

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 653**

51 Int. Cl.:

**A23K 1/18** (2006.01)

**A01K 67/033** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2009** **E 09742255 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2015** **EP 2265132**

54 Título: **Producción de "minilavvas" vivas de insectos y su utilización para la alimentación de peces de acuario, de alevines de peces de piscifactoría y de animales de compañía**

30 Prioridad:

**16.04.2008 FR 0802096**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**25.09.2015**

73 Titular/es:

**INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE  
DÉVELOPPEMENT (IRD) (50.0%)  
44, Bd de Dunkerque CS 90009  
13572 Marseille Cédex 02, FR y  
AGENCY FOR MARINE AND FISHERIE  
RESEARCH AND DEVELOPMENT, THE MINISTRY  
OF MARINE AFFAIRS AND FISHERIES, THE  
REPUBLIC OF INDONESIA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**HEM, SAURIN y  
FAHMI, MELTA RINI**

74 Agente/Representante:

**RUO, Alessandro**

**ES 2 546 653 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Producción de “minilavras” vivas de insectos y su utilización para la alimentación de peces de acuario, de alevines de peces de piscifactoría y de animales de compañía

5 [0001] La presente invención se refiere a la producción de «minilavras» vivas de insectos y su utilización para la alimentación de peces de acuario, de alevines de peces de piscifactoría así como cebos o alimento para animales de compañía o de laboratorio como pequeños roedores (ratones, ratas...), lagartos y aves.

10 [0002] Durante los últimos decenios, la acuariofilia ha experimentado un desarrollo muy rápido y existe un entusiasmo considerable del gran público por acuarios que, sin cesar, se enriquecen con diversas especies animales mantenidas en ecosistemas artificiales cada vez más complejos y cercanos a las condiciones del medio natural en el que se encontraban estas especies animales.

15 [0003] Actualmente se ha vuelto raro que una gran ciudad no esté dotada de su acuario público que constituye obviamente un lugar pedagógico privilegiado de descubrimiento, accesible a todos y, muy a menudo puesto al servicio de los científicos que pueden, de este modo, estudiar en él fácilmente unas u otras especies animales acuáticas. Desde este punto de vista, teniendo en cuenta el contexto actual en el que las preocupaciones de orden medioambiental se vuelven cada día un poco más marcadas, estos acuarios constituyen herramientas extremadamente importantes para ayudar a la comprensión, a la defensa y a la conservación de los medios marino y acuático.

20 [0004] Por otro lado, la rarefacción de ciertas especies de peces marinos o de agua dulce que, durante decenios, han sido objeto de pescas intensivas, plantea importantes cuestiones ecológicas y económicas que conducen actualmente al desarrollo de granjas y piscifactorías acuícolas cada vez más numerosas y sofisticadas.

25 [0005] El desarrollo simultáneo de los mercados de la acuariofilia y de piscicultura genera necesidades crecientes de alimentos para peces que deben, por supuesto, diversificarse y adaptarse a esta demanda. Actualmente, estos alimentos se presentan, en lo esencial, en forma de harinas, de gránulos o de escamas que se conservan en envases estériles y que están, en principio, formulados para poder responder a las necesidades nutricionales de los peces mantenidos en cautividad.

30 [0006] Parece, no obstante, que estos alimentos presentan cierto número de inconvenientes. En particular, se ha observado que ciertas especies de peces rechazan simplemente consumirlos o no consiguen absorberlos debido a que la granulometría de las partículas de alimento es demasiado grande, acumulándose estos alimentos en los estanques donde contribuyen en gran medida a la degradación de la calidad de las aguas. Más allá de su impacto negativo sobre el crecimiento y el desarrollo de los peces y alevines, esta situación genera un exceso de trabajo de cuidado y de mantenimiento de los acuarios y de los estanques de cría que, aparte de las exigencias que generan, son la causa de sobrecostes no despreciables. Además, puesto que el aprovisionamiento de este tipo de alimentos ya no consigue satisfacer la demanda creciente, se ha podido constatar un fuerte aumento de su precio.

35 [0007] Progresivamente, el mercado de los alimentos constituidos por presas vivas, tales como las larvas de quironómidos o «gusanos del cieno» (dípteros), los micro-gusanos (nematodos) las lombrices, etc..., percibidas como más naturales y mucho más atractivas para los peces, se desarrolla. Sin embargo, el inconveniente asociado a la utilización de este tipo de alimentación se basa en el riesgo de diseminación en los acuarios y en los estanques de cría de gérmenes patógenos de los cuales es portador.

40 [0008] Los animales de compañía, como pequeños roedores, lagartos y aves también necesitan una alimentación libre de gérmenes patógenos y que son fáciles de ingerir. Las larvas de insectos son ampliamente utilizadas, concretamente las de *Hermetia illucens*.

