

DOI 10.17516/1997-1389-0394

EDN: JGWSPO

УДК

Fatty Acid Content and Composition of Fly Larvae *Lucilia sericata* (Family Calliphoridae) Grown on Diets with Different Content of Polyunsaturated Fatty Acids and the Amino Acid Composition of this Species

**Kirill N. Stoyanov^{a, b*}, Olesia N. Makhutova^{a, b},
Konstantin G. Malyshevsky^a, Elena V. Borisova^b,
Nadezhda N. Sushchik^{a, b}, Anzhelika A. Kolmakova^a,
Vasilii N. Morgun^b and Michail I. Gladyshev^{a, b}**

^aInstitute of Biophysics SB RAS

FRC “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”

Krasnoyarsk, Russian Federation

^bSiberian Federal University

Krasnoyarsk, Russian Federation

Received 06.04.2021, received in revised form 17.09.2021, accepted 12.12.2021

Abstract. Aquaculture is a fast-growing branch of agriculture, but it faces fish feed shortages due to a decrease in wild fish catches. As a result, the price of feed increases. For further development it requires alternative feed sources. Insects are considered a suitable protein source for fish, but their fatty acid (FA) composition often does not meet the requirements of aquaculture. In fish oil, PUFAs are dominated by the omega-3 family, and in terrestrial insects, by the omega-6 family. A question arises whether insect larvae lipid composition can be modified to increase the content of omega-3 PUFAs. For this purpose, *Lucilia sericata* larvae were grown on standard feed and feed with addition of camelina oil rich in alpha-linolenic acid (ALA, 18:3n-3), and their FA content and composition were compared. To evaluate the quality of these larvae protein, their amino acid (AA) composition was determined. The FA analysis was performed on a gas chromatograph equipped with a mass-spectrometer detector. The AA analysis was performed on a liquid chromatograph. The AA composition of the examined fly larvae, similarly to other insects (Diptera), was close to the AA composition of fish meal. Fatty

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: ikirill97@gmail.com

ORCID: 0000-0002-6983-771X (Stoyanov K.); 0000-0002-9387-5054 (Makhutova O.); 0000-0001-5587-9807 (Sushchik N.); 0000-0003-4926-1212 (Kolmakova A.); 0000-0003-2276-3095 (Gladyshev M.)

acid composition and content of fly larvae grown on standard food was characterized by a low ratio of omega-3/omega-6 PUFAs and by the dominance of 18:1n-9 and 18:2n-6 fatty acids, which together comprised 40–60 % of the total of FAs. The addition of camelina oil changed the ratio of omega-3/omega-6 PUFAs from 0.11 to 0.46, mainly due to the increase in ALA content. Thus, FA content and composition of *L. sericata* larvae can be significantly modified by a diet.

Keywords: polyunsaturated fatty acids, alpha-linolenic fatty acid, fishmeal, terrestrial insects, fish oil, aquaculture, amino acids.

Acknowledgments. This study was supported by the state assignment within the framework of the Basic Research Program of the Russian Federation (topic no. 51.1.1) and the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation to Siberian Federal University in 2020 (Project no. FSRZ-2020–0006 “Biologically active substances in environmental, biotechnological and medical systems”), and with the financial support of the regional state autonomous institution «Krasnoyarsk Regional Fund of Support of Scientific and Scientific-Technical Activity» within the framework of research and development under the project “Development of import-substituting technologies for salmonid fish aquaculture in the Krasnoyarsk region”.

Citation: Stoyanov K. N., Makhutova O. N., Malyshevsky K. G., Borisova E. V., Sushchik N. N., Kolmakova A. A., Morgun V. N., Gladyshev M. I. Fatty acid content and composition of fly larvae *Lucilia sericata* (family Calliphoridae) grown on diets with different content of polyunsaturated fatty acids and the amino acid composition of this species. *J. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2022, 15(3), 378–395. DOI: 10.17516/1997-1389-0394



Состав и содержание жирных кислот в личинках мух *Lucilia sericata* (сем. Calliphoridae), выращенных на кормах с разным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, и особенности их аминокислотного состава

**К. Н. Стоянов^{а, б}, О. Н. Махутова^{а, б},
К. Г. Малышевский^а, Е. В. Борисова^б, Н. Н. Сущик^{а, б},
А. А. Колмакова^а, В. Н. Моргун^б, М. И. Гладышев^{а, б}**

*Институт биофизики
ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»
Российская Федерация, Красноярск
^бСибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск*

Аннотация. Аквакультура – быстроразвивающаяся отрасль сельского хозяйства, однако сейчас она столкнулась с недостатком кормов, основу которых составляют уловы дикой рыбы, и, как следствие, повышением их стоимости. Для дальнейшего устойчивого развития

аквакультуры необходимо разработать альтернативные корма, производимые не из дикой рыбы. Насекомые рассматриваются как подходящий источник кормового белка для рыб, однако их жирнокислотный (ЖК) состав часто не соответствует требованиям аквакультуры. В рыбьем жире среди ПНЖК доминируют кислоты семейства омега-3, а в наземных насекомых – семейства омега-6. Исследование возможности модификации ЖК состава личинок насекомых для увеличения содержания омега-3 ПНЖК является актуальной задачей. Целью данной работы было изучить состав и содержание жирных кислот в личинках мухи *Lucilia sericata*, выращенных на стандартном корме и корме с добавлением рыжикового масла, богатым альфа-линоленовой кислотой (АЛК, 18:3n-3), и проанализировать аминокислотный состав (АК) личинок данного вида мух. ЖК анализ проводили на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором. АК анализ выполняли на жидкостном хроматографе. АК состав исследованных личинок мух, как и других насекомых отряда Diptera, был близок к АК составу рыбной муки. Состав и содержание жирных кислот личинок мухи на стандартном корме характеризовались низким соотношением омега-3 / омега-6 ПНЖК и доминированием 18:1n-9 и 18:2n-6 – жирных кислот, которые суммарно составляли от 40 % до 60 % от суммы ЖК. Добавление рыжикового масла изменило соотношение омега-3 / омега-6 ПНЖК с 0,11 до 0,46, главным образом за счёт увеличения содержания АЛК. Таким образом, ЖК состав личинок *L. sericata* может быть существенно модифицирован пищей.

Ключевые слова: полиненасыщенные жирные кислоты, альфа-линоленовая кислота, рыбная мука, рыбий жир, аквакультура, аминокислоты.

Благодарности. Работа поддержана Государственным заданием в рамках программы фундаментальных исследований РФ, тема № 51.1.1; Государственным заданием Министерства образования и науки РФ Сибирскому федеральному университету FSRZ-2020–0006; Краевым государственным автономным учреждением «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» в рамках выполнения научных исследований и разработок по проекту «Разработка импортозамещающих технологий для аквакультуры лососевых рыб в условиях Красноярского края».

Цитирование: Стоянов, К.Н. Состав и содержание жирных кислот в личинках мух *Lucilia sericata* (сем. Calliphoridae), выращенных на кормах с разным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, и особенности их аминокислотного состава / К.Н. Стоянов, О.Н. Махутова, К.Г. Малышевский, Е.В. Борисова, Н.Н. Сушик, А.А. Колмакова, В.Н. Моргун, М.И. Гладышев // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2022. 15(3). С. 378–395. DOI: 10.17516/1997-1389-0394

Введение

Аквакультура – одна из самых быстрорастущих отраслей мирового сельского хозяйства. За последние 50 лет доля продукции аквакультуры на мировом рынке морепродуктов выросла с 4 % до 46 % (FAO, 2020). В противоположность этому добыча дикой рыбы не рас-

тет уже с начала 1990-х годов, поскольку находится на пределе возможностей экосистем (FAO, 2020). Увеличение объема добычи дикой рыбы может привести к катастрофическим последствиям (Worm et al., 2006).

