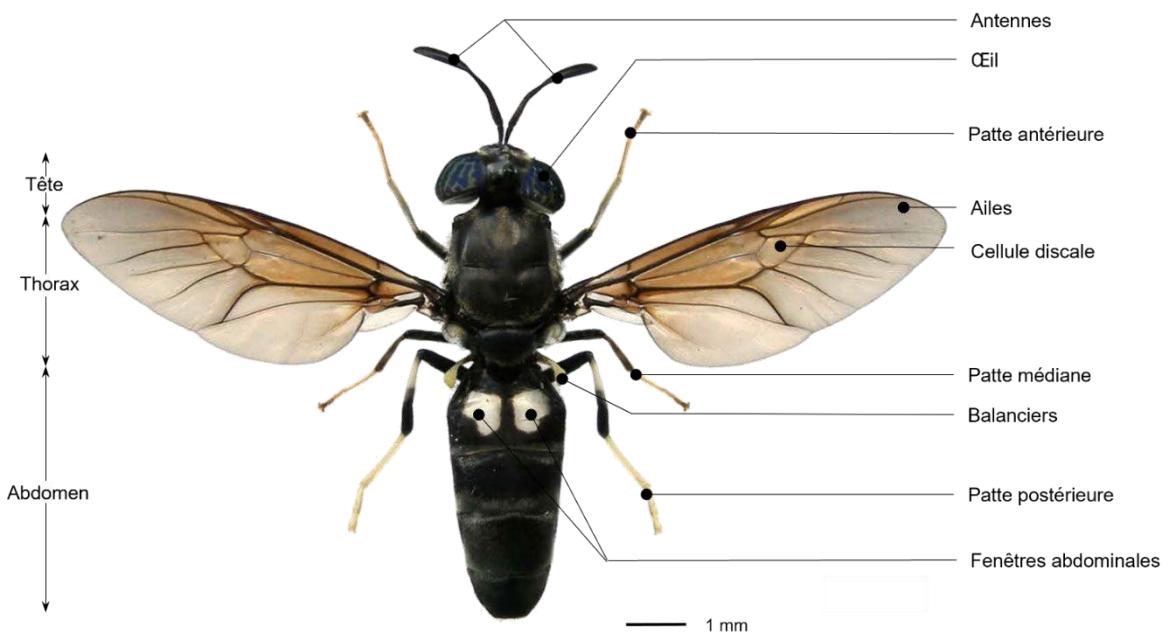


Figure 4: Description des différentes parties d'une *Hermetia illucens* adulte

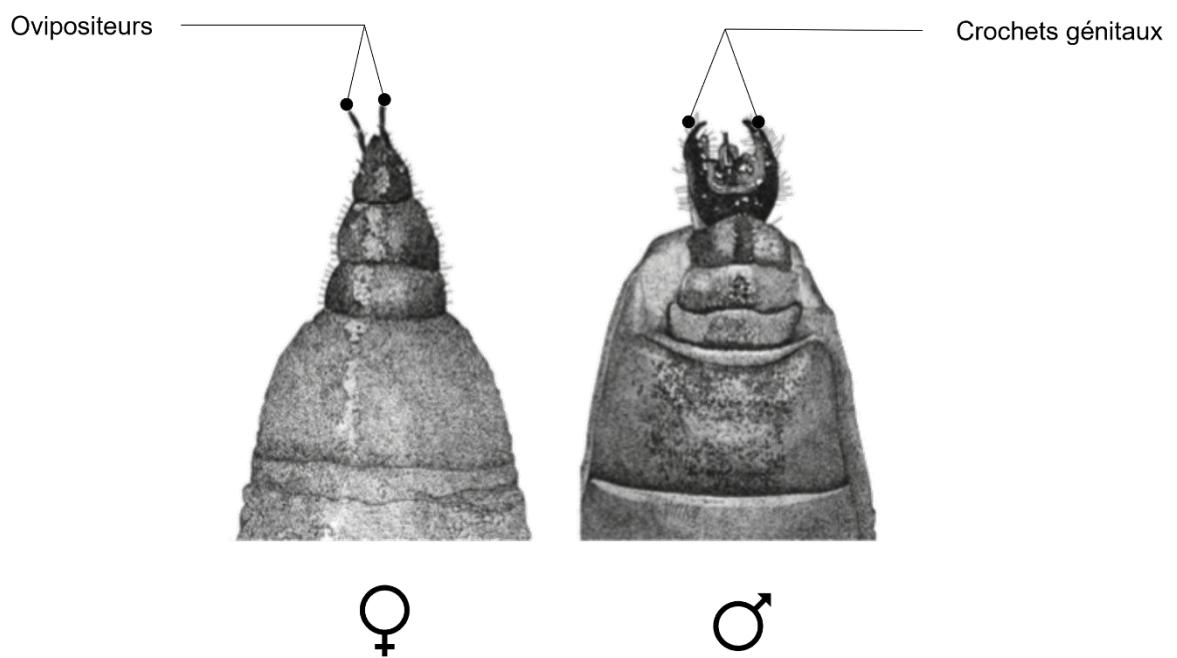


Figure 5: : Dimorphisme sexuel chez *Hermetia illucens*.

Dans la nature, les adultes mâles sont principalement retrouvés en zone végétalisée, tandis que les femelles seront davantage au niveau des sites de pontes (près de matières en décomposition et installation pour volailles -

Tomberlin 2001). Cela est principalement dû au comportement de reproduction que nous allons maintenant détailler.

3. Reproduction

Au début de l'émergence, les imagos ne sont pas encore tout de suite prêts pour se reproduire, il faut environ deux jours avant que l'ensemble des pièces sexuelles soient matures (Tomberlin 2001).

Chez les BSF, la reproduction est un processus assez complexe, où les mâles vont avoir un comportement de lek afin de se reproduire avec les femelles. Ce comportement, se caractérise par une lutte entre les mâles pour un territoire donné, puis les femelles volent audessus des mâles posés au sol ou sur des feuilles. Un mâle va venir se “proposer” à la femelle en vol, si ce partenaire lui convient, alors la reproduction s’engage, pendant 20 minutes environ, temps pendant lequel le mâle va déposer ses spermatozoïdes dans les voies génitales de la femelle (Figure 06).

Les BSF sont polyandres, ce qui signifie que plusieurs mâles vont pouvoir féconder une même femelle (Hoffmann, 2021). La femelle possède trois spermathèques, mais nous ne savons pas encore s'il y a un choix qui est opéré par la femelle pour le placement des spermatozoïdes et le choix des œufs qui seront fécondés. Une fois la reproduction achevée, la femelle va chercher un site de ponte. Les odeurs de matières organiques en décomposition vont l'attirer et elle va pouvoir pondre. Par ailleurs, la lumière joue un rôle important dans le mécanisme de la reproduction avec des longueurs d'onde optimales dans les élevages (Awal Rabiul *et al.*, 2022).



Figure 6: Reproduction chez *Hermetia illucens*.

4. Les œufs

Les femelles BSF pondent entre 200 et 600 œufs selon les différentes études. L'une d'entre elles (Jones et Tomberlin 2020) montre que les femelles plus grosses pondent plus d'œufs. Les œufs sont de petites tailles environ 1 mm, de forme légèrement oblongue (figure 07), un poids de 25 µg environ et de couleur blanc crème. Après 4 à 14 jours selon la température et le taux d'humidité (May 1961) les larves de premier stade vont pouvoir émerger.



Figure 7: Œufs d'*Hermetia illucens*

5. Les larves

Les larves de BSF possèdent 12 segments (figure 08) en incluant la capsule céphalique et vont passer par 6 stades larvaires (figure 27 A-F), ayant à chaque fois une mue (Kim *et al* 2010 ; Barros *et al* 2018).

Selon les conditions environnementales (température, humidité, accessibilité à la nourriture), les différents stades larvaires s'enchaînent plus ou moins vite. Il faut environ 14 jours pour passer du premier instar au sixième, et la taille va passer de 1.8mm à 20mm (Liu *et al* 2019). Les larves commencent à se nourrir immédiatement après l'éclosion avec une consommation de plus en plus importante, surtout après le troisième stade larvaire (Liu *et al* 2019). Le poids des larves en 14 jours augmente d'un facteur 10000.

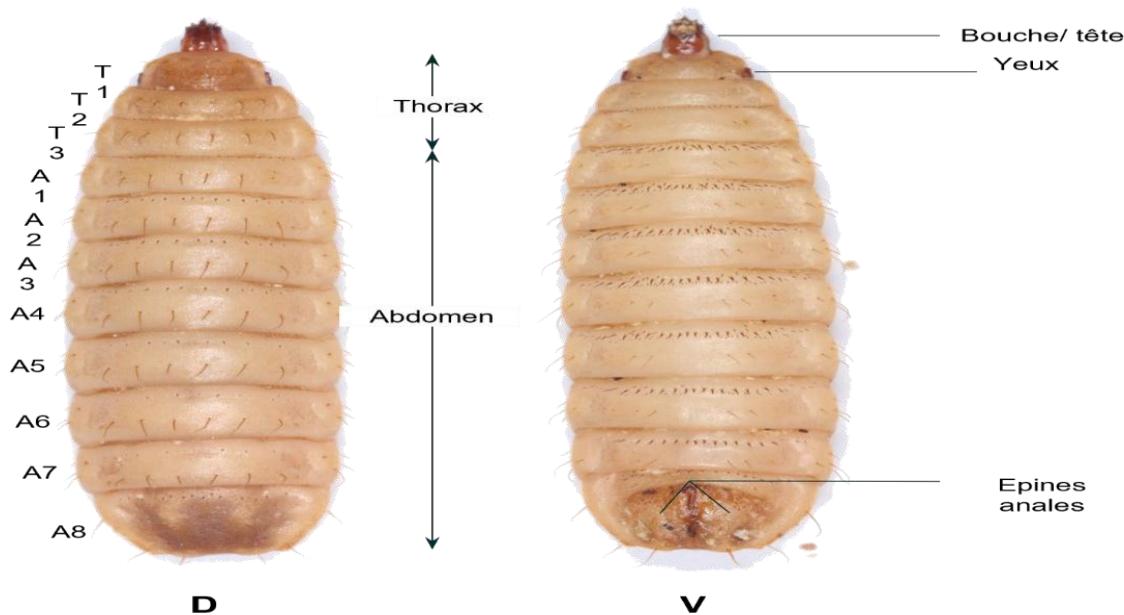


Figure 8: : Description des différentes parties d'une larve d'Hermetia illucens

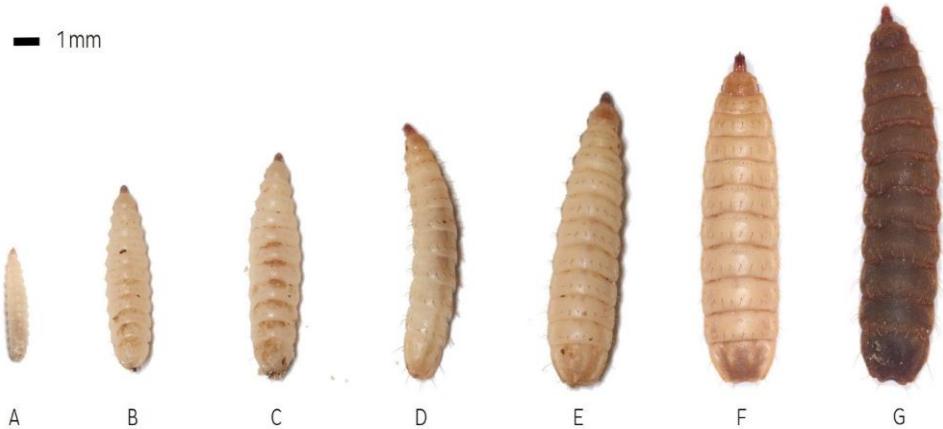


Figure 9: Evolution des larves d'*Hermetia illucens*

Lors du dernier stade larvaire a lieu la pupaison (figure 09 – G), il s’agit d’une étape où les larves cessent de se nourrir, vont changer de milieu, pour rechercher un endroit sec, et vont “durcir” leur exosquelette, qui va de fait, s’assombrir.

6. Les pupes

La pupaison requiert environ 2 semaines (Hall and Gerhardt 2002). Comme chez la plupart des holométaboles, la pupe est immobile, et c’est la prochaine mue, qualifiée de mue imaginale, qui permettra l’émergence de l’adulte. De façon générale, les mâles émergent avant les femelles, ce qui peut permettre d’éviter la consanguinité, les mâles s’éloignant alors des sites d’émergences. Les femelles, qui émergent légèrement plus tard, sont en général plus grosses que les mâles.

7. Cycle de vie et facteurs influant

Le cycle de vie d'*Hermetia illucens* peut donc être résumé en visualisant le passage des différents stades (figure 10).

