

УДК 634.723.1.631.527

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-358-4-104-108>

исследования/research

Осокина А.С.¹,
Гущин А.В.²,
Аникина Э.А.³

¹ Удмуртский Федеральный Исследовательский Центр УрО РАН

² ООО «М-Технологии»

³ Удмуртский государственный университет

Ключевые слова: большая восковая моль, искусственная питательная среда, состав корма, морфобиологические показатели, ингредиенты, математические методы планирования эксперимента

Для цитирования: Осокина А.С., Гущин А.В., Аникина Э.А. Применение планирования эксперимента при разработке питательной среды в производственном цикле культивирования личинок *G. mellonella* L. Аграрная наука. 2022; 358 (4): 104–108.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-358-43-52-60>

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи, несут равную ответственность за плагиат и представленные данные.

Авторы объявили, что нет никаких конфликтов интересов.

A. S. Osokina¹,
V. A. Guschin²,
E. A. Anikina³

¹ Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation 2000 “M-Technology”
³ Udmurt State University

Key words: great wax moth, artificial nutrient medium, morphophysiological ingredients, mathematical methods of experiment planning

For citation: Osokina A.S., Guschin V.A., Anikina E.A. Application of experiment planning in the development of a nutrient medium in the production cycle of cultivation of *G. Mellonella* L. Larvae. Agrarian Science. 2022; 358 (4): 104–108. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-358-4-104-108>

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism and presented data.

The authors declare no conflict of interest.

Применение планирования эксперимента при разработке питательной среды в производственном цикле культивирования личинок *G. mellonella* L.

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Новое направление в кормопроизводстве продуктивных сельскохозяйственных животных — протеин, полученный из насекомых. Для промышленного культивирования личинок необходимо отрегулировать все этапы цикла производства.

Методика. Исследования проводили с целью выявления влияния наиболее значимых ингредиентов в получении составов искусственной питательной среды для культивирования личинок *Galleria mellonella*. В процессе работы производилось определение относительных вкладов компонентов корма на морфобиологические показатели личинок: масса, длина, ширина головной капсулы. Для проведения эксперимента проводился дробный факторный эксперимент 2^{7-4} , в котором производилось варьирование семи факторов — компонентов корма. За основу бралась матрица полного факторного эксперимента 23, а коэффициенты при взаимодействии трех и более факторов принимались малозначимыми и заменялись дополнительными факторами.

Результаты. Для получения биомассы в производственном цикле масса личинок должна составлять не менее 0,15 г, длина 20–22 мм, ширина головная капсула 1,9–2,3 мм (VI–VII возраст), выживаемость не менее 85%. В уравнении регрессии для масс личинок значимыми ингредиентами оказались пшеничная мука (X_1), дрожжи (X_2) и мед (X_5). В уравнении регрессии для длины личинок ингредиентами, которые вносят максимальный вклад, опять являются дрожжи (X_2) и мед (X_5). Для ширины головной капсулы значимым явились дрожжи (X_2). Полученные уравнения регрессии дают возможность математического моделирования в рамках линейной модели представленной уравнениями регрессии в исследованном диапазоне морфобиологических показателей личинок в зависимости от состава корма. На основе полученных выше результатов была разработана искусственная питательная среда с увеличением ключевых ингредиентов на 20%.

Application of experiment planning in the development of a nutrient medium in the production cycle of cultivation of *G. Mellonella*

ABSTRACT

Relevance. The study aimed to develop the composition of an artificial nutrient medium for the rearing of *Galleria mellonella* larvae. In the process of the research, the relative contributions of the feed component to the biological growth parameters of larvae and their morphological indicators were determined.

Methods. In the experiment the plan 2^{7-4} was used, that is, fractional factor experiments were varied in which seven factors — feed ingredients. The matrix of the complete factor experiment 23 was taken as a basis, and the coefficients in the interaction of three or more factors were assumed to be insignificant and replaced by additional factors. Morphophysiological parameters of larvae were used as the main indicators: mass, length, width of the head capsule.

Results To obtain biomass in the production cycle, the mass of larvae should be at least 0.15 g, length 20–22 mm, width of the head capsule 1.9–2.3 mm (VI-early VII age), survival rate of at least 85%. In the regression equation for larval masses, wheat flour (X_1), yeast (X_2) and honey (X_5) turned out to be significant ingredients. In the regression equation for the length of the larvae, the ingredients that make the maximum contribution are again yeast (X_2) and honey (X_5). Yeast (X_2) was significant for the width of the head capsule. The obtained regression equations enable mathematical modeling within the framework of a linear model represented by regression equations in the studied range of morphological parameters of larvae, depending on the composition of the feed.