Основу кормов для аквакультуры составляет дикая рыба. В настоящее время аква-

культура потребляет 75 % всего добываемого рыбьего жира (FAO, 2020). Повышение спроса на качественный корм из дикой рыбы для аквакультуры приводит к увеличению стоимости такого корма (Henry et al., 2015). В результате стоимость произведенной рыбы на 40–70 % состоит из стоимости корма (Kroeckel et al., 2012; Henry et al., 2015). Дальнейший рост аквакультуры возможен при условии частичной или полной замены некоторых компонентов корма на наземные организмы равноценного качества (Turchini et al., 2009).

Одним из важнейших компонентов рыбьего корма служат полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) семейства омега-3, а именно докозагексаеновая кислота (ДГК, 22:6n-3) и эйкозапентаеновая кислота (ЭПК, 20:5n-3). Эти ПНЖК необходимы для нормального роста и развития самой рыбы и для обеспечения высокой пищевой ценности рыбы для человека (Turchini et al., 2009; Henry et al., 2015; Tocher, 2015; Махутова, Гладышев, 2020). Омега-3 ПНЖК являются структурными и функциональными элементами мембран клеток, предшественниками эйкозаноидов, а также участвуют в липидном гомеостазе (Carvalho et al., 2018; Махутова, Гладышев, 2020). Их недостаток может приводить к нарушению развития рыб, уменьшению выживаемости и снижению скорости роста (Carvalho et al., 2018; Махутова, Гладышев, 2020). Помимо ЭПК и ДГК рыбам необходима арахидоновая кислота (АРК, 20:4n-6), ПНЖК из семейства омега-6. Она накапливается в отдельных тканях рыб, например, в жабрах и почках у палтуса и в молоках у морского окуня. Отмечено положительное влияние АРК на скорость роста личинок морского окуня (при содержании 1–1,5 % в пище) и на синхронизацию нереста камбалообразных за счёт синтеза эйкозаноидов из этой ПНЖК (Махутова, Гладышев, 2020). Несмотря на то что неко-

торым видам рыб требуется существенное количество АРК, в целом водные организмы богаты ПНЖК семейства омега-3, а наземные – ПНЖК семейства омега-6 (Twining et al., 2016; Colombo et al., 2017). Очевидно, что оптимальной заменой рыбной составляющей в корме будут являться наземные источники, богатые омега-3 ПНЖК, а таковых обнаружено немного. Среди омега-3 ПНЖК в наземных источниках доминирует альфа-линоленовая (АЛК, 18:3n-3), являющаяся предшественником в синтезе ЭПК и ДГК.

Пресноводные виды рыб, в отличие от морских, не утратили способность к синтезу длинноцепочечных ПНЖК семейства омега-3 и омега-6 из их предшественников – АЛК и линолевой кислоты (ЛК, 18:2n-6) соответственно (Carvalho et al., 2018; Gladyshev et al., 2018; Махутова, Гладышев, 2020). Потребности рыб в омега-3 ПНЖК видоспецифичны (St-Hilaire et al., 2007b; Carvalho et al., 2018; Gladyshev et al., 2018; Махутова, Гладышев, 2020). Следовательно, корма для рыб должны подбираться с учетом потребностей вида, а иначе при превышении оптимального уровня наблюдается рассеивание ценных ПНЖК, то есть они либо не усваиваются в полном объеме, либо частично катаболизируются (Gladyshev et al., 2018).

Одним из перспективных, но малоизученных наземных источников омега-3 ПНЖК для аквакультуры являются насекомые. Помимо ПНЖК они богаты аминокислотами, витаминами и минералами и входят в естественный рацион как морских, так и пресноводных рыб (Henry et al., 2015). Кроме того, личинки насекомых способны быстро трансформировать органические отходы в полезную биомассу (Van Huis et al., 2013). Большинство наземных насекомых в естественных условиях не синтезируют и не накапливают ЭПК и ДГК, но могут содержать значитель-

ные количества их предшественника – АЛК, получаемого из пищи (Barroso et al., 2014). Поскольку ЖК состав насекомых отражает ЖК состав пищи, это позволяет достичь повышения содержания необходимых (целевых) ПНЖК в их биомассе (St-Hilaire et al., 2007a, 2007b; Sealey et al., 2011; Barroso et al., 2014, 2017).

Целью данной работы было изучение состава и содержания жирных кислот и аминокислот в личинках мухи *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera: Calliphoridae) – потенциального кормового объекта для рыб, выращенных на кормах с разным содержанием ПНЖК.

Материалы и методы

Эксперименты

Личинки мух, использованные в эксперименте, относились к виду зеленая мясная муха *L. sericata*. Для идентификации имаго были использованы признаки, описанные в (Штакельберг, 1956), а также (Williams, Villet, 2014). Определение подтверждено

А.В. Баркаловым (Институт систематики и экологии животных СО РАН).

Личинки мух *L. sericata* выращивались в экспериментальных условиях от стадии яйца до последней личиночной стадии на двух типах кормовой смеси, состоящей из отходов птицефабрики (контрольный вариант) и отходов птицефабрики с добавлением растительного масла (опытный вариант). Из растительных масел, доступных на рынке в Красноярском крае, было выбрано рыжиковое масло, поскольку оно обладает высоким содержанием АЛК (табл. 1). Рыжиковое масло было предоставлено сотрудниками ФБУ «Красноярский ЦСМ». Исходная популяция мух содержалась при температуре около 20 °С. Питались мухи сахаром с сухим молоком.

Эксперимент с личинками мух проводили в тех же температурных условиях, в которых содержалась исходная популяция. Для эксперимента были использованы яйца мух (одной партии) возрастом 1–2 дня. Яйца были помещены в ящики (40 x 60 см) с кормовой сме-

Таблица 1. Содержание жирных кислот (% ± SE от суммы ЖК) в некоторых растительных маслах (нерафинированных – НР и рафинированных – Р), продаваемых на территории Красноярского края.

Table 1. Fatty acid composition (%± SE of total FA) in some plants oil (unrefined – НР and refined – Р), sold in the Krasnoyarsk Krai.

ЖК	Подсолнечное			Оливковое			Рыжиковое		
	НР	Р	НР	Р	НР	Р	НР	Р	
16:0	6,5 ± 0,2	6,7 ± 0,1	11,5 ± 0,3	11,9 ± 0,8	5,6 ± 0,2				
18:0	4,1 ± 0,3	3,5 ± 0,1	4,1 ± 0,2	3,6 ± 0,2	2,8 ± 0,2				
18:1n-9	21,7 ± 0,7	26,4 ± 1,4	74,1 ± 0,9	64,5 ± 5,1	17,6 ± 1,3				
18:2n-6	64,6 ± 1,4	59,9 ± 1,6	5,8 ± 0,8	15,2 ± 6,2	26,3 ± 5,2				
18:3n-3	1,3 ± 1,2	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,02	0,6 ± 0,1	25,8 ± 3,8				
20:1n-9	0,1 ± 0,005	0,1 ± 0,03	0,2 ± 0,009	0,3 ± 0,02	12,1 ± 1,8				
22:1n-9	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	2,6 ± 0,4				
20:2n-6	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	1,7 ± 0,3				
20:3n-3	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	1,2 ± 0,2				
n-6/n-3	778 ± 292	1074 ± 389	10,7 ± 1,2	36,4 ± 22,2	1,3 ± 0,5				

Н.о. – не обнаружено.

сью. Для контрольной и опытной групп личинок мух кормовая смесь состояла из отходов птицефабрики. Дополнительно в кормовую смесь для опытной группы личинок добавляли рыжиковое масло (10 % по массе – 200 г масла на 2 кг корма) при каждом кормлении личинок. Кормление производили два раза в сутки. Эксперимент проводили в пяти повторностях. Продолжительность эксперимента составила 8 дней. На пятый и шестой день личинки из опытной и контрольной групп соответственно прекращали питаться, и их отсаживали в опилки для очистки от остатков корма и опорожнения кишечника.