45 [0009] Otras utilidades de larvas de insectos se han descrito en la técnica anterior. El documento DE10328102 A1 divulga un procedimiento de producción de larvas y de pupas para promover la cicatrización. En el documento FR 2 868 911, las larvas de insectos se utilizan para la degradación de materias ricas en proteínas y/o en lípidos, con aplicación a la biodegradación de tortas de orujo de palmito y a la reconversión en biomasa de gusanos blancos.

50 [0010] De manera inesperada, el inventor ha observado que era posible obtener larvas de pequeño tamaño (es decir «minilavras») que disponen de una morfología completamente idéntica a la de las larvas de tamaño normal y con rendimientos ponderales idénticos en términos de biomasa.

55 [0011] La presente invención tiene como objetivo proporcionar un procedimiento de producción de minilavras de insectos vivas que constituyen un alimento atractivo para los peces y alevines, concretamente los más pequeños de ellos así como para los animales de compañía. Estas presas vivas consideradas sanas y desprovistas de cualquier germen patógeno serán consumidas de manera óptima por los peces, los animales de laboratorio o los animales de compañía y, por consiguiente, evitarán el despilfarro, la contaminación de las aguas y las pérdidas económicas que conllevan.

**[0012]** La expresión «minilavras» designa larvas vivas de insectos cuyo diámetro corporal no supera los 4 mm, incluso 3 mm y la longitud no supera los 10 mm

5 **[0013]** La expresión «los más pequeños de ellos» hace referencia a peces y alevines cuyo diámetro de la boca no supera los 4 mm.

**[0014]** La expresión «presas vivas» designa los organismos vivos destinados a la alimentación de los peces y que deben:

- 10
- crear una buena apetencia de los peces
  - constar de las cualidades nutritivas requeridas,
  - estar fácilmente disponibles y listos para responder a las demandas del mercado,
  - ser producidos en masa de acuerdo con técnicas susceptibles de ser industrializadas y económicamente viables,
  - estar dotados de características fisiológicas que les hacen capaces de sobrevivir en sus condiciones de
- 15
- conservación sin que esto conlleve pérdida de su calidad nutritiva,
  - ser conservados de forma sencilla (por ejemplo temperatura ambiente o frigorífico),
  - no desprender un olor desagradable,
  - ser limpios y no ser portadores de gérmenes patógenos.

20 **[0015]** La presente invención se refiere, por lo tanto, a la utilización de un medio de cultivo que comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, un agente de fermentación añadido para la incubación de huevos de insectos de cara a la obtención de larvas conservadas vivas, cuyo diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de aproximadamente 2 mm y cuya longitud corporal máxima de 4 a 12, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm, se mantienen prácticamente constantes durante al menos 4 semanas, concretamente 6 semanas.

25

**[0016]** En una realización ventajosa de la invención, los cereales y/o las tortas de orujo del medio de cultivo son sometidos a una fermentación, en la oscuridad o al aire libre, durante 1 semana, a una temperatura de 27 a 40 °C, concretamente de 27 a 32 °C.

30 **[0017]** En otra realización ventajosa de la invención, la proporción ponderal agua/cereales o agua/tortas de orujo es de 1 a 3, concretamente de 1 a 2,2 y es, preferentemente, igual a 2.

35 **[0018]** En otra realización ventajosa de la invención, la proporción agua/cereales + tortas de orujo es de 1 a 3, preferentemente igual a 2.

**[0019]** De acuerdo con la invención, el agente de fermentación añadido está presente a razón del 0 al 2% en peso con respecto al peso seco de cereales y/o de tortas de orujo.

40 **[0020]** En una realización particularmente ventajosa, el medio de cultivo utilizado de acuerdo con la invención comprende tortas de orujo y está totalmente desprovisto de cualquier agente de fermentación añadido.

45 **[0021]** De acuerdo con la invención, el agente de fermentación se selecciona entre bacterias, hongos microscópicos, concretamente, levaduras; los cereales del medio de cultivo se seleccionan entre trigo, escanda, maíz, cebada, cebada de invierno, arroz, mijo, centeno, sorgo y avena. Utilizándose particularmente la avena y las tortas de orujo del medio de cultivo se seleccionan entre las tortas de orujo de soja, de cacahuete, de colza, de girasol, de lino, de pepita de uva, de oliva, de copra y de palmito, utilizándose particularmente la torta de orujo de palmito.

50 **[0022]** La invención también se refiere a una composición que comprende:

- un medio de cultivo, el cual comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, un agente de fermentación y,
- huevos y/o larvas de insectos incubadas en dicho medio de cultivo.