Поступила: 2 апреля 2022
Принята к публикации: 29 апреля 2022

Received: 2 April 2022
Accepted: 29 April 2022

Введение

В современном мире большой интерес вызывает насекомое в точки зрения альтернативного источника белка в рационе человека и продуктивных животных [1, 2]. Новое направление в кормопроизводстве продуктивных сельскохозяйственных животных — протеин, полученный из насекомых. Для промышленного культивирования личинок необходимо отрегулировать все этапы цикла воспроизводства. С этой целью успешно выращивают в контролируемых условиях черную львинку (*Hermetia illucens*), мучного хрущака (*Tribolium confusum*) и др. Для промышленного культивирования насекомых требуется соблюдать ряд важных условий: санитарные требования, поддержание комфортных абиотических условий для жизнедеятельности и полноценное питание [3, 4]. Большой интерес ученые и производители уделяют большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) по причине высокого содержания мононенасыщенных жирных кислот от общей суммы жирных кислот (58%), полиненасыщенных 7%, а также 34,5% незаменимых аминокислот от общей суммы аминокислот белка, жирных кислот, витаминов [5].

Большая восковая моль (БВМ) (*Galleria mellonella* L.) — вредитель в пчеловодстве, разрушающая целостность пчелиной семьи. Цикл развития включает 4 стадии: яйцо, личинка, куколка и имаго. Основной урон пчелиным семьям причиняет личинка, которая поедает содержимое улья (мед, перга, воск, расплод), снижая продуктивность пчел [6].

В мировом масштабе большая восковая моль известна как универсальный модельный объект, используемый в разных направлениях исследований (токсикология, фармакология и др.) [7]. Водно-спиртовой экстракт из личинок используют в качестве профилактического и лечебного средства при лечении бронхо-легочных заболеваний, в педиатрии, в гинекологии и др. [8, 9]. В связи с этим, что личинка благодаря своему составу имеет мультиэффект в возможном практическом применении, ее рассматривают в качестве продукта функционального питания, что дает возможность выхода ее как продукта на рынок пищевой промышленности.

На этапе культивирования насекомых в контролируемых условиях, важным этапом является подготовка питательной среды. Известно, что естественный корм (пчелиная сушь, пасечные вытопки) личинок *G. mellonella* не является стандартизированным по качеству и составу кормом, что ведет к нестабильным и плохо прогнозируемым производственным результатам и получению неоднородного сырья, при этом существуют трудности его хранения. Альтернативой естественному корму является искусственная питательная среда (ИПС), сбалансированная по белкам, жирам и углеводам [10]. Исследования показывают, что в зависимости от соотношения ингредиентов ИПС меняются морфофизиологические показатели насекомых [11]. Основным морфофизиологическим критерием для оценки эффективности корма является масса личинки. Из всего разнообразия существующих ИПС пока не разработан корм, специально предназначенный для технологического процесса культивирования личинок *G. mellonella* в промышленных условиях, и даже не известна степень

влияния компонентов ИПС на морфофизиологические показатели личинок, на которые можно было бы ориентироваться при разработке с ИПС.

Цель исследований — разработка математической модели основанной на экспериментальных данных необходимой в создании состава ИПС для культивирования личинок *Galleria mellonella*.

Методика. Для разработки методики создания математической модели необходимой для оптимизации состава корма использовались исследования морфофизиологических показателей: массы, длины, стадии развития, выживаемости личинок [12].

Личинки *G. mellonella* были взяты из маточной культуры ($n = 50$), выращиваемые в лабораторных условиях при +30 °С и относительной влажности 65–70% в специально оборудованном устройстве для культивирования личинок БВМ — «Молярый» [13]. Для оценки количественных и качественных характеристик нативных личинок, отделяемых от корма, располагали в чашки Петри для дальнейшей заморозки в морозильной камере при -15 °С в течение не менее 3 часов. После извлечения из морозильной камеры личинки располагали на бумажный лист для визуальной оценки состояния. После оценки неподвижности и степени проморозки личинки, приступали к исследованию морфофизиологических показателей. Масса определялась взвешиванием на электронных весах (VIBRA AJ-320CE, Япония) с точностью до 0,001 г. Для измерения ширины головной капсулы личинку располагали на предметный столик бинокулярного микроскопа МБС-10. Оценка ширины головной капсулы (склеротизированная) производилась по максимально широкой точке к основанию тела путем мягкого нажатия на тело личинки, и измерения сеткой, расположенной в одном из тубусов бинокулярного микроскопа МБС-10 с калибровочным окуляром-микрометром при $\times 40$ (таблица 1).