Исходный корм хранился в замороженном виде. Перед каждым кормлением его размораживали и перемешивали, после чего делили на две равные части (по 2 кг); в одну добавляли рыжиковое масло и перемешивали, вторую оставляли неизменной. Часть кормовой смеси брали для биохимических анализов. Корм в течение часа доставлялся в лабораторию, где его дополнительно измельчали с помощью ручной мясорубки, гомогенизировали и отбирали небольшую порцию для анализа жирных кислот (ЖК).

В яйцах мух перед началом эксперимента и личинках мух после окончания эксперимента были определены влажность, состав и содержание жирных кислот, общее содержание липидов, органического азота и углерода. Пробы для анализа жирных кислот и липидов помещали в смесь хлороформа и метанола (2: 1 по объёму) и хранили при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до дальнейшей обработки. Пробы для измерения влажности, органического азота и углерода взвешивали, высушивали до постоянной массы при температуре $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ и снова взвешивали. Значения сырой и сухой массы использовались для расчёта влажности. Высушенные пробы хранились в эксикаторе до дальнейшего анализа.

Для анализа аминокислотного состава отбирались личинки из контрольной группы – без добавления рыжикового масла.

Анализ жирных кислот и липидов

Для анализа ЖК использовали навески яиц (0,1–0,2 г), личинок (0,2–0,4 г) и корма (0,6–0,7 г). Перед биохимической обработкой в пробы добавляли фиксированный объем внутреннего стандарта – метиловый эфир наонадекановой кислоты (19:0), растворённый в хлороформе с конечной концентрацией 1 мг/мл. Процедура биохимического анализа проб, включавшая гомогенизацию тканей, экстракцию липидов и приготовление метиловых эфиров жирных кислот подробно описана в работе Christie (2003). Экстракцию и выделение липидной фракции из проб проводили смесью хлороформа и метанола в соотношении 2: 1 по объёму. Пробу помещали в ступку, гомогенизировали и экстрагировали липиды. Полученные экстракты осушали пропусканием через слой безводного Na_2SO_4 . Растворители выпаривали на роторном вакуумном испарителе при температуре $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Затем проводили двухстадийное метилирование ЖК. Для этого в колбу с сухими липидами добавляли 0,7 мл смеси NaOH и метанола (8 г/л) и кипятили на песчаной бане при температуре $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10–12 минут с использованием обратных холодильников. Затем колбы остужали до $40\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$, добавляли 0,8 мл смеси метанола и H_2SO_4 (33:1 по объёму) и снова кипятили на песчаной бане при температуре $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут. Колбы остужали до $40\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в полученную смесь добавляли двойной объём насыщенного раствора NaCl (3 мл) и 2 мл гексана, смесь интенсивно встряхивали в течение 2–3 мин. После этого метиловые эфиры ЖК были растворены в более лёгкой неполярной фракции – в гексане, а вода с примесями находилась в нижней

части колбы. С помощью делительной воронки неполярная фракция с метиловыми эфирами ЖК была отделена от полярной фракции. Полученные растворы метиловых эфиров ЖК, растворённых в гексане, осушали пропуском через слой безводного Na_2SO_4 . Гексан выпаривали на ротаторном вакуумном испарителе при температуре 40 °С.

Анализ метиловых эфиров ЖК проводили на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором (модель 7890A/7000 QQQ, «Agilent Technologies», США). Условия анализа следующие: несущий газ – гелий, ввод с делением потока, скорость потока газа 1 мл/мин, капиллярная колонка высокой полярности HP-FFAP длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и фазой полиэтиленгликоля, модифицированного нитротерефталевой кислотой толщиной 0,25 мкм. Применяли следующий температурный режим: начальная температура 120 °С 3 мин изотермально, подъем от 120 до 180 °С со скоростью 5 °С/мин, затем 10 мин изотермально, второй подъем температуры от 180 до 220 °С со скоростью 3 °С/мин и 5 мин изотермально, затем от 220 до 230 °С со скоростью 10 °С/мин и 20 мин изотермально. Температура ввода (инжектора) 250 °С, температура детектора 180 °С; энергия ионизации детектора 70 эВ, сканирование в диапазоне 45–500 атомных единиц.

Идентификацию пиков жирных кислот осуществляли сравнением полученных масс-спектров с масс-спектрами, имеющимися в базах данных NIST 2008 MS LIB (Revision Jan2010), а также сравнением времен удерживания с таковыми стандартов (U-47885, Sigma, США). Относительное содержание ЖК определяли как отношение площади пика определённой ЖК к сумме площадей всех ЖК. Абсолютное содержание ЖК рассчитывали через площадь пика метилового эфира

19:0, которая соответствовала известному количеству этой ЖК, добавленной перед биохимическими процедурами.

Анализ аминокислотного состава

Анализ аминокислотного состава выполняли на автоматическом анализаторе LA8080 Hitachi методом ВЭЖХ с постколоночной модификацией нингидрином. Подробное описание метода приведено в работах Moore, Stein и Spackman (Moore, Stein, 1954; Spackman et al., 1958). Перед анализом пробы высушивали в сушильном шкафу при температуре 60–65 °С до воздушно-сухого состояния и измельчали. Подготовленные пробы хранили в эксикаторе. Для определения аминокислот в пробе проводили гидролиз в 6 N растворе соляной кислоты. Навеску пробы массой от 3 до 5 мг взвешивали в виале (объем виалы 2 мл), приливали 1–1,5 мл раствора 6 N соляной кислоты. Виалу продували аргоном (для вытеснения воздуха), плотно закручивали крышку и помещали в предварительно нагретую до температуры 110 °С песочную баню на 22 ч. После завершения гидролиза виалы охлаждали до комнатной температуры, взбалтывали и содержимое переносили на беззольный фильтр. Стенки виалы дважды промывали дистиллированной водой. Смывы также переносили на фильтры. Фильтрат выпаривали в выпарительной чашке на кипящей водяной бане до образования мокрого осадка. Затем к осадку добавляли 2 мл дистиллированной воды и снова выпаривали для удаления следов соляной кислоты. Выпаренные образцы хранили в эксикаторе над гранулированной щелочью (NaOH или KOH) до анализа. Перед анализом сухой гидролизат (пробу), содержащий смесь аминокислот, растворяли в буфере из расчета 1 мг исходного белка в 1 мл буфера с pH 2,2. Как правило, пробы

растительного и животного происхождения содержат в своем составе гидрофобные вещества, отравляющие колонку и мешающие разделению. Для освобождения от них использовали картриджи, заполненные слабогидрофобным силикагелем. Через картридж (Диапак С-1) пропускали раствор гидролизата в 5 %-ном растворе диметилсульфоксида в буфере, используемом для разведения проб. Перед анализом пробу фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Для количественной оценки непосредственно перед анализом серии проб в тех же условиях проводили анализ стандартной смеси аминокислот с известной концентрацией (Pickering calibration standart). В результате получали хроматограммы с пиками семнадцати АК: лизин, гистидин, аргинин, треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, аспарагиновая кислота, пролин, серин, глутаминовая кислота, глицин, аланин, цистин, тирозин. В процессе кислотного гидролиза триптофан практически полностью разрушается, цистеин окисляется в цистин, аспарагин и глутамин превращаются аспарагиновую и глутаминовую кислоты соответственно.

Анализ общего органического углерода и азота

Измерение общего органического углерода и азота в биологических образцах проводили на элементном анализаторе Flash EA 1112 NCSoil/MAS 200 (ThermoQuest, Италия). Калибровочные кривые для элементного анализатора были построены с использованием аспарагиновой кислоты и стандартных эталонных образцов почв (ThermoQuest, Италия).