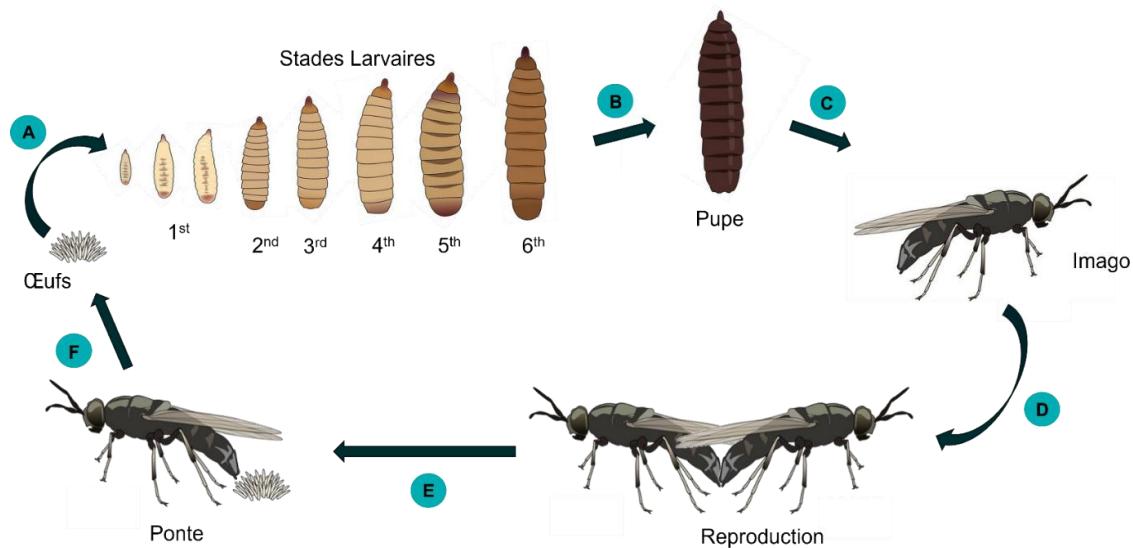


Figure 10 : Résumé du cycle de vie d'*Hermetia illucens*

Certaines substances ou certaines conditions vont venir altérer ce cycle de vie, et cela que ce soit de façon négative :

La cyromazine et le Pyriproxyfen, sont deux insecticides, qui, à un certain dosage, vont tuer les larves. (Tomberlin *et al* 2002).

Le pH aura aussi un impact dans les premiers jours de développement des larves. Cependant, quel que soit le pH initial, dès le 4ème jour de développement, le pH du milieu se stabilise autour de 9 (Meneguz *et al* 2018).

Ou positive :

L'augmentation de l'aération a pu tripler le poids sec de larves cultivées sur des coproduits d'amande (Palma *et al* 2018).

L'ajout de probiotiques, telles que les bactéries du genre *Rhodococcus*, peut également augmenter le poids des larves et la bioconversion des déchets (Franks *et al* 2021). *Bacillus velezensis* ajouté au substrat a permis une

augmentation du taux de protéine et de la survie des larves de BSF (Pei et al., 2022).

Cependant la mouche soldat va pouvoir résister à certains pathogènes, voire en réduire les proportions. Ainsi, dans un milieu dans lequel se développent des larves de BSF, les proportions d'*Escherichia coli* et de *Salmonella enterica*, vont être réduites (Liu *et al* 2008 ; Erickson *et al* 2003). En revanche, ce n'est pas le cas de tous les pathogènes tels que des *Enterococcus* ou encore du

bactériophage ϕ X174 (Lalander *et al* 2013)

Par ailleurs les larves de BSF, sont capables sans modifications de leur cycle de vie, de bio accumuler certains métaux lourds tel que le cadmium et l'arsenic, de résister à toute une variété de mycotoxines, de pesticides ainsi qu'à certains produits pharmaceutiques (Lievens *et al* 2021 ; Camenzuli *et al* 2018 ; Diener *et al* 2015).

8. La bioconversion

Hermetia illucens possède des capacités tout à fait remarquables lorsqu'il s'agit de réduire les biodéchets. Et dans un monde où l'on prévoit être autour de 9,7 milliards d'ici 2050 (United Nations, 2021), je vous laisse imaginer la quantité de déchets. En ne parlant ici que des déchets municipaux solides et à ce rythme de croissance, cela pourrait passer des 2,01 milliards de tonnes de déchets estimés en 2016 à quelques 3,4 milliards de tonnes de déchets municipaux solides en 2050. (Kaza *et al* 2018).

En effet, et à titre indicatif, on estime que chaque être humain produit entre 0,11 et 4,54 kg de déchets par jour (figure 31), et cela augmente dans les pays développés (Kaza *et al* 2018).

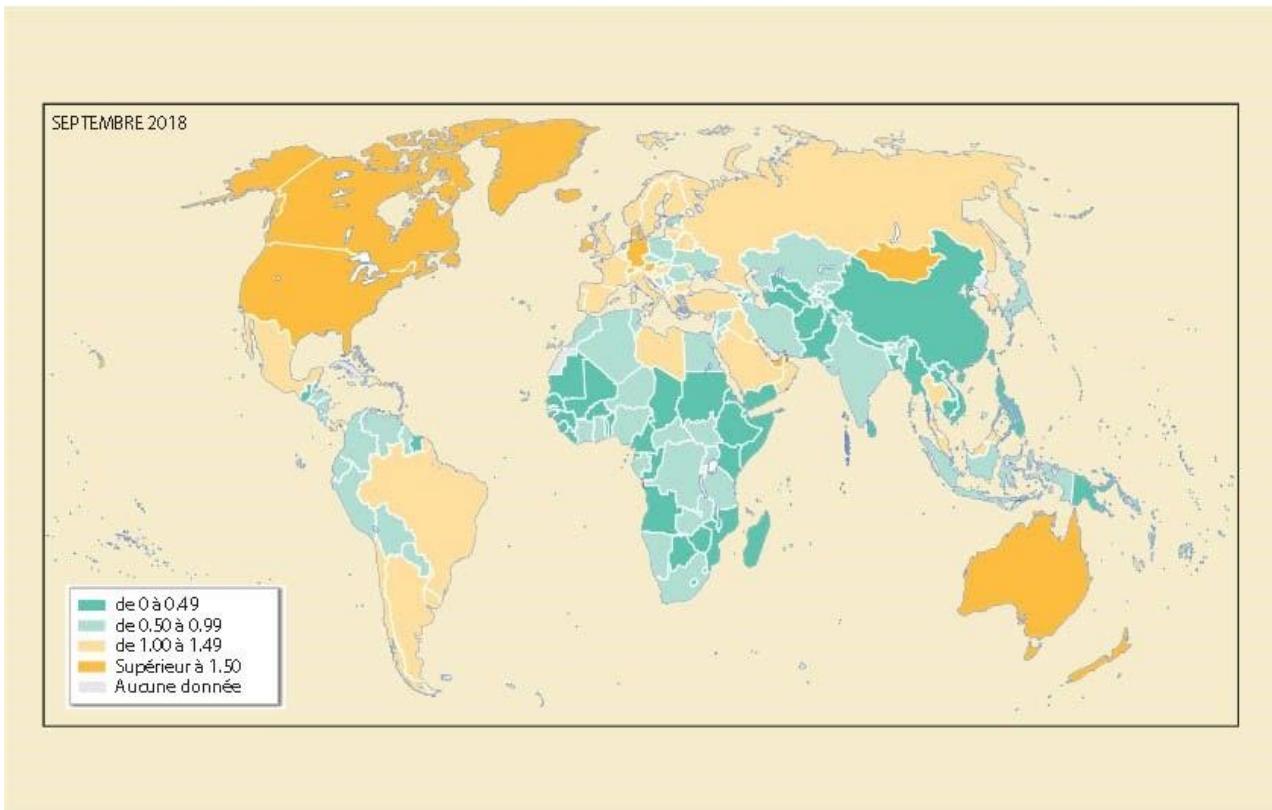


Figure 11: quantité de déchet par habitant et par jour

Au niveau mondial, près de la moitié de ces déchets sont organiques (12). La composition en déchet varie d'un pays à l'autre et est corrélé au PIB par habitant.

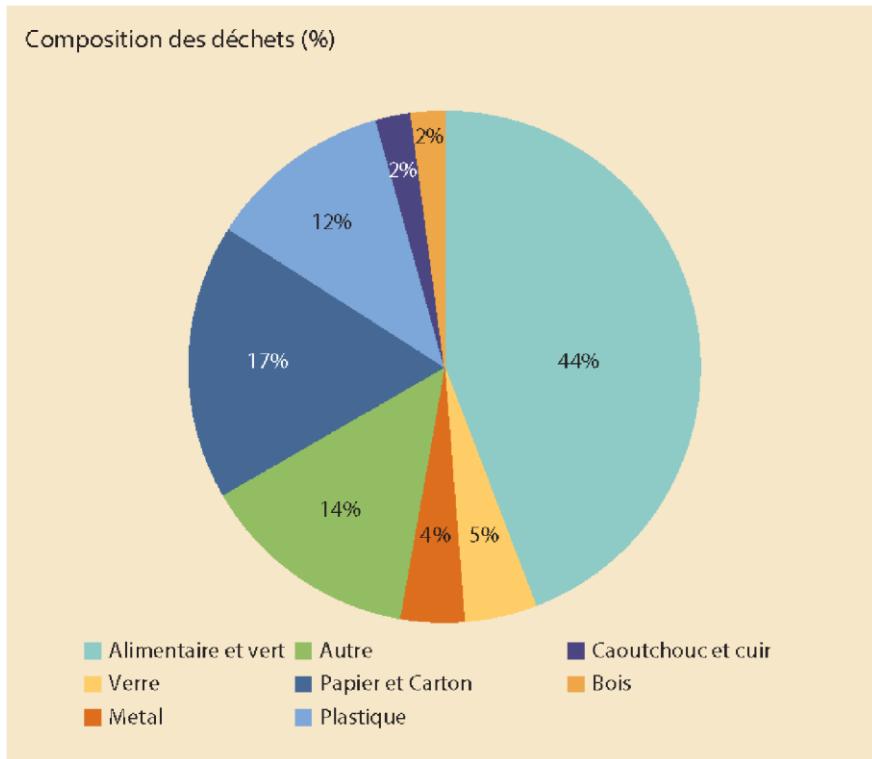


Figure 12: Composition mondiale des déchets

Ainsi en fonction des aliments qui seront donnés aux larves, celles-ci pourront consommer 37,3 % d'un aliment pour volaille, et jusqu'à 68% de déchets organiques (Diener *et al* 2011). Concrètement un kilogramme d'œufs de mouches soldat donnera en 10 jours 10 tonnes de larves vivantes consommant 40 à 50 tonnes de déchets alimentaires.

Un autre aspect intéressant de la mouche soldat noire est également présenté par Diener *et al* (2011) : un mélange un pour un de déchets organiques et de boues fécales (excrément déshydraté), a conduit les larves de BSF à une réduction de 66,6% de ces déchets. Ce genre de matière première, hostile pour la plupart des animaux ne l'est pas pour *Hermetia illucens*. C'est en effet grâce à sa grande résistance face aux pathogènes que cela est possible

Et c'est d'ailleurs grâce à cette grande capacité, que l'on a trouvé aux larves de BSF, de résister et d'assainir son environnement, des bactéries, que

l'on a commencé à utiliser *Hermetia illucens* avec cet objectif. Que ce soit le fumier de volailles ou le lisier de vache, l'action de la mouche soldat noire va alors assainir et de plus, les nutriments sont réduits de manière significative entre 37 et 93 % selon les éléments avec l'azote réduit lui à 71% (Newton *et al* 2005). L'ensemble des macro et microéléments prélevés du lisier de vache sont accumulés dans les larves.

L'expérience en laboratoire a également montré que les mauvaises odeurs du lisier étaient capturées par les larves d'*Hermetia illucens* (Newton *et al* 2005).

Hermetia illucens a été utilisée avec succès sur des tourteaux de palmeraie, elle vient aussi s'inviter dans les plantations de café pour dégrader les coques de café, ces dernières qui étaient jusqu'à présent, laissées de côté (Noerhatini *et al* 2022).

Chapitre II : Utilisation comme source de protéine

Introduction

Les insectes sont depuis longtemps considérés comme une source alternative de protéines (Calvert *et al* 1969). *Hermetia illucens* n'a pas tardé à attirer l'attention. Dès 1973 en complément pour le poulet (Hale 1973) puis en 1977 pour le porc (Newton *et al* 1977) et en 1981 pour les poissons (Bondari et Sheppard 1981).

En effet, les larves de BSF vont pouvoir contenir, en fonction du substrat sur lequel elles ont été nourries, 32 à 58% de protéines, en masse. Une fois débarrassée de la partie lipidique, cela peut monter jusqu'à 55 à 65%. Ce genre de valeur peut également être atteinte avec des insectes comme le ver de farine. À titre de comparaison, le bœuf en contient 19 à 26% (Van Huis *et al* 2013).

L'espace nécessaire pour produire des protéines, ainsi que le potentiel de réchauffement climatique, sont bien moindre avec des insectes qu'avec des sources de protéines animales plus traditionnelles (lait ; porc ; poulet ; bœuf).

Le potentiel des larves de mouche soldat noire en tant qu'ingrédient dans l'alimentation a été évalué au cours d'essais alimentaires menés sur diverses espèces animales, démontrant qu'elles constituent un aliment de haute performance pour la croissance des animaux. Les mouches pondent des œufs qui se développent rapidement en larves, caractérisées par une phase d'alimentation intensive et un gain pondéral significatif. Ensuite, elles passent au stade de prépupes, qui se révèle être la phase la plus riche en protéines et en lipides. (Pour de plus amples informations sur le cycle de vie et la métamorphose de la mouche soldat noire, veuillez vous reporter à la section 1.5.1 du chapitre 2). Il est à noter que ce sont principalement les stades larvaires et prépupes qui suscitent un vif intérêt dans les études relatives à l'alimentation. Par exemple, les larves et les prépupes de mouche soldat noire se sont révélées être une source de

nutriments de haute qualité pour diverses espèces animales, notamment les volailles (Hale, 1973; SánchezMuros et al., 2014), les porcs (Newton et al., 1977; Laureati et al., 2016), et les poissons (Bondari et Sheppard, 1987; Cummins et al., 2017). Les prépupes présentent un potentiel intéressant en tant qu'aliment alternatif pour le bétail, pouvant éventuellement remplacer des sources alimentaires couramment utilisées telles que la farine de poisson, le son de blé et le maïs (Makkar et al., 2014; Driemeyer, 2016).