55 **[0023]** En una realización ventajosa de la invención, la composición comprende huevos de insectos incubados a razón de 0,5 a 1,5 g/kg de medio de cultivo, concretamente 1 g/kg de medio de cultivo.

60 **[0024]** Ventajosamente, las larvas de insectos contenidas en la composición de acuerdo con la invención tienen un diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de 2 mm y una longitud corporal máxima concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm.

65 **[0025]** En una realización aún más ventajosa, la composición comprende un medio de cultivo, el cual comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, un agente de fermentación, huevos incubados en dicho medio de cultivo a razón de 0,5 a 1,5 g/kg de medio de cultivo, concretamente 1 g/kg de medio

de cultivo, habiéndose sometido los cereales y/o las tortas de orujo a una fermentación, en la oscuridad o al aire libre, durante 1 semana y a una temperatura de 27 a 40°C, concretamente de 27 a 32°C, comprendiendo también dicha composición larvas de insectos incubadas en dicho medio de cultivo que tienen un diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de 2 mm y una longitud corporal máxima de 4 a 12 mm, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm.

**[0026]** En una realización ventajosa de la invención, la composición comprende huevos de *Hermetia illucens*. En efecto, se ha constatado que las minilarvas de *Hermetia illucens* obtenidas mediante el procedimiento de acuerdo con la invención satisfacen el conjunto de los criterios mencionados anteriormente.

**[0027]** En el caso en el que se utiliza la torta de orujo de palmito como medio de cultivo para *Hermetia illucens*, la proporción entre la masa de huevos de insectos y la cantidad de medio de cultivo es igual a 500, ventajosamente 1000, ventajosamente 1500 aún más ventajosamente 2000.

**[0028]** La invención también se refiere a un procedimiento de obtención de larvas de insectos conservadas vivas, cuyo diámetro máximo de 1 a 4 mm, concretamente de aproximadamente 2 mm y cuya longitud corporal máxima de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm se mantienen prácticamente constantes durante al menos 4 semanas, concretamente 6 semanas, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

- 1) incubación de huevos de insectos en un medio de cultivo que comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, de un agente de fermentación, realizándose dicha incubación hasta la eclosión de los huevos y la obtención de las larvas, para obtener una composición de acuerdo con la invención,
- 2) deshidratación de la composición mencionada anteriormente hasta obtener un contenido de agua inferior al 15% (peso/peso), ventajosamente del 10% (peso/peso),
- 3) recogida, a partir de la composición mencionada anteriormente, de las larvas de insectos vivas, de diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de aproximadamente 2 mm y de longitud corporal máxima de 4 a 12 mm, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm y
- 4) transferencia de las larvas vivas recogidas mencionadas anteriormente en un entorno desprovisto de alimento donde se mantienen vivas, en la oscuridad, durante al menos 4 semanas, concretamente 6 semanas, a una tasa de higrometría del 60 al 80% y a una temperatura de 12 a 18°C, concretamente 15°C.

**[0029]** De acuerdo con una realización ventajosa de la presente invención, la producción de masa de las minilarvas, como presas vivas, se efectúa, a partir de huevos fecundados, en un espacio cerrado y controlado en el que los insectos son criados y protegidos. Este método permite obtener perfectamente y de manera homogénea el crecimiento y el desarrollo de las larvas y es por lo tanto, el mejor adaptado a la producción de masa de las minilarvas. Las poblaciones de insectos seleccionadas son confinadas en una jaula que los aísla totalmente del exterior y que los protege de las predaciones por otros insectos o por animales tales como roedores, reptiles, batracios o aves. Solamente los insectos de la especie seleccionada para su cría y la producción de las minilarvas pueden reproducirse dentro de esta jaula que está dispuesta de tal manera que reproduzca en la medida de lo posible el hábitat natural de los insectos que son mantenidos en ella.

**[0030]** En una realización ventajosa de la presente invención, la cría se refiere a insectos del grupo de los holometábolos en particular, *Hermetia illucens*. Este insecto es criado en el interior de una jaula en una atmósfera cuyo grado de hidrometría y la temperatura se mantienen respectivamente a del 70 al 80% y de 27 y 30°C. De manera ventajosa, plantas del tipo *Sphagneticola sp* pueblan la jaula y favorecen el desarrollo de los insectos *Hermetia illucens*.

**[0031]** Las pupas de insectos se colocan en el interior de la jaula en bandejas de exuviación de plástico (aproximadamente de 5000 a 10000 pupas por bandeja de plástico). Después de 2 a 5 semanas y después de la exuviación (*es decir* muda imaginal de la que se obtiene el imago), aparecen los primeros insectos adultos y, después de 1 a 2 horas de inmovilidad, echan a volar en la jaula para alimentarse y reproducirse en ella.