Содержание белка было пересчитано из данных по азоту с использованием коэффициента 4,76 (Janssen et al., 2017).

Статистический анализ

Расчёт средних, стандартных ошибок, проверка на нормальность (критерий Шапиро – Уилка), дисперсионный анализ, тест Тьюки HSD, Критерий Краскела – Уоллиса, критерий Уилкоксона, *t* – критерий Стьюдента и канонический корреспондентный анализ были выполнены в R версии 3.6.1 (R. Core Team, 2013). Все статистические показатели, не приведённые в таблицах и рисунках, будут предоставлены авторами по запросу.

Результаты

В пробах яиц и личинок мух, а также в их корме было обнаружено более 20 жирных кислот (рис. 1). Во всех пробах среди ЖК доминировали 18:1n-9 и 18:2n-6, которые суммарно составляли от 40 до 60 %.

В корме опытной группы процентное содержание 18:3n-3, 20:1n-9, 20:2n-6, 20:3n-3, 22:1n-9 было достоверно больше, а содержание 16:0, 16:1n-9, 18:0, 18:1n-9 было достоверно меньше, чем в корме контрольной группы личинок.

В личинках опытной группы процентное содержание 16:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-9, 20:2n-6, 20:3n-3 было достоверно больше, а 16:1n-9 и 18:2n-6 было достоверно меньше, чем в личинках контрольной группы. При этом процент 18:3n-3 в личинках из опытной группы был в три раза больше, чем в личинках из контрольной группы (рис. 1).

В личинках опытной группы процентное содержание 14:0, суммы изомеров 14:1, 16:0, 16:1n-9, 16:1n-7, 16:2n-6, 20:5n-3 было достоверно больше, а 18:0, 18:3n-3, 20:1n-9, 20:2n-6, 20:3n-3, 22:1n-9 было достоверно меньше, чем в их корме.

В личинках контрольной группы процентное содержание 14:0, суммы изомеров 14:1, 16:1n-9, 16:1n-7, 16:2n-6, 20:5n-3, было достоверно больше, а содержание 18:0, 20:1n-9,

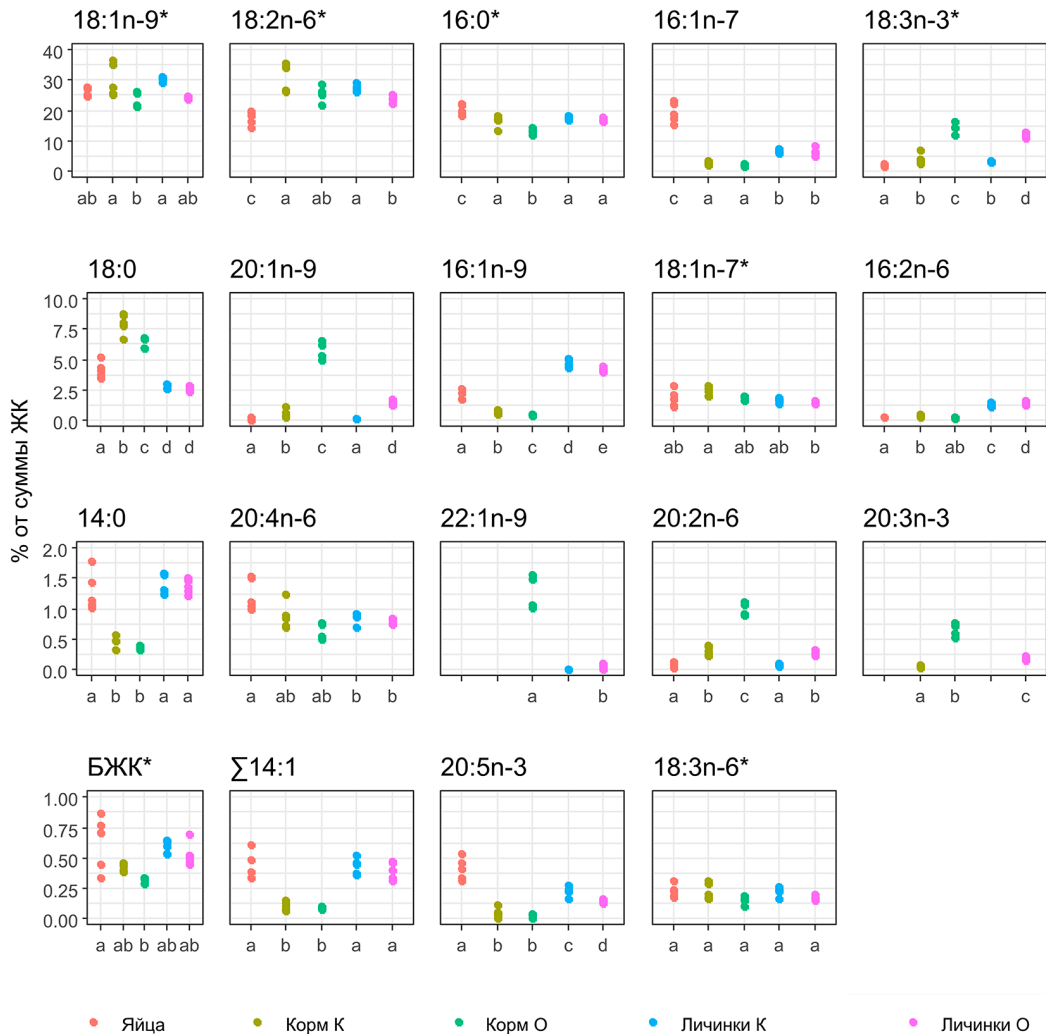


Рис. 1. Содержание жирных кислот (% от суммы ЖК) в пробах яиц, личинок мух контрольной (Личинки К) и опытной групп (Личинки О) и их кормов (Корм К и Корм О соответственно). Массивы данных, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались при $p < 0,05$ – тест Тьюки HSD *post hoc* (для данных с нормальным распределением, отмечены звездочкой «*») и критерий Уилкоксона (для данных с ненормальным распределением, отметка отсутствует). БЖК – бактериальные жирные кислоты: 10:0, 11:0, 12:1, i13:0, ai13:0, 13:0.

Fig. 1. Fatty acids content (% of total FA) in samples of eggs (Яйца), fly larvae of control (Личинки К) and experimental group (Личинки О), and their feed (Корм К and Корм О, respectively). Data arrays labeled with the same letter were not significantly different at $p < 0.05$ – Tukey HSD *post hoc* (data with a normal distribution, marked with an asterisk “*”) and the Pairwise Wilcoxon test (for data with a non-normal distribution, no mark). БЖК are bacterial fatty acids: 10:0, 11:0, 12:1, i13:0, ai13:0, 13:0.

20:2n-6, 20:3n-3 было достоверно меньше, чем в их корме.

В яйцах мух процентное содержание 16:0, 18:0, 16:1n-7 и 20:5n-3 было достоверно больше, чем в личинках, а содержание 16:1n-9,

16:2n-6, 18:2n-6, 18:3n-3 – меньше. Процентное содержание 20:1n-9 и 20:2n-6 в яйцах не отличалось от такового в личинках из контрольной группы, но было достоверно меньше, чем у личинок из опытной группы.