1 . Valeur nutritionnelle des larves de mouche soldat noire

Les larves de MSN constituent une source alimentaire de grande valeur nutritive, très riche en protéines et en lipides (Tableau 1). Cependant, la teneur en lipides et en protéines est variable et dépend du type de régime alimentaire. La teneur en cendre est relativement élevée, mais variable de 6 à 18%, base sèche (Tableau 1). Elles sont également riches en calcium et phosphore (tableau 2) (Arango Gutiérrez et al., 2004; St-Hilaire et al., 2007; Yu et al., 2009). Les larves de MSN contiennent différents acides aminés, et celle la plus importante proportion est la lysine avec 6 à 8% (Tableau 3). Son profil nutritionnel riche et varié fait d'*Hermetia illucens* (MSN) un insecte prometteur pour l'alimentation animale (Barragán-Fonseca et al., 2018b; Gold et al., 2018).

Tableau 1: Compositions chimiques moyennes (%, base sèche), minimales et maximales (entre parenthèses) des larves d'*Hermetia illucens*

Protéines brutes $n = 5$	Fibres brutes $n = 1$	Lipides bruts $n = 5$	Cendres $n = 5$	Énergie brute (MJ / kg MS)
$42,1 \pm 1,0$ (32,1 - 58,6)	$8,0 \pm 4,0$ (7,1- 14,3)	$26,0 \pm 8,3$ (15,0 - 39,8)	$10,6 \pm 6,0$ (6,4 - 18,4)	$22,1 \pm 3,1$ (20,1 - 30,4)

¹Sources : St-Hilaire *et al.*, 2007; Makkar et al., 2014; Cheng *et al.*, 2017; BarraganFonseca et al., 2017 - 2018b; Gold *et al.*, 2018.

Tableau 2: Teneur moyenne minimales et maximales (entre parenthèses) en minéraux des larves de MSN (%), base sèche)

Ca <i>n</i> = 4	P <i>n</i> = 4	K <i>n</i> = 1	Na <i>n</i> = 1	Mg <i>n</i> = 1	Fe <i>n</i> = 1	Mn <i>n</i> = 1	Zn <i>n</i> = 1	Cu <i>n</i> = 1
g/kg						mg/kg		
75,6 ± 17,1 (50,0 - 86,3)	9,0 ± 4,0 (6,4 – 15,0)	6,90	1,30	3,90	1,37	246,0	108,0	6,0

Tableau 3: Composition minimales et maximales (entre parenthèses) en acide aminé des larves de MSN (%), base sèche)

Acide aminé essentiel	g/100g d'azote
Alanine (n=4)	7,7 ± 0,8 (6,9 – 8,8)
Arginine (n=4)	5,6 ± 0,3 (5,3 – 6,1)
Acide aspartique (n=4)	11,0 ± 1,8 (8,5 – 12,5)
	0,1
Cystine (n=1)	3,0 ± 1,0 (2,3 – 4,5)
Histidine (n=4)	5,1 ± 0,5 (4,7 – 5,6)
Isoleucine (n=4)	7,9 ± 0,6 (7,1 – 8,4)
Leucine (n=4)	6,6 ± 0,9 (6,0 – 8,0)
Lysine (n=4)	2,1 ± 0,3 (1,7 – 2,4)
Méthionine (n=4)	5,2 ± 0,4 (4,6 – 5,6)
Phénylalanine (n=4)	3,7 ± 1,7 (1,3 – 4,8)
Thréonine (n=4)	

Tryptophane (n=1)	0,5
Acide glutamique (n=4)	$10,9 \pm 2,4$ (8,7 – 13,5)
Valine (n=4)	$8,2 \pm 1,4$ (6,4 – 9,1)
Proline (n=4)	$6,6$ (5,5 – 7,7)
Serine (n=4)	$3,1 \pm 1,9$ (0,3 – 4,2)
Tyrosine (n=4)	$6,9 \pm 0,7$ (6,0 – 7,7)

¹*Sources* : St-Hilaire *et al.*, 2007; Sealey *et al.*, 2011; Makkar *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2017.

Les larves sont riches en protéines et en matière grasse. Les concentrations d'éléments nutritifs changent de façon dynamique au cours d'une métamorphose, comme l'ont montré Liu *et al.* (2017) à l'exemple de la mouche soldat noire. Les stades larvaire et prépupal tardifs comptent parmi les phases les plus riches en nutriments et il est judicieux de faire la récolte à ces stades. En plus du stade de développement, la composition nutritionnelle dépend de l'espèce d'insectes, avec une variation considérable au sein de l'espèce même (fig. 13). La teneur en matière grasse varie davantage que la teneur en protéines. La plupart des données sont disponibles pour la mouche soldat. Même avec une faible teneur en protéines inférieure à 100 g/kg MS dans le substrat nutritif, les larves accumulent les protéines jusqu'à atteindre le niveau habituel pour l'espèce.

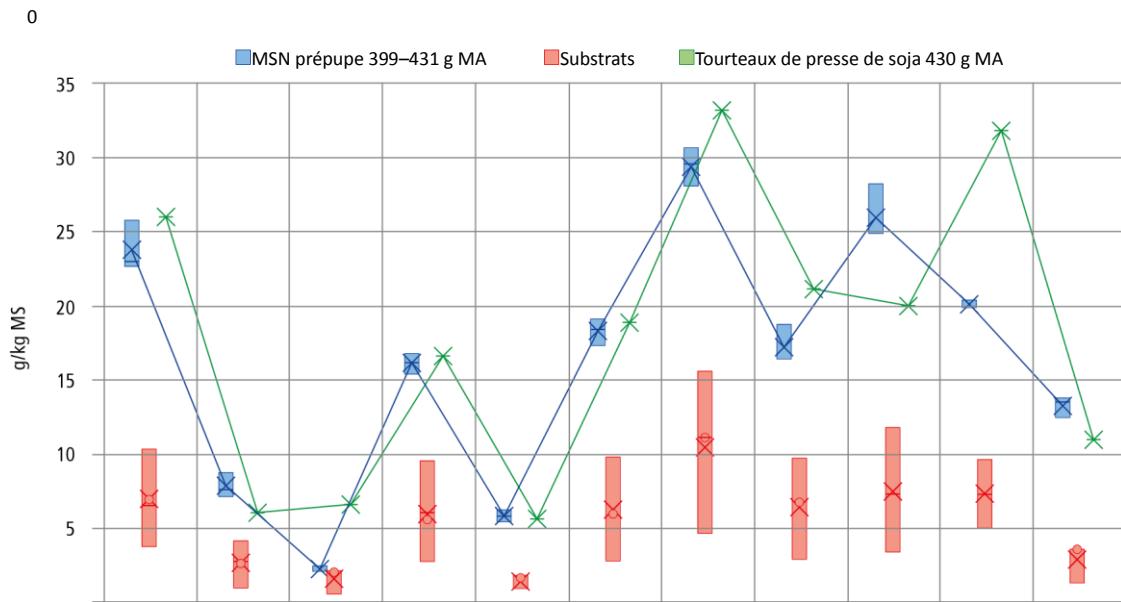


Figure 13: | Teneur absolue en acides aminés de la mouche soldat (prépupes) nourrie avec des déchets végétaux et des résidus de biogaz, par rapport au tourteau de presse du soja (selon Spranghers et al. 2017).

La formation de la matière grasse, par contre, dépend du rapport protéines/glucides dans le substrat nutritif. En particulier, les sources de glucides facilement digestibles favorisent le stockage de la matière grasse (Barragan-Fonsecca *et al.* 2018a, b, 2019 ; Danieli *et al.* 2019). La teneur moyenne en protéines est supérieure à 400 g/kg MS. Le grillon domestique est champion en la matière, puisque qu'avec une teneur d'environ 660 g MA/kg MS, il se situe dans la gamme des farines de poisson. D'autres types de grillons atteignent les mêmes valeurs. La teneur en protéines des insectes permet de nombreuses possibilités d'application. D'autres sources de protéines comme le tourteau d'extraction du soja et la farine de poisson peuvent être partiellement remplacés. C'est en particulier dans

l'alimentation riche en protéines ($MA > 40\%$) des poissons carnivores que la farine de poisson peut être largement remplacée par des protéines d'insectes (Rumpold *et al.* 2018, Nogales-Merida *et al.* 2018).

La teneur élevée en matière grasse (MG) des larves de la mouche soldat noire et du ver de farine (environ 250– 400 g/kg MS) et la faible teneur en MS limitent leur utilisation dans les mélanges. De plus, les besoins en MG des animaux monogastriques seraient rapidement dépassés. La teneur en MG dans les mélanges est généralement inférieure à 10 %. Les produits à base de larves de la mouche soldat noire disponibles dans le commerce sont donc vendus sous la forme de farine dégraissée et séchée, ce qui augmente la teneur moyenne en protéines à 620 g/kg MS (fig. 13). Avec le dégraissage mécanique, la teneur en MG obtenue oscille entre 100–200 g/kg MS, ce qui correspond à la teneur en MG des tourteaux de presse des graines oléagineuses. Les teneurs en MG inférieures à 100 g/kg MS sont obtenues par extraction au solvant. Les produits à base de mouches soldat présentent une teneur relativement élevée en cendres. L'analyse classique des nutriments atteint certaines limites dans le cas des insectes. Les insectes ne contiennent pas de fibres, mais une enveloppe externe contenant de la chitine (squelette externe). La chitine est un polysaccharide contenant de l'azote (acétyle-glucosamine) qui est très semblable à la cellulose. La chitine est donc incluse dans la fraction ADF. Lors de la détermination de l'azote total et de la conversion usuelle en protéines par un facteur de 6,25, la teneur en protéines est surestimée. 100 g de chitine contiennent 6,897 g de N. Selon les études de Caligiani *et al.* (2018) et de Janssen *et al.* (2017), la teneur en chitine des larves de la mouche soldat et du ver de farine varie entre 4,4 et 9,1 % (en MS), ce qui représente 3 à 9,4 % de l'azote total. Comme la proportion de matière azotée non protéique peut s'élever de 11 à 26 %, la chitine n'est pas la seule raison de la surestimation des protéines. Les auteurs proposent un facteur de conversion de l'azote de 4,76 pour les protéines

d'insectes. Comme alternative, on peut estimer la teneur en chitine à partir des concentrations d'ADF et d'ADL (Hahn *et al.* 2018) et corriger ainsi la teneur en protéines. Une autre option est l'analyse directe des acides aminés. Les animaux monogastriques ont principalement besoin d'acides aminés et non de MA.

Qualité des protéines

Une première évaluation de la qualité des protéines résulte des valeurs

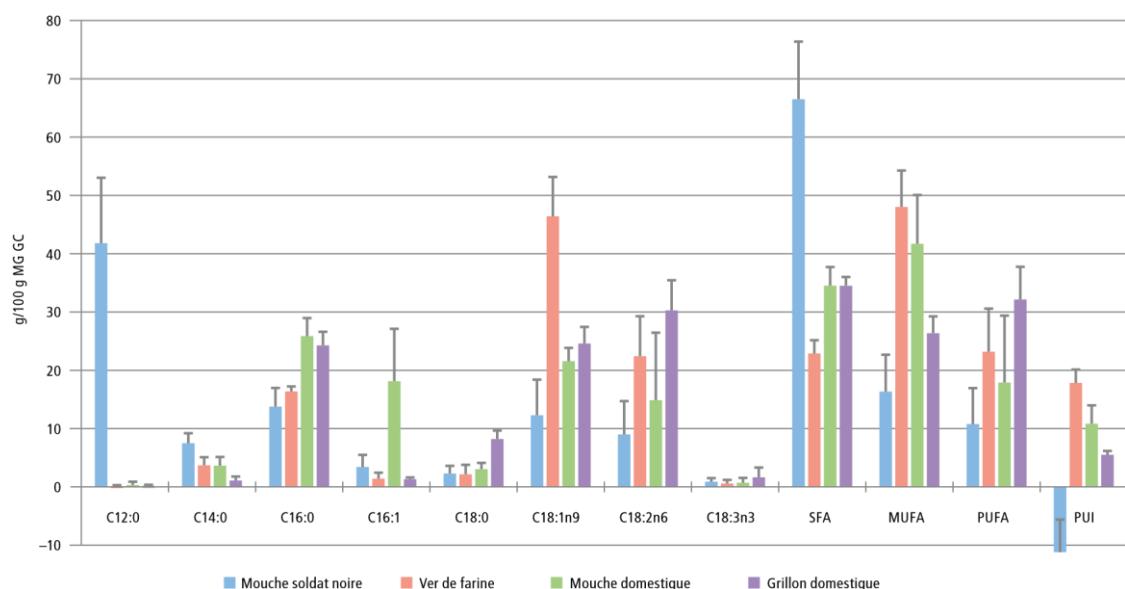


Figure 14: | Composition en acides gras et indice de graisse de la matière grasse des insectes (larves, prépupes, nymphes) tirés des ouvrages cités dans la liste bibliographique (valeurs moyennes et écarts types; GC = chromatographie en phase gazeuse; SFA = acide

du profil des acides aminés essentiels, qui sont toutes dérivées de la MA = N × 6,25 et comparées aux protéines de soja présentées dans la figure 15

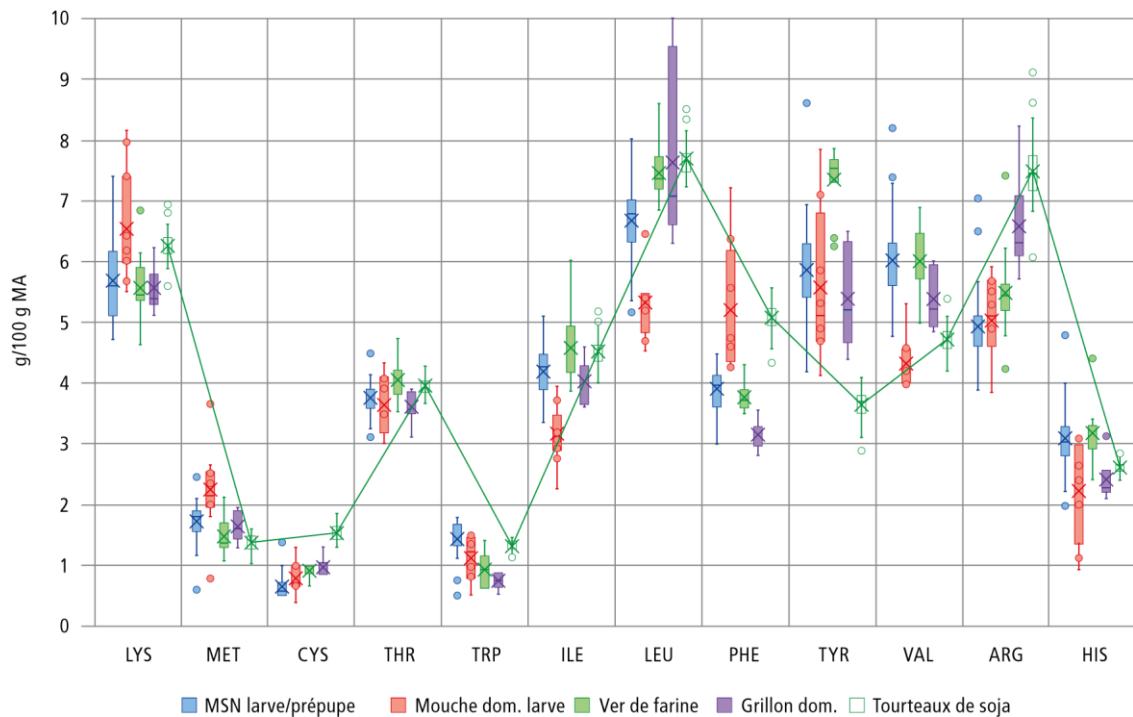


Figure 15: Profil des acides aminés essentiels dans les protéines d'insectes tirés des ouvrages cités dans la liste bibliographique par rapport au tourteau d'extraction/de presse du soja (MSN = mouche soldat noire; dom. = domestique).