**[0032]** De acuerdo con un aspecto particularmente ventajoso de la presente invención, las pupas seleccionadas son pupas de *Hermetia illucens* que, después de la exuviación, se alimentan de miel diluida en agua. Una semana después de la exuviación machos y hembras pueden acoplarse. Una semana después del acoplamiento, la hembra de *Hermetia illucens* pone entre 400 y 1200 huevos.

**[0033]** Los huevos de insectos son puestos preferentemente en anfractuosidades artificiales creadas especialmente a tal efecto en las proximidades inmediatas de un medio de cultivo.

**[0034]** La expresión «anfractuosidades artificiales» designa, de acuerdo con un aspecto preferido de la presente invención, los pliegues y frunces generados en el contorno de la abertura de una bolsa de plástico, tipo «bolsa de basura sin fondo», provista de ataduras de cierre integradas, cuando se tira de dichas ataduras para cerrar parcialmente dicha bolsa cuando ésta se ha colocado en las proximidades del medio de cultivo.

[0035] De acuerdo con un aspecto ventajoso de la presente invención, la puesta preferente a nivel de las anfractuosidades artificiales mencionadas anteriormente permite una recogida rápida y fácil de cantidades importantes de huevos de insectos. Basta en efecto con recuperar las bolsas de plástico mencionadas anteriormente, desfrunciendo los pliegues y abriendo los frunces y liberar las cantidades importantes de huevos que contenían y que pueden recogerse entonces fácilmente.

[0036] La expresión «importantes cantidades de huevos» designa recogidas que, cada 3 días y para el conjunto de la jaula, pueden alcanzar de 15 a 20 g de biomasa de huevos, sabiendo que 1 g de dicha biomasa contiene aproximadamente de 38000 a 40000 huevos de insectos.

[0037] En una realización ventajosa del procedimiento de la invención, la etapa de incubación y de eclosión de los huevos de insectos en el medio de cultivo se efectúa durante de 1 a 3 días, concretamente 2 días, a una temperatura de 24 a 35°C, concretamente de 27 a 32°C, idealmente de 29°C.

[0038] En condiciones naturales de fertilización, los huevos de insectos, puestos sobre un medio de cultivo que comprende una mezcla de tortas de orujo de palmito seco y agua (1/2; peso/peso), que se sabe que atrae a las hembras, producen el nacimiento de larvas, 21 días más tarde.

[0039] De manera notable, el inventor ha podido demostrar que estas minilarvas resultan de un fenómeno de diapausa provocada por: (1) la deshidratación del medio de cultivo en el que se desarrollan y, (2) una carencia de alimento provocada por una superpoblación de las larvas. El tamaño de las larvas es controlado fácilmente mediante la proporción entre la masa de huevos de insectos y la cantidad de medio disponible.

[0040] La expresión «diapausa» describe una forma de vida ralentizada y una reacción de supervivencia de las larvas enfrentadas a condiciones medioambientales hostiles. Esta diapausa permite detener el crecimiento y mantener a las larvas en su metabolismo basal esperando la comercialización.

[0041] La expresión «deshidratación» significa que el medio de cultivo está progresivamente empobrecido en agua hasta comprender, como máximo, el 15% de agua (peso/peso), idealmente el 10% de agua (peso/peso).

[0042] En una realización ventajosa de la invención, las larvas vivas se mantienen, antes de la etapa de deshidratación a una temperatura de 24 a 35°C, concretamente de 27 a 32°C, ventajosamente de 29°C, durante de 3 a 6 días después de la eclosión de los huevos de insectos, concretamente 4 días.

[0043] La invención también se refiere a la utilización de las larvas de insectos obtenidas de acuerdo con el procedimiento de la invención para la preparación de alimentos para peces de acuario o animales de compañía tales como pequeños roedores, lagartos y aves. Las larvas de insectos obtenidas de acuerdo con el procedimiento de la invención son particularmente útiles para la preparación de alimentos para alevines y peces que disponen de un orificio bucal de un diámetro comprendido entre 1,2 y 4 mm, concretamente de 2 a 3 mm.

[0044] Las «minilarvas» de insectos, obtenidas mediante el procedimiento de la presente invención presentan excelentes cualidades nutricionales y son muy atractivas. Las minilarvas son larvas cuyos tamaños son homogéneos y que pueden agruparse siguiendo cuatro calibraciones del diámetro de su cuerpo (1,5 mm; 2,0 mm; 3,0 mm y 4,0 mm). La producción de las minilarvas de acuerdo con estas 4 calibraciones está garantizada por ajuste de las proporciones entre la cantidad de huevos cultivada (masa en miligramos) y la cantidad de las tortas de orujo fermentada puesta a disposición.