В личинках из опытной группы суммарное абсолютное содержание ЖК (мг/г сырой массы) было достоверно больше, чем в ли-

чинках из контрольной группы (рис. 2). Абсолютное содержание 18:2n-6, 18:3n-3, 20:4n-6 в личинках из опытной группы было досто-

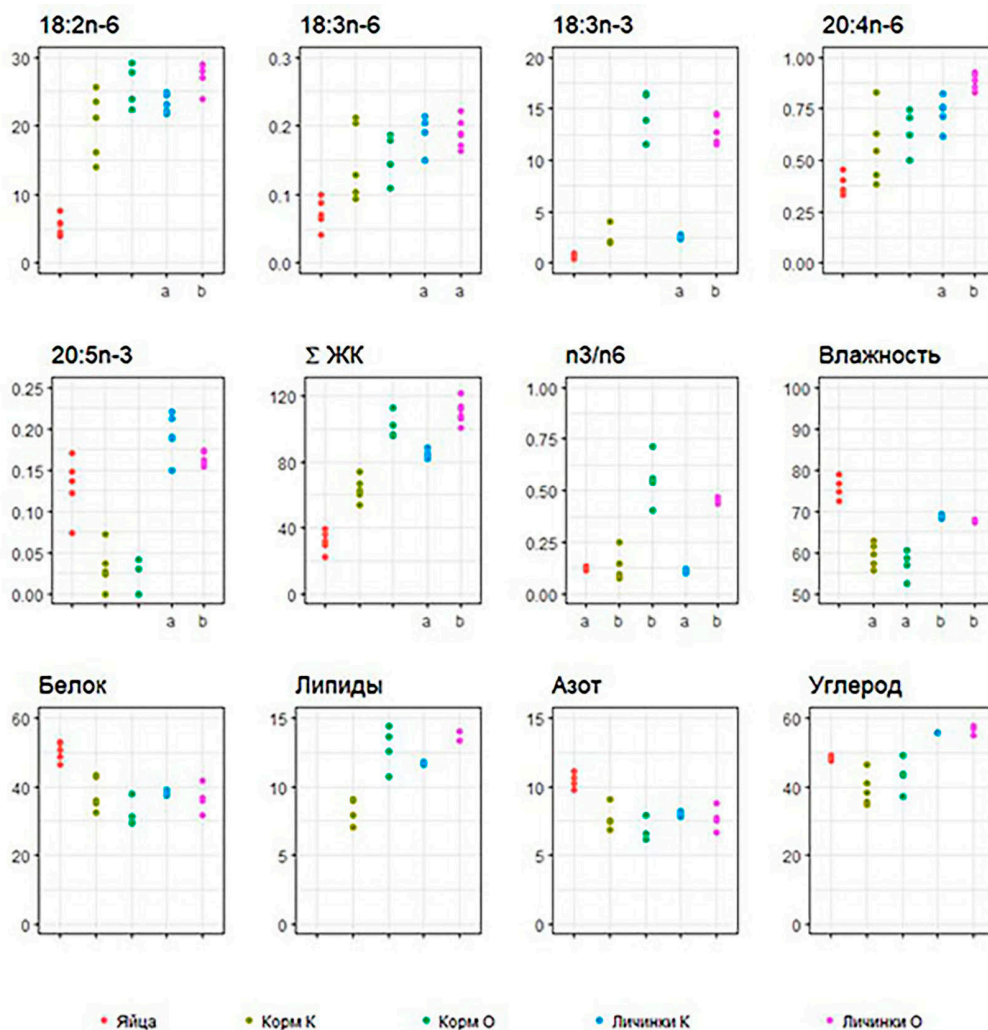


Рис. 2. Концентрация жирных кислот (мг/г сырой массы), соотношение n-3/n-6 жирных кислот, влажность (%), содержание липидов, белка, органического азота и углерода (% от сухой массы) в пробах яиц, личинок мух контрольной (Личинки К) и опытной групп (Личинки О) и их кормов (Корм К и Корм О соответственно). При сравнении средних значений концентрации ЖК (только для личинок) был использован *t*-критерий Стьюдента (все группы, участвовавшие в сравнении, прошли тест на нормальность). Соотношение n-3/n-6 и влажность сравнивали при помощи дисперсионного анализа и теста Тьюки HSD *post hoc*. Данные, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались при $p < 0,05$.

Fig. 2. Fatty acid concentration (mg/g wet weight), n-3/n-6 fatty acid ratio, moisture (%), lipid, protein, organic nitrogen and carbon content in samples of eggs (Яйца), fly larvae of control (Личинки К) and experimental groups (Личинки О), and their feed (Корм К and Корм О, respectively). When comparing mean values of FA concentrations (only for larvae), Student's *t*-test was used (all groups in the comparison had normal distribution). The n-3/n-6 ratio and moisture content were compared by ANOVA and post-hoc Tukey's. Data with the same letters were not significantly different at $p < 0.05$.

верно больше, чем в личинках из контрольной группы. При этом содержание 18:2n-6 и 20:4n-6 было больше на 14,8 % и 20,5 % соответственно, а содержание 18:3n-3 – более чем в пять раз.

Канонический корреспондентный анализ содержания ЖК в яйцах, личинках мух и корме представлен в двумерном пространстве согласно процентному содержанию ЖК в пробах (рис. 3). Первая ось (Dim 1) объясня-

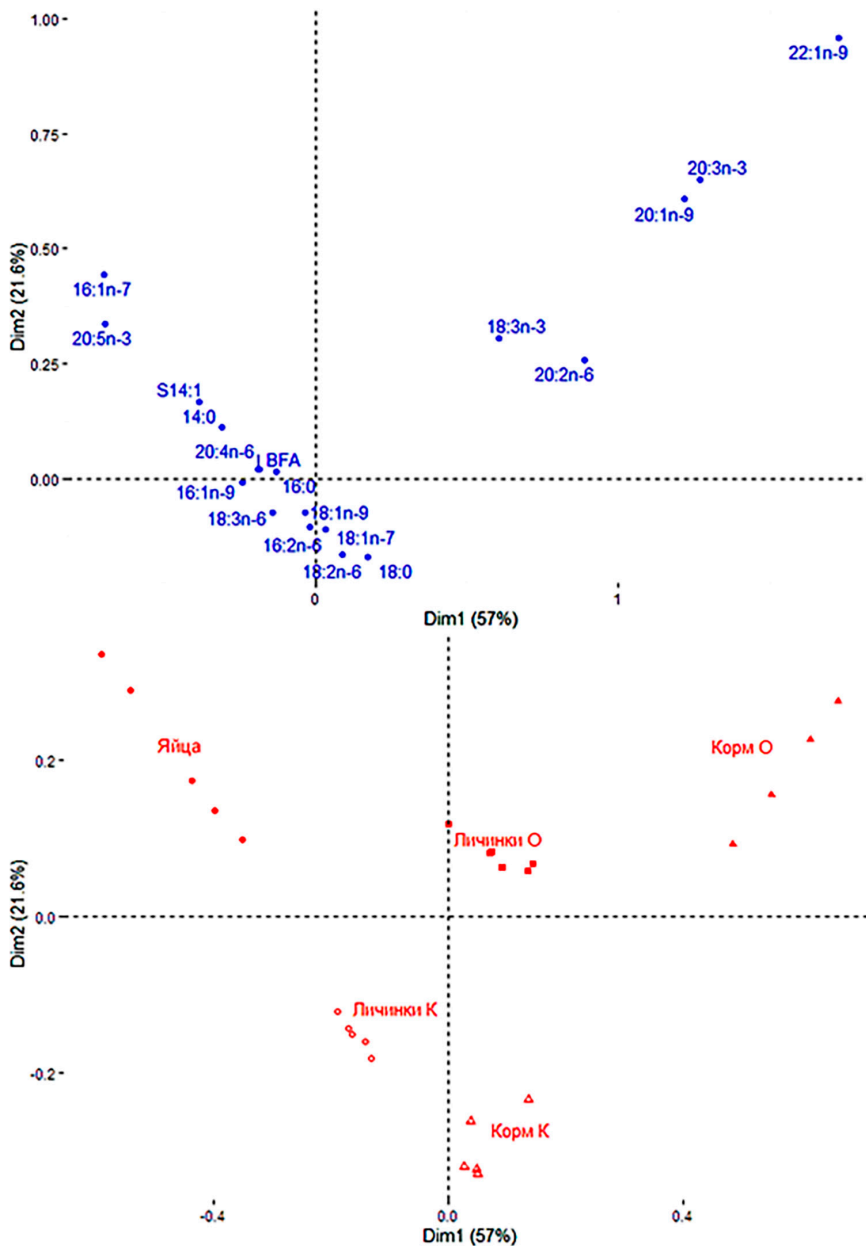


Рис. 3. Результаты канонического корреспондентного анализа процентного содержания жирных кислот в яйцах, личинках и корме (Личинки К и Личинки О – личинки контроль и опыт, Корм К и Корм О – корм контроль и опыт).