Les insectes sont efficaces en cas de ... Comme les insectes sont Comme les insectes sont des animaux à sang froid, ils n'ont pas besoin d'énergie pour maintenir leur température corporelle, ce qui leur permet d'obtenir une valorisation alimentaire principalement bonne jusqu'à moins de 2 kg d'aliments/kg de croissance. En pratique, les résultats varient en fonction de la base alimentaire (Oonincx *et al.* 2015; Lundy et Parella 2015; Tschirner et Simon 2015; van Broekhoven *et al.* 2015; Meneguz *et al.* 2018). Il existe différentes définitions et façons de calculer l'efficience. Les entomologistes utilisent le terme ECI (= *efficiency of ingested feed*) calculé en tant que (kg de croissance/kg d'aliments) * 100 en utilisant comme base la MF ou MS pour les aliments. La question est de savoir si l'ingestion peut être mesurée avec précision. Souvent, on part simplement de l'offre en substrat. Des valeurs ECI

de 3 à 45 % ont été déterminées. Dans la gestion des déchets, on parle d'efficience de conversion de la biomasse calculée comme suit (rendement en insectes (MS)/ offre en déchets (MS)) * 100. Dans les études de Lalander *et al.* (2018), des larves de la mouche soldat noire (MSN) ont été produites sur divers déchets avec un rendement de 0,2–15,2 %. Des protéines ont été générées avec un rendement pouvant atteindre 80 %.

Les larves sont riches en protéines et en matière grasse Les concentrations d'éléments nutritifs changent de façon dynamique au cours d'une métamorphose, comme l'ont montré Liu *et al.* (2017) à l'exemple de la mouche soldat noire. Les stades larvaire et prépupal tardifs comptent parmi les phases les plus riches en nutriments et il est judicieux de faire la récolte à ces stades. En plus du stade de développement, la composition nutritionnelle dépend de l'espèce d'insectes, avec une variation considérable au sein de l'espèce même. La teneur en matière grasse varie davantage que la teneur en protéines. La plupart des données sont disponibles pour la mouche soldat. Même avec une faible teneur en protéines inférieure à 100 g/kg MS dans le substrat nutritif, les larves accumulent les protéines jusqu'à atteindre le niveau habituel pour l'espèce. La formation de la matière grasse, par contre, dépend du rapport protéines/glucides dans le substrat nutritif. En particulier, les sources de glucides facilement digestibles favorisent le stockage de la matière grasse (Barragan-Fonsecca *et al.* 2018a, b, 2019; Danieli *et al.* 2019). La teneur moyenne en protéines est supérieure à 400 g/kg MS. Le grillon domestique est champion en la matière, puisque qu'avec une teneur d'environ 660 g MA/kg MS, il se situe dans la gamme des farines de poisson. D'autres types de grillons atteignent les mêmes valeurs. La teneur en protéines des insectes permet de nombreuses possibilités d'application. D'autres sources de protéines comme le tourteau d'extraction du soja et la farine de poisson peuvent être partiellement

remplacés. C'est en particulier dans l'alimentation riche en protéines (MA > 40 %) des poissons carnivores que la farine de poisson peut être largement remplacée par des protéines d'insectes (Rumpold *et al.* 2018, Nogales-Merida *et al.* 2018).

La teneur élevée en matière grasse (MG) des larves de la mouche soldat noire et du ver de farine (environ 250– 400 g/kg MS) et la faible teneur en MS limitent leur utilisation dans les mélanges. De plus, les besoins en MG des animaux monogastriques seraient rapidement dépassés. La teneur en MG dans les mélanges est généralement inférieure à 10 %. Les produits à base de larves de la mouche soldat noire disponibles dans le commerce sont donc vendus sous la forme de farine dégraissée et séchée, ce qui augmente la teneur moyenne en protéines à 620 g/kg MS (fig. 2). Avec le dégraissage mécanique, la teneur en MG obtenue oscille entre 100–200 g/kg MS, ce qui correspond à la teneur en MG des tourteaux de presse des graines oléagineuses. Les teneurs en MG inférieures à 100 g/kg MS sont obtenues par extraction au solvant. Les produits à base de mouches soldat présentent une teneur relativement élevée en cendres. L'analyse classique des nutriments atteint certaines limites dans le cas des insectes. Les insectes ne contiennent pas de fibres, mais une enveloppe externe contenant de la chitine (squelette externe). La chitine est un polysaccharide contenant de l'azote (acétyle-glucosamine) qui est très semblable à la cellulose. La chitine est donc incluse dans la fraction ADF. Lors de la détermination de l'azote total et de la conversion usuelle en protéines par un facteur de 6,25, la teneur en protéines est surestimée. 100 g de chitine contiennent 6,897 g de N. Selon les études de Caligiani *et al.* (2018) et de Janssen *et al.* (2017), la teneur en chitine des larves de la mouche soldat et du ver de farine varie entre 4,4 et 9,1 % (en MS), ce qui représente 3 à 9,4 % de l'azote total. Comme la proportion de matière azotée non protéique peut s'élever de 11 à 26 %, la chitine n'est pas la seule raison de la surestimation des protéines. Les auteurs

proposent un facteur de conversion de l'azote de 4,76 pour les protéines d'insectes. Comme alternative, on peut estimer la teneur en chitine à partir des concentrations d'ADF et d'ADL (Hahn *et al.* 2018) et corriger ainsi la teneur en protéines. Une autre option est l'analyse directe des acides aminés. Les animaux monogastriques ont principalement besoin d'acides aminés et non de MA.

Qualité des protéines Une première évaluation de la qualité des protéines résulte des valeurs du profil des acides aminés essentiels, qui sont toutes dérivées de la $MA = N \times 6,25$ et comparées aux protéines de soja. La variance des différents acides aminés est généralement plus élevée dans les protéines d'insectes que dans les protéines de soja. Les différences en matière d'analyse en sont une cause. D'autres raisons possibles sont les substrats nutritifs variables avec une qualité protéique partiellement inférieure. Par rapport au profil du soja, les protéines d'insectes contiennent en moyenne moins de cystine (acide aminé contenant du S), de phénylalanine et d'arginine. En revanche, la part relative de tyrosine et de valine (à l'exception de la mouche domestique) est plus élevée que dans les protéines de soja. Les autres teneurs en acides aminés varient selon l'espèce d'insectes. Avec 6,5 g de lysine/100 g MA, la mouche domestique dépasse le profil du soja, tandis que chez la mouche soldat, le ver de farine et le grillon domestique, cette valeur est légèrement en dessous de 6 g de lysine/100 g MA, ce qui a été défini comme profil idéal (Bracher 2019a). Les teneurs en thréonine, en isoleucine et en histidine sont le plus souvent similaires à celles du soja. La protéine de la mouche domestique se distingue par ses teneurs relativement faibles en isoleucine, en leucine et en valine. Dans le cas de la cystine, le profil idéal n'est dans l'ensemble pas atteint. La part relative en tryptophane chez le ver de farine et le grillon domestique est faible avec des valeurs inférieures à 1 g/100 g MA. Du point de vue de la valorisation des déchets, les travaux de Spranghers *et al.* (2017) ont montré que les larves de la mouche soldat sont

capables de transformer des substrats de qualité inférieure en protéines d'insectes de qualité élevée. On obtient les mêmes quantités d'acides aminés que dans les tourteaux de presse du soja avec une teneur en protéines comparable. Seule la teneur en cystine n'est pas accumulée. Cette capacité de valorisation est un argument important en faveur des protéines d'insectes de qualité élevée. On obtient les mêmes quantités d'acides aminés que dans les tourteaux de presse du soja avec une teneur en protéines comparable. Seule la teneur en cystine n'est pas accumulée. Cette capacité de valorisation est un argument important en faveur des protéines d'insectes.

En plus de la quantité et du profil des acides aminés, la qualité des protéines dépend également de leur digestibilité. Chez les poulets de chair, une digestibilité moyenne des acides aminés essentiels de 77,6 à 79,2 % a été mesurée avec des larves de la mouche soldat dégraissées, de 84,3 à 95 % avec des larves de la mouche domestique et de 84 % avec des larves du ver de farine (DeMarco *et al.* 2015, Hall *et al.* 2018, Pretorius 2011, Schiavone *et al.* 2017b). Dans l'étude de synthèse sur les protéines d'insectes dans l'alimentation des poissons (Nogales-Merida *et al.* 2018), les valeurs de la digestibilité de la MA varient généralement entre 80 et 95 %. Les acides aminés des larves de la mouche soldat ont été digérés à 84,96 % dans le cas des porcelets après un dégraissage mécanique et à 73,13 % après un dégraissage au solvant (Kortelainen *et al.* 2014). Une digestibilité de plus de 80 % peut être considérée comme bonne. Chez les porcs à l'engraïs, 10 % de larves du ver de farine dans la ration ont amélioré la digestibilité des éléments nutritifs par rapport aux farines de poisson ou de viande (Yoo *et al.* 2019). L'influence des procédés de transformation tels que le dégraissage et le traitement thermique doit être étayée par des essais supplémentaires. Les données disponibles pour l'évaluation de la qualité des protéines dans l'alimentation des porcs sont encore globalement incomplètes. Étant donné que les besoins en acides aminés digestibles en Suisse

sont exprimés par rapport à l'énergie, une évaluation énergétique fiable des protéines d'insectes est nécessaire. Or, ces informations font encore défaut.

Qualité de la graisse ; Comme le montre la figure 2, les larves d'insectes sont riches en matière grasse, leur teneur pouvant cependant varier considérablement. Même les produits dégraissés auront une influence considérable sur la qualité de la matière grasse dans la ration totale des animaux monogastriques. Les profils d'acides gras de la matière grasse d'insectes dépendent de l'espèce (fig. 5) et présentent une certaine plasticité par rapport à la composition de la matière grasse présente dans le substrat nutritif, comme le montrent les écarts types. Les profils d'acides gras sont donnés en g/100 g MG-GC (somme des acides gras avec teneur en glycérides). Avec une teneur en acides gras saturés (SFA) de 66,5 %, la matière grasse des larves de la mouche soldat présente un degré de saturation élevé, ce qui est principalement dû à la teneur très élevée en acide laurique (C12:0) de plus de 40 %. En cela, la graisse des larves de la mouche soldat diffère très nettement de celle des autres espèces d'insectes. Il en résulte un indice de graisse (valeur IPI) de -10 très favorable pour l'alimentation des porcs à l'engrais. Cependant, l'acide laurique est également responsable d'un goût de savon dans la graisse des animaux monogastriques et peut donc avoir une influence négative sur la qualité du produit final (produits carnés et produits à base de matière grasse, œufs). L'acide laurique est rapidement absorbé par les animaux et utilisé efficacement comme source d'énergie. C'est probablement la raison principale qui explique la teneur élevée en acide laurique de la MG de la mouche soldat qui, rappelons-le, ne se nourrit pas à l'état adulte et vit uniquement des réserves de graisse constituées pendant son développement. Le remplacement de l'huile de soja par la graisse de la mouche soldat dans l'alimentation des poulets de chair a fait passer la teneur en acide laurique dans la matière grasse de la viande de poitrine de 0,09 % à 8,5 % (Schiavone *et al.* 2017a). Aucune dégustation n'a été