[0045] Los peces y alevines alimentados con las minilarvas de la presente invención presentan un crecimiento ponderal netamente más rápido que cuando son alimentados con otros tipos de presas vivas disponibles en el mercado.

[0046] La presente invención se entenderá mejor con ayuda de los ejemplos 1 a 7 a continuación que describen los procedimientos de producción y la utilización de minilarvas de insecto vivas para la alimentación de peces de acuario y de alevines de los peces de piscifactoría.

**Ejemplo 1 - Preparación de un medio de cultivo a base de tortas de orujo de palmito para la incubación de huevos y larvas de *Hermetia illucens***

[0047] Para atraer a las hembras de *Hermetia illucens* a un lugar de puesta preferente y para incubar los huevos obtenidos así como las larvas de *Hermetia illucens*, se preparó cuidadosamente un medio de cultivo de la siguiente manera:

- con ayuda de un molinillo de café, se tritura 1 kg de tortas de orujo de palmito hasta obtener un polvo muy fino,
- este polvo de tortas de orujo de palmito se mezcla con 2 kg (es decir 2 litros) de agua hasta obtener una especie de puré perfectamente homogéneo de tortas de orujo de palmito,
- se deja fermentar al conjunto, en la oscuridad o al aire libre, a una temperatura de 25 a 30°C, durante una

semana.

[0048] Al final, la especie de puré perfectamente homogéneo de tortas de orujo de palmito fermentado de este modo está listo para ser utilizado como medio de cultivo de los huevos y de las larvas de *Hermetia illucens*.

**Ejemplos 2 - Medio de cultivo a base de avena para la incubación de los huevos y larvas de *Hermetia illucens***

[0049] Para atraer a las hembras de *Hermetia illucens* a un lugar de puesta preferente y para incubar los huevos obtenidos, así como las larvas de *Hermetia illucens*, se preparó cuidadosamente un medio de cultivo de la siguiente manera:

- con ayuda de un molinillo de café, se tritura 1 kg de avena hasta obtener un polvo muy fino,
- este polvo de avena se mezcla con 2 kg (es decir 2 litros) de agua hasta obtener una especie de puré perfectamente homogéneo de avena,
- se añade el uno por ciento (peso/peso con respecto al peso seco de avena) de levadura a esta especie de puré perfectamente homogéneo de avena y el conjunto se mezcla con cuidado,
- se deja fermentar al conjunto, en la oscuridad o al aire libre, a una temperatura de 25 a 30°C, durante una semana.

[0050] Al final, la especie de puré perfectamente homogéneo de avena fermentado de este modo está listo para ser utilizado como medio de cultivo de los huevos y de las larvas de *Hermetia illucens*.

**Ejemplo 3 - Producción de huevos de *Hermetia illucens***

[0051] En una jaula adaptada donde han nacido 1 kg de biomasa de pupas que habían sido depositadas allí en bandejas de plástico adaptadas, machos y hembras de *Hermetia illucens* pueden acoplarse libremente y las puestas tienen lugar de una a tres semanas más tarde.

[0052] Cada día, bolsas de plástico, de tipo «bolsas de basura sin fondo», provistas de ataduras de cierre integradas y llenas de medio de cultivo de acuerdo con los Ejemplos 1 o 2 se cierran parcialmente mediante tracción sobre las ataduras de cierre para crear, en el contorno de la abertura de dichas bolsas de plástico, pliegues y frunces que forman entre sí anfractuosidades en las que las hembras de *Hermetia illucens*, atraídas por el medio de cultivo, vienen a poner preferentemente.

[0053] Cada 3 días, de 15 a 20 g de huevos de *Hermetia illucens* son recogidos de este modo cuidadosamente mediante apertura con precaución de las bolsas de plástico mencionadas anteriormente.

[0054] Para evitar cualquier error de pesaje, los huevos deben recogerse de forma muy limpia, sin restos, y sin estar acompañados por agua o humedad excesiva.

**Ejemplo 4 - Producción de minilarvas de *Hermetia illucens* que tienen un diámetro corporal de aproximadamente 1,5 a 2 mm y una longitud de aproximadamente 6 mm**

[0055] Para obtener minilarvas que tienen un diámetro corporal de aproximadamente 1,5 a 2 mm y una longitud de aproximadamente 6 mm, 1 g de huevos de *Hermetia illucens* obtenidos un mismo día de acuerdo con el ejemplo 3 se incuban con 500 g de medio de cultivo, tal como se preparó en los ejemplos 1 o 2, esparcidos sobre de 3 a 5 cm de grosor en el fondo de bandejas de cultivo de fibra de vidrio. Tres días más tarde, se observan las eclosiones.