Fig. 3. Results of canonical correspondent analysis of percentage of fatty acids in eggs, larvae, and feed (Личинки К and Личинки О – larvae control and experiment, Корм К and Корм О – feed control and experiment).

ла 57 % инерции, вторая ось (Dim 2) – 21,6 %. Первая ось выявила различия между яйцами и кормом опытной группы. Переменные, обеспечивающие основной вклад в различия по первой оси, были 16:1n-7, 20:5n-3 – преобладающие в яйцах и 22:1n-9, 20:3n-3, 20:1n-9 – преобладающие в опытном корме. По второй оси были обнаружены различия между кормом опытной группы и кормом контрольной группы. Основной вклад в данные различия внесли 22:1n-9, 20:3n-3, 20:1n-9, преобладающие в корме опытной группы и 18:2n-6, 18:0, 18:1n-7, 16:2n-6 – преобладающие в корме контрольной группы.

Аминокислотный (АК) состав личинок мух контрольной группы представлен в табл. 2. Глутаминовая и аспарагиновая кислоты доминировали среди АК, а цистеин и метионин обнаружены в минимальных ко-

личествах. Содержание остальных аминокислот в личинках мух находилось в диапазоне от 3 до 8 %.

Обсуждение

Добавление рыжикового масла в пищу позволило в несколько раз увеличить содержание в личинках АЛК, предшественника в синтезе ЭПК и ДГК. Помимо этого, возросло содержание и других ЖК, которыми богато рыжиковое масло (табл. 1), а именно 20:1n-9, 22:1n-9, 20:2n-6, 20:3n-3. Было обнаружено избирательное накопление ЖК из пищи: среди приведённых выше ЖК АЛК накапливалась сильнее других ЖК, а эруковая кислота (22:1n-9) – слабее.

Обнаруженное избирательное накопление определённых ЖК может помешать или, наоборот, помочь достичь оптимального ЖК

Таблица 2. Аминокислотный состав личинок мух контрольной группы (мг/г сухой массы, % от суммы АК)

Table 2. Amino acid composition of fly larvae of control group (mg/g dry weight, % of total AA)

АК (AA)	мг/г	SE	%	SE
Аланин (Ala)	28,4	± 0,3	6,29	± 0,05
Аргинин (Arg)	23,5	± 0,1	5,21	± 0,09
Аспарагин (Asp)	49,4	± 0,3	10,94	± 0,17
Цистеин (Cys)	3,3	± 0,1	0,72	± 0,02
Глутамин (Glu)	69,8	± 1,3	15,44	± 0,07
Глицин (Gly)	21,6	± 0,2	4,77	± 0,04
Гистидин (His)	16,1	± 0,3	3,57	± 0,03
Изолейцин (Ile)	17,0	± 1,0	3,76	± 0,17
Лейцин (Leu)	31,3	± 0,5	6,92	± 0,01
Лизин (Lys)	32,0	± 0,8	7,07	± 0,08
Метионин (Met)	2,4	± 0,2	0,53	± 0,05
Фенилаланин (Phe)	30,9	± 0,6	6,83	± 0,03
Пролин (Pro)	19,4	± 0,2	4,30	± 0,06
Серин (Ser)	23,5	± 0,5	5,19	± 0,17
Триптофан (Thr)	23,9	± 0,2	5,29	± 0,10
Тирозин (Tyr)	36,4	± 1,0	8,05	± 0,11
Валин (Val)	23,1	± 1,2	5,10	± 0,19

состава личинок насекомых. Однако экспериментальные исследования, оценивающие данный параметр, в доступной литературе отсутствуют. Очевидно, что избирательность накопления пищевых ЖК – видоспецифична, поскольку разные виды насекомых, выращенные на одном субстрате в лабораторных условиях, отличались по ЖК профилям (составу и содержанию ЖК) (Barroso et al., 2014; Ooninx et al., 2020). Известно, что некоторые виды жуков (отряд Coleoptera) богаты ЭПК и ДГК (Raksakantong et al., 2010). Однако эти данные требуют проверки.

Обогащение корма личинок мух маслом, обладающим высоким содержанием АЛК, позволило сместить соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК к высоким для наземных экосистем значениям. Подобные результаты были получены Ooninx с коллегами (2020). Личинки, обогащённые АЛК, могут быть перспективным кормом для пресноводных рыб, способных к синтезу ЭПК и ДГК из АЛК (Gladyshev et al., 2018). Добавление в рацион рыб повышенного количества АЛК может дополнительно простимулировать собственный синтез ЭПК и ДГК (Carvalho et al., 2018; Mock et al., 2019). Однако собственного синтеза может оказаться недостаточно для обеспечения высокой пищевой ценности производимой рыбы. Существует большая разница между количеством длинноцепочечных ПНЖК, достаточным для поддержания здоровья и развития рыбы, и количеством необходимым для обеспечения потребностей человека (Tocher, 2015). Некоторые авторы для решения этой задачи предлагают использовать методы селекции и выводить породы рыб с более эффективным синтезом ЭПК и ДГК (Turchini et al., 2011).

Одним из возможных вариантов обогащения целевыми ПНЖК личинок мух является выращивание их на отходах рыбопроизводства (St-Hilaire et al., 2007a; Barroso et al.,

2019). При этом личинок не обязательно кормить рыбными отходами на протяжении всего периода роста. В исследовании на рыбной муке существенное увеличение ЭПК и ДГК наблюдалось при продолжительности кормления личинок около трех часов (Barroso et al., 2017). В других работах было показано увеличение содержания ЭПК и ДГК при кормлении личинок в течение последних суток (St-Hilaire et al., 2007a; Barroso et al., 2019). В работе St-Hilaire с коллегами (2007b) добавление в корм личинок 22 % отходов рыбопроизводства (в течение последних 24 часов) позволило достичь в личинках 1,43 % ЭПК и 1,66 % ДГК. К сожалению, в работе не представлен ЖК профиль кормовой смеси, и выводы об усвояемости ЖК из корма сделать не представляется возможным. В работе Barroso с коллегами (2019) авторы полностью заменили стандартный корм личинок черной львинки на малоценный вид рыбы, содержащий 13,6 % ЭПК и 21,4 % ДГК. При кормлении личинок в течение последних суток содержание ЭПК и ДГК в их телах достигло 3,4 % и 2,7 % соответственно. А при кормлении на протяжении 12 дней содержание ЭПК и ДГК увеличилось до 7,2 % и 4,9 % соответственно. Очевидно, что расход ЭПК и ДГК был малоэффективным и наблюдались существенные потери целевых ПНЖК. Безусловно, малоценные виды рыб больше подойдут для прямого производства рыбных кормов, чем для выращивания личинок с последующим использованием в производстве кормов. Однако такой подход можно использовать при необходимости утилизировать рыбные отходы, так как использование рыбных отходов напрямую для кормления рыб не рекомендуется в связи с высоким риском передачи инфекционных заболеваний (Turchini et al., 2009).