effectuée dans cet essai. L'effet antimicrobien de l'acide laurique (Spranghers *et al.* 2018), qui pourrait rendre intéressante son utilisation comme substitut antibiotique chez les porcelets sevrés, est une autre propriété souhaitable dans le cas présent. La composition en acides gras des larves de la mouche soldat répond également très bien aux exigences de la production de biodiesel (Surendra *et al.* 2016), la graisse qui résulte du dégraissage des larves pouvant être utilisée judicieusement à cet effet. La concentration d'acide oléique (C18:1) est très élevée dans la graisse du ver de farine oléique et atteint une proportion d'environ 45 %. Il en résulte – ce qui n'est pas souhaitable – l'indice IPI le plus élevé de toutes les graisses d'insectes; autrement dit, son utilisation est limitée dans les rations des porcs à l'engrais. La proportion relativement élevée d'acide palmitoléique (C16:1) caractérise la composition de la matière grasse des larves de la mouche domestique. Quant à la graisse du grillon domestique, elle se distingue de celle des autres insectes par sa teneur comparativement élevée en acide linoléique (C18:2) d'environ 30 %. Tous les insectes ont en commun une très faible proportion d'acide linolénique (C18:3). Les acides gras ayant plus de 18 atomes de carbone ne sont présents qu'en très petites quantités. Les déchets de poissons (St. Hilaire *et al.* 2007), l'alimentation à base d'algues (Liland *et al.* 2017) et l'huile de lin (Oonincx *et al.* 2019) ont été utilisés pour enrichir de façon ciblée la composition de la matière grasse des insectes avec des acides gras n-3 polyinsaturés, ce qui s'est avéré une réussite jusqu'à un certain degré. La graisse d'insectes peut être modulée en fonction du domaine d'application. Composés bioactifs: peptides antimicrobiens, chitine Les insectes saprophages survivent sur des substrats à forte charge microbienne grâce à des mécanismes de défense robustes et adaptables. En produisant des peptides antimicrobiens (PAM), les larves ont développé la capacité de faire face à une charge variable de bactéries, virus et champignons. Plus de 50 gènes ont été identifiés chez la mouche soldat qui codent un large spectre de classes de PAM (attacine,

cécropine, défensine, diptericine). Selon le substrat, ces PAM sont renforcés (Müller *et al.* 2017; Vogel *et al.* 2018). Les PAM réduisent entre autres la charge en salmonelles et en *E. coli* dans le fumier de poulets et de bovins ainsi que dans les fèces humaines en présence de larves de la mouche soldat. Certains PAM agissent même contre les germes pathogènes résistants aux antibiotiques comme *S. aureus* (Park *et al.* 2015). La poursuite de l'isolement et de la caractérisation des PAM ouvre des champs de recherche totalement nouveaux et un large éventail d'applications dans la gestion des déchets, l'alimentation animale (Wang *et al.* 2016; Jozefiak et Engberg 2017) et la médecine humaine (Tonk et Vilcinskas 2017). Les insectes sont considérés comme le réservoir d'une nouvelle génération d'antibiotiques. La distribution de larves d'insectes aux animaux de rente a des effets bénéfiques sur leur santé, dont les effets ne sont pas détruits par le traitement thermique.

La chitine, composant de l'exosquelette des insectes, a des propriétés bioactives, c'est-à-dire probiotiques et antimicrobiennes (Gasco *et al.* 2018). La chitine peut être enrichie par fractionnement et transformée en chitosane par désacétylation (Caligiani *et al.* 2018). Le chitosane a lui aussi des effets antimicrobiens et anti-inflammatoires et lie les lipides très efficacement (Müller *et al.* 2017). Il est utilisé en médecine, en cosmétique et dans l'industrie textile.

2. L'utilisation de la farine de MSN pour les volailles

Les poussins nourris avec un régime contenant de la farine de soja ont des gains de poids de l'ordre de 96% tandis que ceux nourris avec des larves de MSN permettent un gain de poids de 93% (Hale, 1973). De plus, il a été constaté qu'avec une inclusion à 10% de farine de larves MSN dans un régime alimentaire pour poulets de chairs, le poids moyen, la consommation cumulative d'aliments et l'apport hebdomadaire ainsi que le gain moyen quotidien étaient

significativement plus élevés par rapport au régime alimentaire commercial contenant du soja (Pretorius, 2011). En outre, il n'y avait aucune différence significative dans l'étude d'Adeniji (2007) sur le gain de poids, le taux de conversion des aliments, la rétention des nutriments et l'apport alimentaire des poulets de chair, lorsque la moulée de soya a été remplacé par la farine de larves à différents niveaux. Il a été conclu que la farine de larves MSN peut substituer la moulée de soya dans l'alimentation des poulets de chairs.

3. L'utilisation de la farine de MSN dans l'aquaculture

Plusieurs expériences ont montré que les larves de MSN pouvaient remplacer partiellement ou totalement la farine de poisson dans l'alimentation des poissons. Cependant, des essais supplémentaires ainsi que des analyses économiques sont nécessaires car des performances réduites ont été observées, le type de substrat d'élevage et la méthode de traitement affectent l'utilisation des larves (Makkar *et al.*, 2014).

Des larves de MSN élevées sur du fumier de volaille ont servi à nourrir des poissons chat (*Ictalurus punctatus*), les résultats de cette étude ont montré que le gain de poids et la taille des poissons chat étaient similaires à ceux du régime commercial (Bondari et Sheppard,

1981). Aussi, le régime contenant de la farine de larves de MSN n'a eu aucun effet sur la prise alimentaire, la texture et l'arôme des poissons. Des résultats similaires ont été trouvés avec le tilapia bleu (*Oreochromis aureus*) (Bondari et Sheppard, 1981). Newton *et al.*, (2005a) ont révélé que l'utilisation de farine de prépuces MSN pour substituer les farines de poisson est avantageuse jusqu'à un niveau d'inclusion de 7,5%. Une étude menée par StHilaire *et al.* (2007) chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) a indiqué que l'utilisation d'une diète où la farine de prépuces de MSN ne dépassait pas

15% des protéines totales n'avait aucun effet néfaste sur la conversion alimentaire des poissons pendant une période d'alimentation de neuf semaines. Des larves de MSN, moulues et séchées, élevées sur du fumier de bovin laitier enrichi avec des abats de truite pourraient être utilisées pour remplacer jusqu'à 50% de protéines de farine de poisson dans les régimes de truites arc-en-ciel. Pendant huit semaines sans affecter de manière significative la croissance du poisson ou la qualité sensorielle des filets de truite arc-en-ciel, bien qu'une légère réduction (non significative de la croissance) ait été observée (Sealey *et al.*, 2011). Les larves de MSN ont également été étudiées par Kroeckel *et al.*, (2012) comme substitut partiel possible des farines de poissons en aquaculture. Il a rapporté que la farine de larves de

MSN peut substituer jusqu'à 33% de la farine et l'huile du poisson turbot (*Psetta maxima*) (Kroeckel *et al.*, 2012). Les résultats de ces études suggèrent que la farine de larves et prépupes de MSN peut être un aliment approprié pour l'alimentation des poissons.

Partie expérimentale

1. Objectif de travail

L'objectif de notre recherche de fin d'études était double. Tout d'abord, nous cherchions à élaborer une solution pour résoudre le problème des déchets organiques en Algérie. Ensuite, notre deuxième objectif était d'explorer l'utilisation des larves de la mouche soldat noire (BSF) dans l'alimentation animale, en particulier dans l'élevage de volailles, comme les poulets. Les larves de BSF sont naturellement riches en nutriments, notamment en protéines et en lipides, ce qui en fait une source d'alimentation alternative extrêmement prometteuse pour diverses filières d'élevage.

2. Lieu de l'expérimentation

Les analyses physicochimiques sont réalisées au laboratoire de physiologie animale appliquée de l'Université de Saad Dahlab Blida, en utilisant des œufs fécondés provenant de l'élevage de mouche soldat noire du même laboratoire.

3. Matériel

3.1 Population d'études

Les mouches soldats noires (MSN) utilisées dans cette étude ont été ramenées de GHILEZANE . L'élevage de poulets de chair a été réalisé en collaboration avec un aviculteur qui se situe a MEDEA . Cette opération d'élevage s'est étalée sur une période de 56 jours, avec l'introduction des MSN dans l'alimentation à partir du début de la phase de finition, c'est-à-dire au 42e jour. Les larves ont été incorporées à divers taux.

3.1 Kit de production de larves de BSF

3.1.1 Présentation du kit

Le kit de production de BSF est fabriqué à partir d'un fût métallique posé sur un support. La partie inférieure est destinée à accueillir la nourriture dédiée aux larves, qui constitue leur milieu de vie ainsi qu'un attracteur olfactif attirant les femelles sauvages. Une paire de pondoirs est fournie, elle peut être soit suspendue soit posée sur la nourriture pour recueillir les œufs que les femelles BSF sauvages vont déposer. Deux rampes sont installées de part et d'autre pour évaluer et exploiter la capacité d'autorécolte des larves de BSF. Il conviendra de placer un récipient sous chacune d'elle pour collecter les larves au stade de prénymphe, qui cherchent à fuir le substrat alimentaire pour un endroit propre et sec. La partie supérieure du kit possède des orifices procurant un accès libre aux femelles BSF sauvages, qui vont assurer l'approvisionnement en œufs.



Figure 16kits d'élevages des mouches soldats noires

Cette production locale directe de MSN par l'éleveur de volailles est un modèle d'économie circulaire et de développement durable.

3.1.2 mise en service du kit

La première étape pour lancer la production de larves de BSF à partir du kit correspond à l'approvisionnement en nourriture : il conviendra de tapisser le fond du kit par la source de nourriture à disposition de l'exploitant (fruits, légumes, déchets de cuisine, restes de table, fumier de poules, déchets de poisson, etc...). Puis le kit sera ensemencé par des larves de BSF, en d'autres termes, des larves de BSF de quelques jours seront placées dans la nourriture pour démarrer l'élevage et pour que la BSF s'impose vis-à-vis des autres espèces de mouches en présence. Les pondoirs pourront alors être mis en place pour permettre aux femelles BSF sauvages de venir pondre et ainsi entretenir le cycle de production de larves de la BSF. Un approvisionnement régulier en nourriture sera également nécessaire pour assurer le bon fonctionnement du kit et pour maintenir une productivité satisfaisante. La récolte des larves pourra se faire soit par autorécolte, par l'utilisation des rampes mises à disposition si le substrat n'est pas trop pâteux, soit en se servant directement dans le kit une fois la nourriture consommée par les larves.

Fiche technique fourni :

Le kit et son support

Deux rampes d'auto récolte

Une paire de pondoirs

Une balance

Mise en service des kits :

- Mettre de la nourriture dans la partie inférieure du kit
- Ensemencer la nourriture avec des larves de BSF ramenées de RELIZANE
- Installer les pondoirs sur la nourriture
- Fermer le kit et observer la colonisation par les larves de BSF dans les jours qui suivent

Nourriture à mettre :

- Fruits et légumes
- Déchets de cuisine
- Reste de table
- Déchets de poisson
- Fumier



photo personnelle

Figure 17:identification des œufs



Figure 18: Œufs de BSF observés à la loupe binoculaire le jour de la ponte

3.2 Étapes d'élevage des mouches soldat noires

Etape1

Vérifier la présence d'œufs de BSF sur les pondoirs reste installés en permanence de façon à entretenir un approvisionnement constant en œufs de BSF et ainsi à maintenir le cycle de production de larves de BSF.

Au début les récoltes vont se montrer un peu maigres : quelques amas d'œufs éparpillés.

Rapidement la quantité d'œufs de BSF va augmenter : l'odeur dégagée par les biodéchets va attirer les femelles BSF sauvages



Figure 19: : Pondoirs (photo originale)

Etape2

Les larves de mouches soldats noires ont une tendance à éviter la lumière, ce qui signifie qu'il est nécessaire de remuer leur nourriture pour les rendre visibles avant qu'elles ne se réfugient à nouveau dans le substrat. Au moment de l'éclosion, elles ont une taille de seulement quelques millimètres. Il faudra patienter encore quatre jours avant de pouvoir les observer facilement à l'œil nu.

Étape 3 : Assister à la sortie automatisée des larves Après environ 2 à 3 semaines d'élevage, les larves qui se sont bien nourries grimperont le long des parois en plastique pour quitter le bac de croissance. Ces larves se distinguent par leur teinte brunâtre et sortiront ensuite du bac pour chuter dans le récipient de collecte situé au fond du dispositif."



Figure 20: l'autorécolte des larves

Etape4 :

Observer l'évolution de la digestion des aliments fournis aux larves Les larves de mouches soldats noires ont un appétit vorace et peuvent consommer une vaste gamme de déchets organiques. Elles sont capables de métamorphoser efficacement entre 100 et 500 mg de déchets par jour. Lorsque les réserves de nourriture s'épuisent, il suffit d'ajouter davantage de déchets dans le bac de croissance."

4. Méthodes d'analyse

4.1. Mesure de la matière sèche : (AFNOR, 1994)

- on prend 5 g d'échantillon les placer dans une capsule métallique d'un poids bien déterminé.
- L'introduire dans l'étuve réglée à une température de 105 °C pendant 24 heures.
- Placer la capsule dans un dessiccateur.
- La pesée est introduite de nouveau dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

$$\% \text{ MS} = \frac{M_1 - M_0}{M_1} \times 100.$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = 100 - \% \text{ MS}.$$

$$M_2 = M_1 - M_0.$$

M0 : masse de la capsule vide (g).

M1 : masse de la capsule contenant la prise d'essais (g).

M2 : masse de la capsule après évaporation (g).

4.2. Mesure de la matière minérale : (AFNOR 1994)

On pèse l'échantillon, on le sèche puis on le pèse de nouveau si la teneur en cendres doit être déclarée sur une base sèche. On incinère l'échantillon à haute température 550 °C pendant 2 heures dans un four à moufle, puis on pèse le résidu (cendre de couleur grise, claire ou blanchâtre). Le pourcentage des cendres totales est calculé le plus souvent sur une base sèche pour plus de reproductibilité dans les résultats.

1. % M0 : matières organiques.
2. M1 : masse des capsules + prise d'essai.
3. M2 : masse des capsules + cendres.
4. P : masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (cd) est calculée comme suite :

$$Cd = 100 - \frac{M0}{M1} \times 100$$

Cd = 100 - MO% Cendres totales (%) = $M_{(cendres)} \times 100 / M_{(base sèche)} \times M_{(éch. Sec)}$.