[0056] Cinco días después de la eclosión de los huevos y la aparición de las larvas, se procede a una ventilación del medio de cultivo que permite su deshidratación progresiva hasta alcanzar, 2 días más tarde, un contenido de agua del orden del 10% (peso/peso). En dichas condiciones de deshidratación, 10 días después de la fertilización de los huevos sobre el medio de cultivo, el crecimiento de las larvas se detiene en el estadio de madurez deseado.

[0057] Las minilarvas obtenidas de este modo son limpiadas cuidadosamente (sin agua) gracias a un pincel y colocadas en diapausa (es decir forma de vida ralentizada que permite una adaptación del organismo a condiciones medioambientales hostiles), en la oscuridad, en un local termorregulado a una temperatura de 15°C y a una tasa de higrometría del 70%.

[0058] En dichas condiciones, las minilarvas pueden mantenerse vivas durante de 4 a 6 semanas y utilizarse como presas vivas para la alimentación de peces de acuario y de alevines de peces de piscifactoría.

[0059] Según las necesidades, el estado de diapausa puede ser interrumpido y las minilarvas pueden volver a colocarse en medio de cultivo donde su crecimiento y su desarrollo podrán proseguir a continuación hasta que alcancen un tamaño superior, a partir del cual podrán colocarse de nuevo en diapausa, incluso su tamaño normal.

**Ejemplo 5 - Producción de minilarvas de *Hermetia illucens* que tienen un diámetro corporal de aproximadamente 3 a 4 mm y una longitud de aproximadamente 6,2 mm**

- 5 [0060] Para obtener minilarvas que tienen un diámetro corporal de aproximadamente 2,5 a 3 mm y una longitud de aproximadamente 10 mm, 2 g de huevos de *Hermetia illucens* obtenidos un mismo día de acuerdo con el ejemplo 3 se incuban con 2 kg de medio de cultivo, tal como se preparó en los ejemplos 1 o 2 y, esparcidos sobre de 3 a 5 cm de grosor en el fondo de bandejas de cultivo de fibra de vidrio. Tres días más tarde, se observan las primeras eclosiones.
- 10 [0061] Diez días después de la eclosión de los huevos y la aparición de las larvas, se procede a una ventilación del medio de cultivo que permite su deshidratación progresiva hasta alcanzar, 2 días más tarde, un contenido de agua del orden del 10% (peso/peso). En dichas condiciones de deshidratación, 10 días después de la fertilización de los huevos sobre el medio de cultivo, el crecimiento de las larvas se detiene en el estadio de madurez deseado.
- 15 [0062] Las minilarvas obtenidas de este modo son limpiadas cuidadosamente (sin agua) gracias a un pincel y colocadas en diapausa (*es decir* forma de vida ralentizada que permite una adaptación del organismo a condiciones medioambientales hostiles), en la oscuridad, en un local termorregulado a una temperatura de 15°C y a una tasa de higrometría del 70%.
- 20 [0063] En dichas condiciones, las minilarvas pueden mantenerse vivas durante 4 a 6 semanas y utilizarse como presas vivas para la alimentación de peces y de alevines.
- [0064] Según las necesidades, el estado de diapausa puede ser interrumpido y las minilarvas pueden volver a colocarse en medio de cultivo donde su crecimiento y su desarrollo podrán proseguir a continuación hasta que alcancen un tamaño superior, a partir del cual podrán colocarse de nuevo en diapausa, incluso su tamaño normal.
- 25

**Ejemplo 6 - Efectos de la disponibilidad del medio de cultivo sobre la detención del crecimiento de las minilarvas del insecto *Hermetia illucens***

- 30 [0065] Las condiciones de cría son las del ejemplo 1 pero se hace variar la proporción entre la masa de huevos y el medio de cultivo de 500 (1 g de huevos para 500 g de medio de cultivo) a 2000 (1 g de huevos para 2 kg de medio de cultivo).
- [0066] Los resultados sobre la longitud media, el diámetro medio corporal y el peso medio corporal se dan en las tablas 1A a 1C a continuación.
- 35