Личинки насекомых с естественным (необогащенным) ЖК профилем использу-

ются как корм для рыб давно и упоминаются в литературе с середины прошлого века (Bondari, Sheppard, 1981). В настоящее время проводятся эксперименты с заменой рыбной муки на муку из личинок насекомых. В основном используются личинки черной львинки (*Hermetia illucens*). В зависимости от вида рыбы процент замены рыбной муки на муку из *H. illucens* варьирует от 17 % до 40 % и в среднем составляет 29 % (Sealey et al., 2011; Kroeckel et al., 2012; Magalhães et al., 2017; Iaconisi et al., 2017, 2018; Hua, 2021). Однако в данных работах рассматривается замена не липидного, а белкового компонента рыбной муки. Успешность замены муки определялась отсутствием негативного влияния на скорость роста рыбы. Потери в питательной ценности рыбы не учитывались. Так, например, для карпа можно достичь замены 100 % рыбной муки без потерь в скорости роста рыбы, однако при этом содержание ЭПК и ДГК в мышцах падает в 2 и 3 раза с 2 % до 0,9 % и с 9,5 % до 2,7 % соответственно (Zhou et al., 2018).

Обогащение личинок ПНЖК может позволить увеличить их долю в рыбьем корме до 50 % от рыбной муки (Sealey et al., 2011). Однако работы с использованием обогащенных личинок насекомых единичны и такой вариант требует дополнительных исследований.

Основной положительный фактор использования личинок насекомых в качестве корма для рыб – их близкий к оптимальному аминокислотный состав (Kroeckel et al., 2012; Barroso et al., 2017). Полученные нами данные по аминокислотному составу личинок *L. sericata* в основном согласуются с данными других авторов, приведёнными в обзорной работе (Kolmakov, Kolmakova, 2020) (рис. 4). Однако, как видно из результатов, личинки исследованных нами мух характеризовались

низким содержанием метионина. Метионин – незаменимая АК, которая наряду с лизином часто выступает в роли лимитирующей (Craig et al., 2017). При использовании личинок *L. sericata* в пище рыб недостаток метионина необходимо возместить.

К дополнительным положительным факторам можно отнести отсутствие негативного влияния корма из личинок насекомых на желудочно-кишечный тракт рыб (Bruni et al., 2018; Li et al., 2020). Тогда как чрезмерное использование растительных добавок, напротив, может нарушить развитие рыбы и нанести вред, спровоцировав воспалительные процессы в желудочно-кишечном тракте (Merrifield et al., 2011; Henry et al., 2015). Помимо этого, включение большого количества растительной пищи может ухудшить вкусовые качества корма (Henry et al., 2015). Кроме того, насекомые содержат естественные фунгициды и антибиотики, что может продлить срок хранения корма из такого сырья (Papatyphon, Soares, 2001; Henry et al., 2015). Производство личинок насекомых может осуществляться круглогодично и требует меньше ресурсов (например, площади земельных участков и потребления воды), в отличие от других вариантов производства белковых и липидных добавок в рыбьи корма (Oonincx, de Boer, 2012; Rumpold, Schlüter, 2013).

Заключение

Проведенное экспериментальное исследование показало, что жирнокислотный состав личинки мухи *L. sericata* изменяется в зависимости от состава пищи. Добавление рыжикового масла в корм личинок мух в несколько раз увеличило содержание АЛК и, как следствие, соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК. Поскольку жирнокислотный состав личинок поддается модификации, а аминокислотный профиль, за исключением мети-

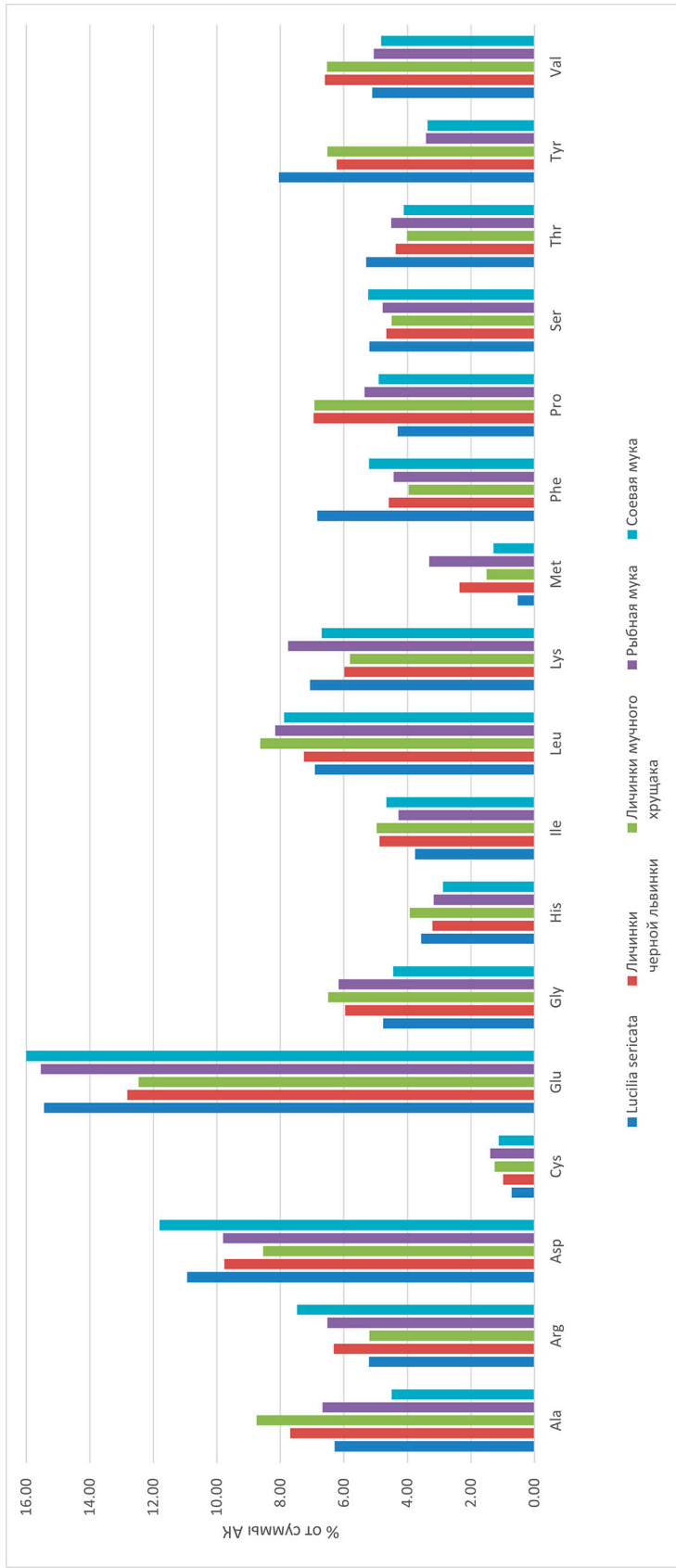


Рис. 4. Сравнение аминокислотного состава насекомых, рыбной и соевой муки. *Lucilia sericata* – изученные нами личинки мух. Личинки черной львинки, личинки мучного хрущака, рыбная и соевая мука – данные из литературного обзора (Kolmakov, Kolmakova, 2020). Названия АК см. табл. 2.

Fig. 4. Comparison of the amino acid composition of insects, fish and soybean meal. *Lucilia sericata* – the fly larvae we examined. Личинка черной львинки – black soldier larvae, Личинка мучного хрущака – mealworm larvae, Рыбная мука – fish meal, and Соевая мука – soy flour (data from the review (Kolmakov, Kolmakova, 2020)).

онина, соответствует оптимальным параметрам, мы полагаем, что личинки *L. sericata* могут быть рекомендованы для включения в рацион экспериментальных аквакультурных рыб при разработке рыбных кормов с частичной заменой рыбной муки.