4.3. Dosage des protéines brutes:

(Méthode de Lowry ; 1951)

4.4. Principe

Les protéines interagissent avec le réactif Folin-Ciocalteu, produisant des complexes colorés. La couleur générée résulte de la réaction du phosphomolybdate avec les acides aminés tyrosine et tryptophane. Par conséquent, l'intensité de la coloration dépend de la quantité d'acides aminés aromatiques présents et varie en fonction des protéines étudiées. Les densités optiques sont mesurées à une longueur d'onde de 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en comparant les échantillons avec un blanc qui contient tous les réactifs, à l'exception des protéines

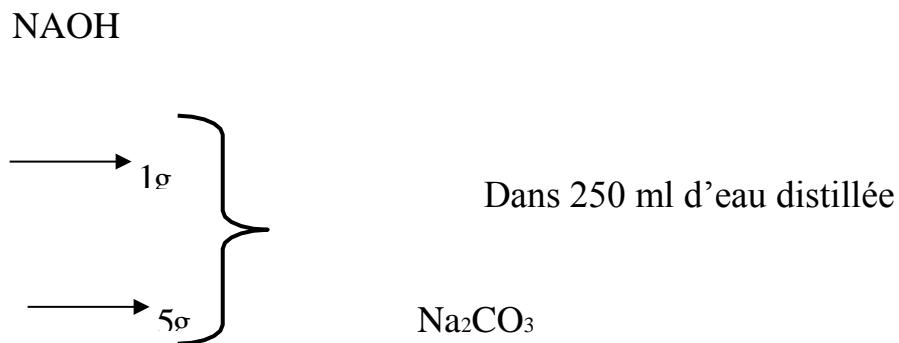
4.5. Mode opératoire

4.5.1. Gamme étalon

La gamme étalon a été faite avec la solution albumine bovine préparée à 25 mg par 100 ml d'eau distillée. On utilise la même solution que pour doser les échantillons.

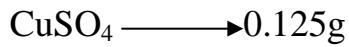
4.5.2. Réactif de Lowry

(A+B) Solution (A)

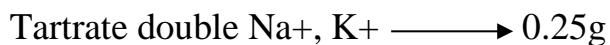


Solution A est constitué d'1g de la soude (NAOH) mélange à 5 g de carbonate de sodium (Na_2CO_3) dans 250 ml d'eau distillée.

Solution (B)



Dans 25ml d'eau distillée



Solution B est un mélange de 0.125g sulfate de cuivre (CuSO_4) et de 0.25g de tartrate double Sodium Potassium dans 25ml de l'eau distillée.

Le réactif de Lowry est composé de

Solution C (50ml de solution A + ml de solution B) à mélanger au moment de la manipulation.

4.5.2. Dosage des lipides totaux (FOLCH et al, 1957)

1.Principe

- À partir d'une masse connue d'échantillon, les lipides totaux sont extraits en utilisant un mélange de deux solvants, à savoir le chloroforme et le méthanol. Après l'addition d'une phase aqueuse, cette extraction se réalise en séparant les deux phases distinctes : • La phase inférieure contenant le chloroforme et les lipides. • La phase supérieure composée de méthanol et d'eau. Le filtrat obtenu est ensuite évaporé, et la quantité de lipides résiduels est mesurée. Voici le mode opératoire détaillé : 1. Environ 10 g de l'échantillon sont mélangés avec 60 ml du réactif de Folch (méthanol-chloroforme) et broyés pendant 3 minutes dans un mortier-pilote. Le poids exact de l'échantillon est noté avec précision.

Le mélange obtenu est ensuite filtré à travers un filtre en verre fritté. 2. Le filtrat est versé dans une ampoule à décanter. On sépare les phases en utilisant une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,73%, en ajoutant 1 volume de NaCl pour 4 volumes de filtrat. 3. Deux phases saturées se forment : une phase méthanol-eau et une phase chloroforme-lipides. En cas d'émulsion, quelques gouttes d'éthanol sont ajoutées. 4. Le mélange est agité et laissé à décantation pendant environ deux heures. Après décantation, les phases apparaissent claires et incolores, séparées par un ménisque. 5. La phase inférieure (organique : chloroforme-lipides) est filtrée à travers des sulfates de sodium, qui absorbent l'éventuelle présence d'eau qui aurait pu passer dans la phase inférieure. 6. La phase supérieure est lavée avec 50 ml d'un mélange à 20% de NaCl (0,58%) et 80% d'éthanol + chloroforme afin de récupérer le reste des lipides qui ont été entraînés lors de l'agitation. 7. La phase inférieure est filtrée à nouveau comme précédemment. 8. Le chloroforme est évaporé en utilisant un rotavapor. 9. Enfin, la quantité de lipides restants est pesée après avoir été séchée.

10. En détermination le pourcentage de lipides totaux en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ MG} = \frac{m_2 - m_1}{PE} \times 100$$

M2 : poids de ballon contenant la matière grasse.

M1 : poids de ballon vide.

PE : prise d'essai.

4.5.3. Mesure des lipides totaux par la méthode de Soxhlet

Principe de fonctionnement, Un dispositif Soxhlet se compose d'un ballon monocole, d'un condenseur et d'un extracteur. L'extracteur est équipé d'un système de tubes permettant de drainer le contenu du récipient en verre. À l'intérieur de la cartouche de cellulose, le matériau solide à partir duquel les lipides doivent être extraits est placé. Ce matériau est ensuite inséré dans le réservoir Soxhlet. Dans le ballon, quelques billes à ébullition sont ajoutées pour empêcher le solvant de s'élever dans le corps du Soxhlet. Il est important de peser le ballon avec les billes pour obtenir la masse initiale. Ensuite, le ballon est rempli avec 100 ml d'hexane. À l'aide d'un chauffe-ballon, le solvant est porté à ébullition, ce qui permet d'atteindre la température d'ébullition du solvant, soit celle de l'hexane à 68°C. Cela provoque la montée des vapeurs dans le tube de retour de distillation où elles se condensent. L'hexane retourne alors dans le réservoir contenant la cartouche de cellulose, où il solubilise les substances à extraire. Le réservoir se remplit, et lorsque le niveau du solvant atteint la hauteur du haut du siphon (repéré comme numéro 6 sur le schéma ci-dessus), le réservoir se vide automatiquement (ce processus constitue un cycle). Le solvant et les lipides sont entraînés dans le ballon. Pour obtenir une extraction adéquate, il est nécessaire de régler le chauffe-ballon de manière à réaliser 20 cycles par heure pendant 5 heures. À la fin de l'extraction, l'hexane est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Ensuite, le ballon est pesé, et la différence par rapport à la masse initiale donne la masse des lipides extraits.

Estimation du degré d'oxydation des lipides

Principe de la méthode :

L'indice TBA ou TBARS est une méthode spectrophotométrique qui dose le Malon aldéhyde (MDA), ce dernier étant le produit secondaire de l'oxydation

des acides gras polyinsaturés, l'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le Malon aldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose et/ou jaune possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 530 nm (Pegg, 1993).

Mode opératoire

Pour mesurer l'indice « TBA » nous avons utilisé la méthode adaptée par (Genot, 1996). Un échantillon de 2 gr est placé dans un tube de 25 ml contenant 16 ml d'acide trichloracétique à 5% (p/v) et éventuellement 100 µl de vitamine C. Le mélange est homogénéisé 3 fois pendant

15 secondes à l'aide d'un homogénéisateur (Ultra-Turrax) à une vitesse d'environ 20 000 tpm.

Le broyat est passé à travers un papier filtre afin d'obtenir un filtrat. Puis de ce filtrat 2 ml d'acide thiobarbiturique. Les tubes fermés vont être plongés dans au bain-marie à 70°C pendant

30 minutes et placés dans un bain d'eau froide. La dernière étape consiste à lire à l'aide d'un Spectrophotomètre.

L'absorbance du mélange réactionnel à 530 nm et les résultats sont exprimés en mg 9équivalent MDA (Malon aldéhyde) / Kg. c) Expression des résultats les résultats dégagés au cours de ces expériences sont obtenus par la formule suivante :

$$\text{Mg équivalent MDA /Kg} = (0,72/ 1,56) \times (\text{A532 cor} \times \text{V solvant} \times \text{Vf}) / \text{PE avec :}$$

A530 cor : l'absorbance.

V solvant : volume de solution de dilution TCA en ml.

PE : prise d'essai en gramme.

Vf : volume du filtrat prélevé.

0,72/1,56 : correspond à la prise en compte du coefficient d'extinction moléculaire du complexe TBA-MDA à la valeur de : $1,56 \times 105 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Buedge *et al.*, 1978) et au poids moléculaire du MDA d'une valeur de 72g. mol⁻¹.

4.5.4. Analyses statistiques des résultats

Les résultats ont subi une comparaison de moyenne suivie d'une étude statistique par le logiciel Statbox 6.04.

4.6. Analyse physico-chimique de la mouche soldat noire

Matière sèche

Les teneurs en matières sèches des larves, mouches et coquilles sont illustrées dans le tableau 09

Tableau 09 : les résultats de la matière sèche des larves, des mouches et des coquilles.

	Larve	Mouche	Coquille
Matière sèche (g)	40 ± 1^b	$90 \pm 2,25^a$	$90,2 \pm 1^a$

La valeur en matière sèche présente dans l'échantillon de larve est de 40%, cette valeur est significativement moins importante par rapport aux valeurs en matière sèche des mouches et de la coquille (93,467% et 93,2%) respectivement

Les résultats obtenus par **Mahamoudou Kone** (2020) A J10 et à J13, les larves alimentées avec le régime de référence (R à 70% HR) avaient des pourcentages de matière sèche brute (MS brute) supérieurs à celle des notre étude.

Matière minérale

Les teneurs en matières minérales des larves, mouches et coquilles sont illustrées dans le tableau 04

Tableau 4: les résultats de la matière minérale des larves, des mouches et des coquilles.

	Larve	Mouche	Coquille
Matière minérale (g)	$5,2 \pm 0,11^b$	$5,4 \pm 0,13^b$	$31 \pm 1,3^a$

La valeur en matière minérale présente dans l'échantillon de coquille est de 31%, cette valeur est significativement plus importante par rapport aux valeurs en matière minérale des larves et des mouches (5.2% et 5,4%) respectivement

Les teneurs en matières organiques des larves, mouches et coquilles sont illustrées dans le tableau 05

Tableau 5 : les résultats de la matière organique des larves, des mouches et des coquilles

	Larve	Mouche	Coquille
Matière organique (g)	$38.058 \pm 0,11^c$	$91.032 \pm 2,08^a$	$60.24 \pm 1,60^b$

Les valeurs en matières organiques présentes dans les échantillons des larves, des mouches et des coquilles sont de (38.058%, 91.032%, 62.24%) respectivement. La matière organique contenue dans les mouches est significativement plus importante par rapport a celle des coquilles et des mouches.

Les teneurs en eau des larves, mouches et coquilles sont illustrées dans le tableau 06

Tableau 6 : résultats des teneurs en eau en (larve, mouche et coquille)

	Larve	Mouche	Coquille
Eau (g)	61 ± 1^b	$5.85 \pm 0,53^c$	6.3 ± 1^c

L'humidité nous permet de rapporter les résultats des constituants biochimiques de la matière sèche, une teneur faible en eau explique une teneur élevée en matières sèches.

La teneur en eau présente dans l'échantillon de larve est de 61%, cette teneur est significativement plus importante par rapport aux teneurs en eau des larves et de la coquille (5.85% et 6.3%) respectivement.

Conclusion générale

À la conclusion de cette étude, nous avons pu tirer certaines conclusions concernant les caractéristiques biochimiques des larves sur le poulet provenant de la région de Relizene . L'analyse approfondie de la composition biochimique des larves, du poulet et de la coquille nous a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les trois groupes. Les niveaux de matière sèche et de matière minérale se sont avérés plus élevés dans la coquille par rapport au groupe expérimental (larve, mouche). Ces observations corroborent des constatations déjà rapportées par d'autres chercheurs. Toutefois, il convient de noter que la coquille se caractérise par une faible teneur en lipides, quel que soit son état. En effet, les lipides totaux sont présents en proportions relativement plus élevées dans le poulet par rapport à la coquille. En ce qui concerne les protéines, les larves présentent des niveaux plus élevés. Cependant, ces quantités augmentent notablement après ajout au poulet, ce qui est particulièrement remarquable dans le groupe expérimental. Les résultats des tests d'appétence sont prometteurs, mais ils devraient être confirmés par des répétitions dans des conditions similaires, voire par des approches expérimentales différentes. Le projet prévoyait également de réaliser les mêmes tests d'appétence au sein de l'exploitation de l'éleveur.

Annex

Abstract

The black soldier fly (BSF), *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), is an endemic fly species from the tropical, subtropical and warm temperate zones of America. This saprophagous species relies on its environment where it finds the decomposing matter for the larvae to grow. The polyphagous diet and the macronutrient quality (mainly lipids and proteins) of these larvae make them excellent candidates for various applications such as waste and organic material management, incorporation in animal feed or alternative energy source. Although rearing development in temperate regions requires artificial processes to continuously produce high quality eggs and larvae, few studies have been conducted on the mating and oviposition processes governing *H. illucens* reproduction. Research conducted in semi-artificial rearing conditions showed that the number of mating varied according to the season. It has been speculated that this behavior could be due to differences in the intensity of sunlight caused by the change of seasons. This study aims at evaluating the influence of sex-ratio, density and nycthemeral cycle on *H. illucens* reproduction. In order to tackle this issue, an artificial set up for oviposition to collect eggs has been developed. This egg collection system aims at centralize oviposition and simplify eggs collection. Two populations with opposite sex-ratio (male-dominant and female-dominant) were selected. Their respective eggs productions have been evaluated for five breeding densities. Eggs weights varied significantly among the densities for each opposite sex-ratio population and female dominant population produced most eggs weight from 6500 individuals /m³. Finally, four nycthemeral cycles (2, 6, 12 and 18h of daily light) were simulated to evaluate the impact of light duration on reproduction. Early oviposition pic associated with a decrease of the oviposition period are shown when *H. illucens* are exposed to increasing light duration.

These experiments enable improvement of the understanding on artificial reproduction of *H. illucens*.