**Tabla 1**

<b>A</b>				
Duración de cultivo (día)	Longitud media corporal (mm)			
	Proporción masa de huevos/medio de cultivo			
	500X	1000X	1500X	2000X
D7	5,58	5,99	7,52	10,19
D14	6,19	8,91	12,10	16,28
D21	5,92	9,23	13,08	18,05
<b>B</b>				
Duración de cultivo (día)	Diámetro medio corporal (mm)			
	Proporción masa de huevos/medio de cultivo			
	500X	1000X	1500X	2000X
D7	1,5	1,59	2,08	3,29
D14	1,59	2,24	3,02	4,31
D21	1,87	2,38	3,26	4,54
<b>C</b>				
Duración de cultivo (día)	Peso medio individual (mg)			
	Proporción masa de huevos/medio de cultivo			
	500X	1000X	1500X	2000X
D7	8,99	10,23	24,63	44,33
D14	9,61	21,73	51,72	117,28
D21	7,44	20,89	58,84	128,80

**Ejemplo 7 - Valor nutritivo e interés de las minilavras de *Hermetia illucens* con respecto a las otras presas vivas que pueden constituir la alimentación de los peces**

5 [0067] Se realizaron ensayos para demostrar la calidad nutricional y las ventajas de las minilavras frente a otras presas vivas que pueden proporcionar la alimentación de los peces, concretamente los peces de acuario y los alevines de peces de piscifactorías que disponen de un orificio bucal de un diámetro comprendido entre 1,2 y 3 mm, concretamente de 1,8 a 2 mm.

10 [0068] *Chromobotia macracanthus* (Familia de los Cobítidos), llamada también «*Botia*», es un pez ornamental muy demandado en el mundo de la acuariofilia. Actualmente, el aprovisionamiento de esta especie en el mercado de la acuariofilia proviene exclusivamente de capturas realizadas en medio natural (Sumatra - Kalimantan).

15 [0069] Al estar esta especie actualmente en vías de extinción, recientemente se ha desarrollado una técnica de reproducción de *Botia* en cautividad. Sin embargo, sigue habiendo dificultades en la medida en que la alimentación de jóvenes *Botia* es considerada muy difícil con alimentos inertes de tipo, harinas, granulados o escamas. Estos peces y sus alevines se alimentan preferentemente de presas vivas. Para los estadios muy jóvenes (menos de un mes), el destete se realiza con los *nautplii* de *Artemia*. Para los estadios más avanzados, entre 1 y 3 meses, se utilizan lombrices cortadas o gusanos del cieno («*blood worms*»). Estos últimos son larvas del insecto *Chironome* recogidas, en el cieno, en el fondo de charcas o de marismas.

20 [0070] La utilización de estas presas vivas plantea, sin embargo, un problema de higiene y de salubridad en la medida en que son muy a menudo portadoras de gérmenes patógenos susceptibles de infectar a los peces y alevines. Es necesario, por lo tanto, buscar otros tipos de presas vivas que no presentarán este inconveniente y que tendrán, al menos, las mismas cualidades nutricionales que las lombrices o los gusanos del cieno.

25 [0071] Durante un periodo de 70 días, minilavras producidas de acuerdo con el Ejemplo 4 y que tenían un diámetro corporal de aproximadamente 1,5 mm y una longitud de aproximadamente 6 mm, de lombrices cortadas o de gusanos del cieno se ofrecieron, en condiciones completamente idénticas, a jóvenes alevines de *Botia* de 2 meses que pesaban aproximadamente 0,23 g.

30 [0072] Durante este periodo de 70 días, se observó que el crecimiento y el desarrollo de los alevines alimentados con las minilavras de *Hermetia illucens* era 1,2 veces más rápido que el de los alimentados con los gusanos del cieno y 2 veces más rápido que el de los alimentados con lombrices cortadas.