Список литературы / References

- Махутова О. Н., Гладышев М. И. (2020) Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты в физиологии и метаболизме рыб и человека: значение, потребности, источники. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, 106(5): 601–621 [Makhutova O. N., Gladyshev M. I. (2020) Essential PUFA in physiology and metabolism of fish and human: functions, needs, sources. *Russian Journal of Physiology* [Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I. M. Sechenova], 106(5): 601–621 (in Russian)]
- Штакельберг А. А. (1956) *Синантропные двукрылые фауны СССР*. Москва, Ленинград, Издательство АН СССР, 164 с. [Stackelberg A. A. (1956) *Synanthropic Diptera in the Fauna of the USSR*. Moscow, Leningrad, Academy of Sciences of USSR, 164 p. (in Russian)]
- Barroso F. G., de Haro C., Sánchez-Muros M.-J., Venegas E., Martínez-Sánchez A., Pérez-Bañón C. (2014) The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422–423: 193–201
- Barroso F. G., Sánchez-Muros M.-J., Segura M., Morote E., Torres A., Ramos R., Guil J.-L. (2017) Insects as food: Enrichment of larvae of *Hermetia illucens* with omega 3 fatty acids by means of dietary modifications. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62: 8–13
- Barroso F. G., Sánchez-Muros M. J., Rincón M. Á., Rodríguez-Rodríguez M., Fabrikov D., Morote E., Guil-Guerrero J. L. (2019) Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82: 103237
- Bondari K., Sheppard D. C. (1981) Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24: 103–109
- Bruni L., Pastorelli R., Viti C., Gasco L., Parisi G. (2018) Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. *Aquaculture*, 487: 56–63
- Carvalho M., Peres H., Saleh R., Fontanillas R., Rosenlund G., Oliva-Teles A., Izquierdo M. (2018) Dietary requirement for n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids for fast growth of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) fingerlings. *Aquaculture*, 488: 105–113
- Christie W. W. (2003) *Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*. Bridgwater, Oily Press, 416 p.
- Colombo S. M., Wacker A., Parrish C. C., Kainz M. J., Arts M. T. (2017) A fundamental dichotomy in long-chain polyunsaturated fatty acid abundance between and within marine and terrestrial ecosystems. *Environmental Reviews*, 25(2): 163–174
- Craig S., Helfrich L. A., Kuhn D., Schwarz M. H. (2017) *Understanding fish nutrition, feeds, and feeding*. Virginia Cooperative Extension
- FAO (2020) *The state of world fisheries and aquaculture 2020*. FAO
- Gladyshev M. I., Glushchenko L. A., Makhutova O. N., Rudchenko A. E., Shulepina S. P., Dubovskaya O. P., Zuev I. V., Kolmakov V. I., Sushchik N. N. (2018) Comparative analysis of content of omega-3 polyunsaturated fatty acids in food and muscle tissue of fish from aquaculture and natural habitats. *Contemporary Problems of Ecology*, 11(3): 297–308

Henry M., Gasco L., Piccolo G., Fountoulaki E. (2015) Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203(1): 1–22

Hua K. (2021) A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture*, 530: 735732

Iaconisi V., Bonelli A., Pupino R., Gai F., Parisi G. (2018) Mealworm as dietary protein source for rainbow trout: Body and fillet quality traits. *Aquaculture*, 484: 197–204

Iaconisi V., Marono S., Parisi G., Gasco L., Genovese L., Maricchiolo G., Bovera F., Piccolo G. (2017) Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture*, 476: 49–58

Janssen R.H., Vincken J.-P., van den Broek L.A.M., Fogliano V., Lakemond C.M.M. (2017) Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11): 2275–2278

Kolmakov V.I., Kolmakova A.A. (2020) Amino acids in prospective feeds for fish aquaculture: a review of experimental data. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 13(4): 424–442 (in Russian)

Kroeckel S., Harjes A.-G.E., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susenbeth A., Schulz C. (2012) When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute – growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364–365: 345–352

Li Y., Kortner T.M., Chikwati E.M., Belghit I., Lock E.-J., Krogdahl Å. (2020) Total replacement of fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 520: 734967

Magalhães R., Sánchez-López A., Leal R. S., Martínez-Llorens S., Oliva-Teles A., Peres H. (2017) Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 476: 79–85

Merrifield D.L., Olsen R.E., Myklebust R., Ringo E. (2011) Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish. *Soybean and Nutrition*. El-Shemy H. (ed.) IntechOpen, p. 231–250

Mock T.S., Francis D.S., Jago M.K., Glencross B.D., Smullen R.P., Keast R.S.J., Turchini G.M. (2019) Altered levels of shorter vs long-chain omega-3 fatty acids in commercial diets for market-sized Atlantic salmon reared in seawater – effects on fatty acid composition, metabolism and product quality. *Aquaculture*, 499: 167–177

Moore S., Stein W.H. (1954) A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 211(2): 907–913

Oonincx D.G.A.B., de Boer I.J.M. (2012) Environmental impact of the production of Mealworms as a protein source for humans – a life cycle assessment. *PLoS ONE*, 7(12): e51145

Oonincx D.G.A.B., Laurent S., Veenenbos M.E., van Loon J.J.A. (2020) Dietary enrichment of edible insects with omega 3 fatty acids. *Insect Science*, 27(3): 500–509

Papatryphon E., Soares J.H. Jr. (2001) Optimizing the levels of feeding stimulants for use in high-fish meal and plant feedstuff-based diets for striped bass, *Morone saxatilis*. *Aquaculture*, 202(3–4): 279–288

R. Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria

- Raksakantong P., Meeso N., Kubola J., Siriamornpun S. (2010) Fatty acids and proximate composition of eight Thai edible terricolous insects. *Food Research International*, 43(1): 350–355
- Rumpold B. A., Schlüter O. K. (2013) Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17: 1–11
- Sealey W. M., Gaylord T. G., Barrows F. T., Tomberlin J. K., McGuire M. A., Ross C., St-Hilaire S. (2011) Sensory analysis of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched Black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(1): 34–45
- Spackman D. H., Stein W. H., Moore S. (1958) Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*, 30(7): 1190–1206
- St-Hilaire S., Cranfill K., McGuire M. A., Mosley E. E., Tomberlin J. K., Newton L., Sealey W., Sheppard C., Irving S. (2007a) Fish offal recycling by the Black soldier fly produces a foodstuff high in omega-3 fatty acids. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(2): 309–313
- St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J. K., Irving S., Newton L., McGuire M. A., Mosley E. E., Hardy R. W., Sealey W. (2007b) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(1): 59–67
- Tocher D. R. (2015) Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture*, 449: 94–107
- Turchini G. M., Francis D. S., Keast R. S. J., Sinclair A. J. (2011) Transforming salmonid aquaculture from a consumer to a producer of long chain omega-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 124(2): 609–614
- Turchini G. M., Torstensen B. E., Ng W.-K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1(1): 10–57
- Twining C. W., Brenna J. T., Hairston N. G. Jr., Flecker A. S. (2016) Highly unsaturated fatty acids in nature: what we know and what we need to learn. *Oikos*, 125(6): 749–760
- Van Huis A., Van Itterbeek J., Klunder H., Mertens E., Halloran A., Muir G., Vantomme P. (2013) *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Williams K. A., Villet M. H. (2014) Morphological identification of *Lucilia sericata*, *Lucilia cuprina* and their hybrids (Diptera, Calliphoridae). *ZooKeys*, 420: 69–85
- Worm B., Barbier E. B., Beaumont N., Duffy J. E., Folke C., Halpern B. S., Jackson J. B. C., Lotze H. K., Micheli F., Palumbi S. R., Sala E., Selkoe K. A., Stachowicz J. J., Watson R. (2006) Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science*, 314(5800): 787–790
- Zhou J. S., Liu S. S., Ji H., Yu H. B. (2018) Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition*, 24(1): 424–433