Introduction

The black soldier fly (BSF), *Hermetia illucens* (L., 1758) is a Diptera of the Stratiomyidae family found throughout the world in tropical and warm temperate regions. This polyphagous species represents a high potential agent for waste management. Larvae are able to consume a wide range of substrates such as agricultural byproducts and animal or plant origin organic waste. This consumption is associated with a strong reduction in organic matter volumes ,opening the possibility to innovative waste treatment technology through the bioconversion by insects. In addition, the larvae represent a biomass rich in proteins and lipids that can be used as feed for livestock such as fish , poultry and pig or incorporated into biodiesel production. Nevertheless, studies are still needed on the biology of the species in order to evaluate their rearing potential and to develop rearing ,and reproduction methods .One of the key steps to mass rear this species is to ensure efficient production of eggs in quantity and quality in order to recover large volumes of organic matter, ensure consistent larval production and maintain progenitors .

The reproduction of *H. illucens* is divided in two steps (i.e. mating and oviposition) and has only been partially studied .In natural conditions, breeding occurs year-round in the tropics, while it is restricted to a few generations in warm temperate regions .Mating behavior is driven by seasonal variation and more particularly by the days' duration decrease and its related light intensity. Male territorial behavior has been observed leading to a fight when a male congener gets close while mating effort is undertaken when a female is approaching . Two days after mating, females are ready to lay eggs in an oviposition site if volatile organic compounds are released from surrounding decaying organic matter. Eggs are laid in dry interstices near a moist food resource that will be used as food for future larvae. The reproduction of *H. illucens* has been the subject of several studies consisting of biological observation in its natural environment, semi-artificial (i.e. regulated greenhouse with sunlight) and artificial breeding methods (i.e. regulated room with artificial light) were developed and optimized. The reproduction step is conditioned by environmental factors. For instance, Tomberlin and Sheppard (2002) found that mating periods were regulated by light intensity while oviposition was dependent on humidity and temperature. Oviposition was observed to be promoted by temperature above 26°C allowing the development of artificial breeding systems to produce *H. illucens* throughout the year in temperate regions. In artificial environment, rearing requires the development of breeding methods in confined environment without sunlight. Zhang et al. (2010) obtained

mating and oviposition of fertilized eggs with newly-emerged *H. illucens* under artificial quartz-iodine lighting while Nakamura et al. (2016) also showed that breeding was possible and efficient in low volume cage (0.02 m^3) under LED artificial lightening. Finally, Oonincx et al. (2016) indicated that specific wavelengths in LED lightening (LED ratio UV: B: G = 1: 1: 3) could stimulate *H. illucens* eyes and ensured reproduction and eggs fertility while Heussler et al. (2018) confirmed that LED light was the best lightening to promote flies longevity in small breeding cages compared with fluorescent and halogen lamps . These researches highlighted the importance of the breeding methods development in a regulated environment enabling a more in-depth research on environmental and biological parameters that impact and optimize its reproduction. These results could be adapted to a larger scale to develop mass rearing. This study was designed to assess the influence of sex-ratio, density, and nycthemeral cycle on the reproduction of *H. illucens* reared in an artificial environment. For this purpose, three successive and complementary experiments were conducted. At first, the evolution of the sex-ratio on colonies raised in a prepupae self-collection breeding model was determined. Subsequently, two opposite sex-ratio populations were selected and bred under different densities. Finally, four nycthemeral cycles (i.e. light duration treatment) have been simulated to evaluate its impact on reproduction.

Material and methods

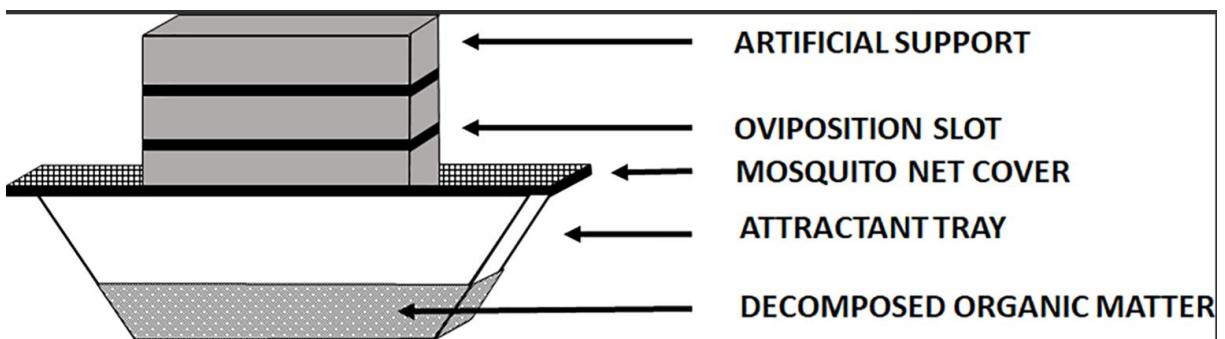
Sex-ratio determination

This experiment was carried out in a transport container ($12.04 \times 2.33 \times 2.38\text{ m}$, Jindo, Liaoning, China) converted for rearing of *H. illucens*. The temperature was maintained at $27 \pm 1^\circ\text{C}$ with a relative humidity of $60 \pm 5\%$. The *H. illucens* colonies used for these experiments are from an experimental rearing of the Functional and Evolutionary Entomology laboratory in Gembloux Agro-Bio Tech (ULiège, Belgium). Three populations of 10 000 individuals (ind.) with an initial weight of $\pm 0.01\text{g}$ were grown in polyvinyl chloride (PVC) magnification tanks ($76.50 \times 56.50 \times 30.50\text{ cm}$, Auer Packaging, Amerang, Germany) at a density of 2.35 ind./cm^2 and fed on brewing byproducts (distiller grain and hop) and carrot peels. Each tank was closed by a lid, a 45° front slope side which ends with an opening connected to a system of self-harvest PVC tube gutter. This rearing facility allows for larvae self-harvest when individuals exit from the feeding substrate during their prepupal stage. This species behavior is conditioned by the presence of moisten substrate. Some water was added daily to promote the progressive prepupae self-harvest. As they left the tanks, the prepupae were separated in batches of 50g. Five grams of prepupae were randomly collected from each batch and placed in a plastic container ($17.20 \times 11.50 \times 6.00\text{ cm}$, AVA, Temse, Belgium) covered with a mosquito net where the

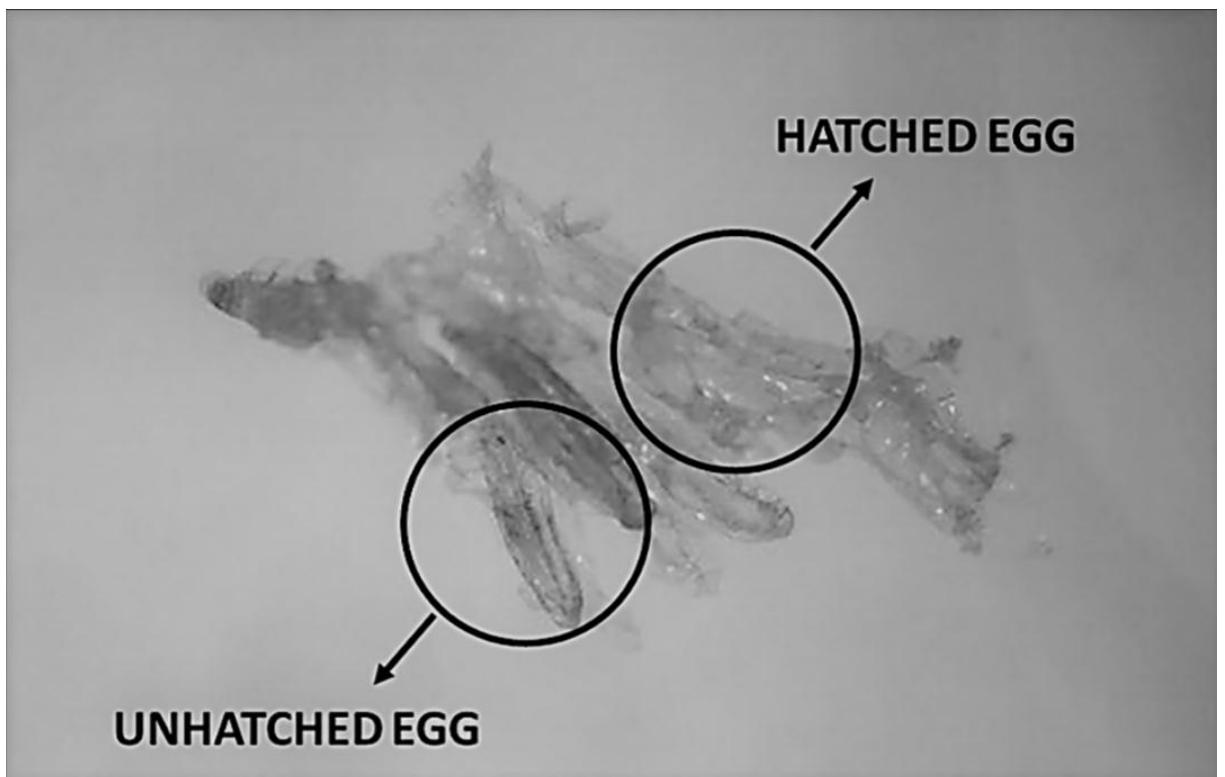
individuals were kept until emergence. After emergence, the imagoes were sexed manually based on genitalia dimorphism using a binocular (NZ.1902P, Euromex, Arnhem, Netherlands) as described by Oonincx *et al.* (2016). Twenty-four samples ($n = 24$, total = 72) per population of about 30 ind. were sexed. These results were used to determine the sex-ratio of the batches and to evaluate the evolution of this parameter in each population. After the self-harvest, the remaining prepupae in the magnification tanks were separated by substrate sieving. These sieved prepupae weights were added to the self-harvested prepupae weights to obtain the total prepupae weight produced per tank.

Density and sex

Fifteen cubic nylon-cages (45.00 x 45.00 x 45.00 cm, Bugdorm, Taichung, Taiwan) were distributed on four shelves inside a room of 5.02 m^2 . The temperature was maintained at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ with a relative humidity of $60 \pm 5\%$. Two 80 cm LED strips (380–780 nm) were used at the cage top to maintain a 12h - light: 12h - dark photoperiod with a $40\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ intensity on the cage floor (HD 2302.0, Delta Ohm, Caselle di Selvazzano (PD), Italy). Two progenitor populations with an opposite sex-ratio (i.e. number of male (M) divided by number of female (F) as M/F) were selected at the prepupal stage based on the results found in “2.1 Sex-ratio determination”: sex-ratio of 1.80 as male-dominant (M>F) and sex-ratio of 0.64 as female-dominant (F>M). Five breeding densities were compared in triplicate experiments ($n = 3$, total = 15) for each sex-ratio: 500 ind./ m^3 –2500 ind./ m^3 –4500 ind./ m^3 –6500 ind./ m^3 –8500 ind./ m^3 . A moisten sponge placed in a plastic cylinder full of water was used as a water dispenser. An artificial set up for oviposition (i.e. egg collection system) was used to collect eggs ([Fig 1](#)). It consists of three pine cambium planks (12.00 x 4.50 x 4.00 cm) held by an elastic band and spaced by screws. The system was placed on a plastic container (17.20 x 11.50 x 6.00 cm, AVA, Temse, Belgium) topped by a mosquito net to prevent egg laying in the laying attractant. This attractant was made of 250 g of 7 days old fermented carrot in a plastic container. The egg collection systems were emptied out every day by separating the cambium planks and by collecting the eggs using a cutter blade. The eggs were weighed on a precision scale (STX223, OHAUS Scout, Parsippany, USA) and summed to obtain the eggs weight per cage. This amount per cage was divided by the number of females to determine the fertility (i.e. eggs weight/female). Other reproduction parameters were recorded: the pre-oviposition period (i.e. duration between first emergence and first oviposition), oviposition period (i.e. duration between first and last oviposition) and oviposition pic (i.e. day with the highest eggs weight from first day-oviposition).



Following the egg collection, a hatching rate was calculated. As it was not possible to count all the eggs of an egg-laying without damaging them, the relationship between the weight of the entire clutch and the weight of an egg was used. Previously, the average egg weight (0.025 ± 0.003 mg) was determined using a precision scale and by counting the precise egg number of twenty very small batches ($n = 20$) using a binocular. The average egg weight obtained was similar to those reported by Booth and Sheppard (1984) (0.027 mg) and Kim *et al.* (2008) (0.024 mg). To estimate the hatching rate, three egg samples per cage were randomly collected at oviposition pic ($n = 9$ per treatment), were weighed and were kept in a plastic box (92.00 x 66.00 x 50.00 mm; AVA, Temse, Belgium) till hatching. Two days after hatching, the samples were placed under a binocular and unhatched eggs were counted. The difference between the number of eggs sampled (total weight of the egg-laying/ average weight of an egg) and the unhatched ones represents the hatching rate.



Variation of the illumination period

The third experiment evaluated the light duration influence on the reproduction. A predominantly female sex-ratio colony was selected and dispatched in 12 cubic nylon-cages (45.00 x 45.00 x 45.00 cm, Bugdorm, Taichung, Taiwan) with a 6500 ind./m³ density. Cages were isolated in dark conditions by batch of three (n = 3). Cage batches were submitted to four different daily illumination periods of 2, 6, 12 or 18 hours. The egg collection system and the reproduction parameters monitoring protocol presented previously in 2.2 were used.

Statistical analyses

All analyses were conducted with the Minitab software (version 18 for Windows, State College, PA, USA). The accepted level of significance was 5% in all analyses (i.e. reject null hypothesis). The results were presented as the mean and the standard error of the mean (\pm SE) and the graphs were performed using R Core Team (2018). Grey shade areas in the graphs indicate 95% confidence interval region computed from the means.

Sex-ratio.