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.** Procedimiento de obtención de larvas de insectos conservadas vivas, cuyo diámetro máximo, de 1 a 4 mm, concretamente de aproximadamente 2 mm y cuya longitud corporal máxima de 4 a 12 mm, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm, se mantienen prácticamente constantes durante al menos 4 semanas, concretamente 6 semanas, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:
- 10 1) incubación de huevos de insectos en un medio de cultivo que comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, de un agente de fermentación, realizándose dicha incubación hasta la eclosión de los huevos y la obtención de las larvas, para obtener una composición que comprende un medio de cultivo, el cual comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, un agente de fermentación y huevos y/o larvas de insectos incubadas en dicho medio de cultivo.
- 15 2) deshidratación de la composición mencionada anteriormente hasta obtener un contenido de agua inferior al 15% (peso/peso), idealmente del 10% (peso/peso),
- 3) recogida, a partir de la composición mencionada anteriormente, de larvas de insectos vivas, de diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de aproximadamente 2 mm y de longitud corporal máxima de 4 a 12 mm, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm, y,
- 20 4) transferencia de las larvas vivas mencionadas anteriormente recogidas en un entorno desprovisto de alimento en el que se mantienen vivas, en la oscuridad, durante al menos 4 semanas, concretamente 6 semanas, a una tasa de higrometría del 60 al 80% y a una temperatura de 12 a 18 °C, concretamente 15 °C.
- 25 **2.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** los huevos de insectos se obtienen a partir de poblaciones de insectos confinadas en una jaula que las aísla totalmente del exterior y que las protege de las predaciones por otros insectos o por animales, estando dicha jaula dispuesta de tal manera que reproduzca el hábitat natural de los insectos que se mantienen en ella.
- 30 **3.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado por que** los insectos pertenecen al grupo de los holometábolos en particular, *Hermetia illucens*, criado en el interior de una jaula en una atmósfera cuyos grado de higrometría y temperatura se mantienen respectivamente del 70 al 80% y de 27 a 30 °C, ventajosamente en presencia de plantas del tipo *Sphagneticola sp.*
- 35 **4.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** las pupas de insectos se colocan en el interior de la jaula en bandejas de exuviación de plástico a razón de aproximadamente 5000 a 10000 pupas por bandeja de plástico.
- 40 **5.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** los huevos de insectos son puestos en anfractuosidades artificiales especialmente creadas a tal efecto en las proximidades inmediatas de un medio de cultivo.
- 45 **6.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que los cereales y/o las tortas de orujo son sometidos a una fermentación, en la oscuridad o al aire libre, durante 1 semana y a una temperatura de 27 a 40 °C, concretamente de 27 a 32 °C.
- 50 **7.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la proporción ponderal agua/cereales o agua/tortas de orujo en el medio de cultivo es de 1 a 3, concretamente de 1 a 2,2 y es, preferentemente, igual a 2.
- 55 **8.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la proporción ponderal agua/cereales + tortas de orujo es de 1 a 3, preferentemente, igual a 2.
- 9.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el medio de cultivo comprende un agente de fermentación añadido a razón del 0 al 2% en peso con respecto al peso seco de cereales y/o de tortas de orujo.
- 10.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el medio de cultivo comprende tortas de orujo y está totalmente desprovisto de cualquier agente de fermentación añadido.
- 60 **11.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el medio de cultivo comprende un agente de fermentación seleccionado entre bacterias, hongos microscópicos seleccionados entre el grupo que comprende levaduras.
- 65 **12.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el medio de cultivo comprende cereales, estando dichos cereales seleccionados entre trigo, escanda, maíz, cebada, cebada de invierno, arroz, mijo, centeno, sorgo y avena.

13. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el medio de cultivo comprende tortas de orujo, seleccionándose dichas tortas de orujo entre tortas de orujo de soja, de cacahuete, de colza, de girasol, de lino, de pepita de uva, de oliva, de copra y de palmito.
- 5 14. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que la etapa de incubación y de eclosión de los huevos de insectos en el medio de cultivo se efectúa durante 1 a 3 días, concretamente 2 días, a una temperatura de 24 a 35 °C, concretamente de 27 a 32 °C, idealmente de 29 °C.
- 10 15. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que las larvas vivas se mantienen, antes de la etapa de deshidratación, a una temperatura de 24 a 35 °C, concretamente de 27 a 32 °C, idealmente de 29 °C, durante de 3 a 6 días después de la eclosión de los huevos de insectos, concretamente 4 días.
- 15 16. Utilización de las larvas de insectos obtenidas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, para la preparación de alimentos para peces de acuario y animales de compañía.
17. Utilización de las larvas de insectos de acuerdo con la reivindicación 16, para la preparación de alimentos para alevines y peces que disponen de un orificio bucal de un diámetro comprendido entre 1,2 y 4 mm, concretamente de 2 a 3 mm.
- 20 18. Composición que comprende un medio de cultivo, el cual comprende una mezcla de agua, de cereales y/o de tortas de orujo y, eventualmente, un agente de fermentación, huevos incubados en dicho medio de cultivo a razón de 0,5 a 1,5 g/kg de medio de cultivo, concretamente 1 g/kg de medio de cultivo, habiéndose sometido los cereales y/o las tortas de orujo a una fermentación, en la oscuridad o al aire libre, durante 1 semana y a una temperatura de 27 a 40°C, concretamente de 27 a 32°C, comprendiendo también dicha composición larvas de insectos incubadas en dicho medio de cultivo que tienen un diámetro corporal máximo de 1 a 4 mm, concretamente de 2 mm y una longitud corporal máxima de 4 a 12 mm, concretamente de 5 a 12 mm, concretamente de 4 a 8 mm, concretamente de 9 mm, concretamente de 6 mm.
- 25 19. Composición de acuerdo con la reivindicación 18 **caracterizada por que** los huevos y/o las larvas proceden de *Hermetia illucens*.
- 30