For the sex-ratio determination, three independent *H. illucens* populations (A, B, C) were defined. Using linear regression model, relation between male ratio (dependent variable) and self-harvested prepupae weights (independent variable) for each population was tested. Linear regression was also validated graphically in examining non-constant variance and normal distribution of residuals.

Density and sex.

Two-way analysis of variance (ANOVA) tests followed by Tukey's Post-hoc tests were used to evaluate the influence of two factors (i.e. density and the sex-ratio) on eggs weight per cage and fertility (i.e. eggs weight per female) as the assumptions of two-way ANOVA were met. For other parameters (i.e. pre-oviposition period and oviposition period, the oviposition pic and the hatching rate), the ANOVA assumptions were not met. Consequently, Mann-Withney tests (U test) for the two sex-ratio populations (M>F and F>M) and Kruskal-Wallis tests (H test) followed by Mann-Whitney comparisons of specific samples pairs for the six density treatments were used. Two linear regression model, relation between density (independent variable) and eggs weight per cage (dependent variable) for the two sex-ratio populations (M>F and F>M) were tested. We also validated graphically linear regression in examining non-constant variance and normal distribution of residuals.

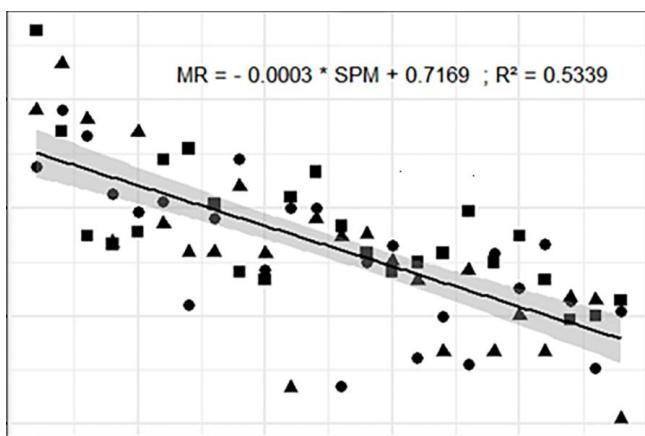
Illumination.

One-way ANOVA were used to evaluate the influence of one factor (i.e. light duration) on eggs weight per cage, fertility and oviposition period. The same post-test and ANOVA assumptions as above were tested. The parameters, which did not meet the ANOVA assumptions (i.e. pre-oviposition period, oviposition pic and hatching rate) were analyzed by a Kruskal-Wallis test (H test) followed by Mann-Whitney comparisons for the four light durations treatments. Natural logarithm fitting curve showing best determination coefficient (i.e. variance proportion explained by the model; R^2) was used to explain the relation between light duration (dependent variable) and eggs weight per cage (independent variable).

Results

Sex-ratio determination

The relationship of the male ratio to self-harvested prepupae weight of the 3 populations was described by a linear model. This linear model showed a highly significant decrease for each increment of 50 g of the 3 independent prepupae populations



The sexually balanced population (male ratio = 0.5) is reached at 700g of self-harvest prepupae or 45% of the total prepupae produced per magnification tank ($1561.9\text{g} \pm 11.1$).

Variation of light duration

For all light durations, eggs were collected from the 4th day after emergence in all cages. The oviposition periods varied significantly between the extreme light durations (2–18h) and the intermediate light durations (6–12h). The oviposition pics were significantly influenced by light duration, respectively around the 5th day and around the 3th day for low light durations (2–6h) and long

light durations (12–18h). Eggs weight per cage and fertility were significantly lower for the lowest illumination durations (2h). The light duration did not influence the hatching rate (above the 90% for all treatments).

Factors	Light duration				Statistical analyses	<i>P</i>
	2h	6h	12h	18h		
Pre-oviposition (days)	4a	4a	4a	4a	na	na
Oviposition period (days)	13.0 ± 0.6a	16.7 ± 0.7b	15.0 ± 1.0ab	13.3 ± 0.3a	F _{3,8} = 6.04	0.019
Oviposition pic (day)	5.3 ± 0.3a	5.7 ± 0.3a	3.7 ± 0.3b	3.0 ± 0.0b	H ₃ = 9.52	0.023
Eggs weight/cage (g)	4.1 ± 0.9a	6.8 ± 0.5b	7.5 ± 0.7b	7.89 ± 0.21b	F _{3,8} = 23,36	<0.001
Fertility (mg)	13.0 ± 1.5a	21.5 ± 0.9b	23.8 ± 1.2b	25.1 ± 0.4b	F _{3,8} = 23.36	<0.001
Hatching rate (%)	98.0 ± 0.4a	96.1 ± 1.5a	96.7 ± 0.1a	94.3 ± 1.6a	H ₈ = 3.95	0.278

Discussion

Reproduction is a key phase to efficient rearing development of *H. illucens*. This life cycle step is currently partially studied and a series of failures in *H. illucens* reproduction (e.g. lack of mating and/or low fertility) have been reported in low volume cages exposed to sunlight , lit with fluorescent tube [10] or rare-earth lamp. Moreover, the absence of standardized methods further limits the success of reproduction in an artificial environment. This study focused on three parameters conditioning the reproduction: (1) the evolution of sex-ratio on larger colonies, (2) the influence of the density and sex-ratio on the reproduction and finally (3) the impact of the nycthemeral cycle on the reproduction.

Sex-ratio

The *H. illucens* larvae migrate out of substrate at the last immature stage (prepupae) to pupate [4] and can be self-harvested. This species behavior was used to prepupae self-harvest in this experiment. The linear regression applied on male ratio from self-harvested prepupae samples shows a shift of proportion (from M>F to F>M) when approximately 45% of total prepupae weight is harvested. Tomberlin *et al.* (2009) have shown that the larval growth time was sexual-dependent with female harboring a longer larval development time (from 12h to 24h) compared to male. These differences in larval development time could be explained by the fact that female are heavier than males and need more time to develop. According to Tomberlin *et al.* (2009), this weight difference allows females to accumulate higher energy reserves than males, essential for egg production . This model allowed a selection of two opposite sex-ratio populations used in the second experiment on the influence of breeding cages density.

Density and sex-ratio

The increase in yield of a rearing system is often linked to an expansion in the density of adult individuals. Nevertheless, this change could generate competition between individuals and influence their activity and their reproduction capacity. Park *et al.* (2016) studied the influence of density in high volume breeding cages for *H. illucens* in a semi-artificial environment (controlled greenhouse with sunlight). They found no increase in oviposition and eggs weight for different cage sizes at fixed density. However, an increase in density produced more eggs suggesting that high densities are more productive. In this experiment, breeding densities ranged from 0.0005 flies/cm³ (45 flies per cage) to 0.0085 flies/cm³ (775 flies per cage) were tested in an artificial environment (controlled room with artificial light). This range includes effective low densities as previously tested by Oonincx *et al.* (2016) (0.0007 flies/cm³) but also higher densities as suggested by Nakamura *et al.* (2016) (0.0050 flies/cm³) as a determining factor in obtaining mating and fertilized eggs in limited volumes. For all breeding densities tested, the eggs weights per cage increased significantly in the two-opposite sex-ratio populations (M>F: $F_{4,10} = 76.34$; $P < 0.001$ and F>M: $F_{4,10} = 199.51$; $P < 0.001$). These results show that an increase in the breeding density of *H. illucens* placed in low volumes ensures and increases reproduction with an improvement of eggs production from 6500 ind./m³ for a female dominated population (F>M) ($F_{1,4} = 43.72$; $P = 0.003$). The two linear models obtained for the two-opposite sex-ratio populations (M>F, F>M) show that we did not achieve the density limiting the reproduction in small volumes of breeding cages (91 cm³). Číčková *et al.* (2012) showed that *Musca domestica* L., 1758 (Diptera: Muscidae) could be reproduce efficiently with a density of 0.036 flies/cm³ [24]. As *M. domestica* flies are approximately 2,66 times smaller than *H. illucens*, it could be imagined that a density of 0.013 *H. illucens* flies/cm³ (or 13000 flies/m³) could be efficient.

The fertility was influenced by the sex-ratio, in male-dominant population, each female laid $22.5 \text{ mg} \pm 0.8$ of eggs while in female-dominant population $16.6 \pm 1.0 \text{ mg}$ of eggs were laid ($F_{1,20} = 24.31$; $P < 0.001$). This could be explained by a lower availability of males in a female-dominant population. Females unable to mate quickly after emergence may reduce the size of their oviposition by partial resorption of their oocytes to fill their metabolic needs [10]. This hypothesis could also explain the delay in oviposition pics' occurrence between the male-dominant (8.8^{th} day ± 0.3) and female-dominant (10.3^{th} day ± 0.5) populations ($W_{14} = 176.5$; $P < 0.018$). The results on female fertility are consistent with those of Booth and Sheppard (1984) and Tomberlin *et al.* (2002) (respectively, from 29.1 mg to 15.2 mg) and the variability in fertility between experiments could be related to the quality of food during the larval phase. Finally, although fertility is higher for the male-dominant population, the total egg production is significantly higher for female-dominant population and should be favored in terms of eggs yield.

Pre-oviposition periods ranged around 4 days for all densities ($H_5 = 8.98$; $P = 0.062$). These durations are comparable to those obtained by Nakamura *et al.* (2016) and Heussler *et al.* (2018) (respectively 4 days and 2–4 days). The breeding density significantly influenced the oviposition periods from 11.0 ± 0.1 days for the lowest density to around 15.0 ± 0.5 days for the other densities ($H_5 = 15.34$; $P = 0.004$) while the sex-ratio showed no impact on this parameter ($W_{14} = 193.5$; $P = 0.105$). These durations are longer than those reported by Nakamura *et al.* (2016) showing oviposition period ranging from 7.6 ± 0.8 to 9.4 ± 0.8 days but are close to those of Oonincx *et al.* (2016) and Zhang *et al.* (2010) (respectively 10.0 ± 3.5 – 16.0 ± 5.3 days and around 19 days). Differences with Nakamura *et al.* (2016) results could be explained by the progenitors' selection method as they selected manually individuals that emerged simultaneously for their experiments while individuals emerging randomly from the colonies were used in this experiment leading to a greater heterogeneity of growth between individuals and a potential lengthening of the oviposition period. This method was selected considering the required quantities of individuals for the experiments (6150 flies per experiment) and to reflect the reality of mass breeding.

Artificial set up for oviposition to collect eggs

Reproductive research on *H. illucens* mentions the use of different artificial oviposition supports. Wood, paper towel, floral foam, polypropylene woven sacks can be mentioned but corrugated cardboard is the support generally used and most often cited. This support was preferred for the evaluation of the oviposition rate considering that each opening in corrugate cardboard (flute) filled with eggs corresponds to an oviposition. However, this support moistens quickly adding support weighing steps before and after oviposition and several females has been suspected to lay eggs in the same flute, potentially increasing the estimation of oviposition per female. Finally, during their experiments Heussler *et al.* (2018) collected more than 90% of the eggs outside the corrugated cardboard principally on the sponges but also on the cage structures.

The oviposition support used in these experiments associated with inaccessible but attractive breeding substrate allowed the centralization of the eggs within the cages and avoid their dispersion. The openings in the device have a large continuous surface allowing continuous oviposition and potentially increase the attraction of congeners' oviposition as demonstrated by Zheng *et al.* (2013). The removable nature of the egg-laying surfaces of this support simplifies egg collection and quantification for further applications (e.g. sales, mass breeding or experiments). Finally, this support can be reused since it does not degrade.

Cycle nycthemeral

The nycthemeral cycle is linked to seasonal changes and conditions the behavior of many insects. For flies, the day length has an impact on fertility whose mating depends on the light. The *H. illucens* mating behavior is mediated by sunlight that allows males to detect females and few mating occurs during a short illumination or cloudy day. The artificial light replaces the sunlight and eliminates its variations. In this experiment, the smallest eggs weight per cage ($4.1 \text{ g} \pm 0.9$) was obtained for the 2 h light duration but did not vary significantly between the three other light durations with a minimum eggs weight of $6.8 \text{ g} \pm 0.5$ ($F_{3,8} = 23.36; P < 0.001$). Nakamura *et al.* (2016) report an oviposition number per cage equivalent between 2h sunlight ($600 \sim 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and 16h LED ($47 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Tomberlin *et al.* (2002) showed that the mating number decreased positively with the light intensity. Therefore, it seems that 6 h light duration with a light intensity of $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ is a minimum for *H. illucens* reproduction in an artificial breeding system.

The oviposition periods decreased with the increase light duration from ~ 16 days (6h) to ~ 13 days (18h) except for 2h ($F_{3,8} = 6.04; P = 0.019$). This parameter was previously reported for several light durations, 19 days for 9h, 10–16 days for 12h, 8–13 days and 7.6 days for 16h of illumination. The oviposition pics appeared later for the low light durations (2 and 6h) $\sim 5^{\text{th}}$ day and $\sim 3^{\text{th}}$ day for the long light durations (12 and 18h) ($H_3 = 9.52; P = 0.023$). These oviposition pic timings are supported by several results, 6^{th} and $4\text{--}8^{\text{th}}$ days for 16h or 13^{th} day for 9h. These results show a reduction in oviposition pic occurrence and oviposition period of *H. illucens* when they are exposed to increasing light duration.

The results of these experiments improve the understanding of artificial reproduction of *H. illucens*, giving us the ability to optimize experimental rearing models offering high quality and high quantities of eggs. To conclude, a female-dominant progenitor population with, at least a density of 6500 ind./m^3 , could be recommend to maintain an efficient *H. illucens* breeding unit under a 6h - light: 18h - dark photoperiod. Further studies are still needed to identify the maximum fly density that can be used in a breeding unit (i.e. over 8500 ind./m^3 following the results of this study or over 13000 ind./m^3 following the comparison with results founds with *M. domestica*). Finally, the use of an artificial oviposition support associated with inaccessible, but attractive, breeding substrate greatly improves the egg collection and avoid their dispersion as well as it allows a more accurate establishment of larval population in future production units.