Для повышения эффективности исследований влияния компонентов питательных сред на морфофизиологические показатели личинок *G. mellonella* и их привлекательность для этих личинок использовался метод математического планирования эксперимента успешно используемый и в энтомологии [14]. Благодаря такому подходу на основании многократно меньшего количества опытов, становится возможным, получить экспериментальные зависимости целого ряда выходных параметров от входных факторов.

Для проведения эксперимента использовался план 2^{7-4} , то есть дробный факторный эксперимент, в котором производилось варьирование семи факторов — компонентов корма. За основу брали матрицу полного

Таблица 1. Характеристика ширины головной капсулы

Table 1. The characteristic of head capsule

Возраст личинки	Размер головной капсулы	
	Деления шкалы	мм
I	3–4,5	0,15–0,27
II	5–7	0,31–0,38
III	8–12	0,42–0,63
IV	13–18	0,68–0,91
V	18–30	0,92–1,54
VI	27–37	1,55–1,87
VII	38–46	1,9–2,45

Таблица 2. Матрица планирования эксперимента плана 2^{7-4} состава корма для личинок *G.mellonella*

Table 2. Matrix of experiment planning plan 2^{7-4} of feed composition for *G.mellonella* larvae

№ опыта	Варьируемый фактор*							
	X_1	X_2	X_3	X_4 ($X_1 X_2$)	X_5 ($X_2 X_3$)	X_6 ($X_1 X_3$)	X_7 ($X_1 X_2 X_3$)	X_8
Компонент	Мука пшеничная	Мука кукурузная	Дрожжи	Воск	Мед	Глицерин	Отруби	Вода-константа 12%
1	+	+	+	+	+	+	+	12,9
2	-	+	+	-	+	-	-	10,5
3	+	-	+	-	-	+	-	10
4	-	-	+	+	-	-	+	10,6
5	+	+	-	+	-	-	-	10,4
6	-	+	-	-	-	+	+	10,76
7	+	-	-	-	+	-	+	10,5
8	-	-	-	+	+	+	-	10,01

* В скобках показана замена парных и тройных взаимодействий, которые соответствуют полному факторному эксперименту 2^3 , а вне скобок — соответствует реализованного плана 2^{7-4} .

факторного эксперимента 2^3 , а коэффициенты при взаимодействии трех и более факторов принимались малозначимыми и заменялись дополнительными факторами (X_5, X_6, X_7) (таблица 2).

Входные факторы варьировались на величину $\pm 20\%$ относительно средней точки. Средняя точка состава корма была выбрана исходя из состава Т.В. Коноваловой (2009) [15].

После получения всех результатов измерения морфофизиологических параметров личинок производился расчет коэффициентов уравнения регрессии. Проверка коэффициентов регрессии на значимость и их отсеивание производилась по критерию Стьюдента.

$$b_i \geq t_{кр} S b_i \quad b_{i,j} \geq t_{кр} S b_{i,j}, \quad (2)$$

где $t_{кр}$ — критическое табличное значение критерия Стьюдента для значения риска 0,05 и числа степеней свободы f .

$$f = N(n - 1) \quad (3)$$

Для наших условий проведения эксперимента $f = 16$, поскольку количество опытов согласно таблице 2 было $N = 8$, а количество повторностей $n = 3$. Табличное значение критерия Стьюдента при $f = 16$ составило 2,12.

Для определения вклада каждого исследуемого фактора на выходной параметр рассчитывается уравнение регрессии, которое выражает через величину коэффициента уравнения регрессии b_i и $b_{i,j}$ зависимость выходного параметра от входных факторов. В общем виде уравнение регрессии имеет вид:

$$Y_p = b_0 + \sum_{i=1}^8 b_i x_i + \sum_{i=1}^8 \sum_{j=1}^8 b_{ij} x_i x_j + b_{1,2,3} x_1 x_2 x_3 \quad (4)$$

Поскольку данное уравнение регрессии описывает линейную модель, то оно не должно содержать квадратичных членов, то есть парные коэффициенты принимаются нулю при $i = j$

Коэффициенты уравнения регрессии рассчитываются по формулам

$$b_i = \frac{\sum_{m=1}^8 Y_{э.ср.m} X_{im}}{8}$$

$$b_0 = \frac{\sum_{m=1}^8 Y_{э.ср.m} X_{im}}{8} \quad b_{ij} = \frac{\sum_{m=1}^8 Y_{э.ср.m} X_{jm} X_{im}}{8} \quad (5)$$

Для оценки значимости входных факторов производится сравнение коэффициентов уравнения регрессии с дисперсией коэффициентов уравнения регрессии, которая вычисляется по формуле:

$$(S b_{i,m})^2 = \frac{\sum_{i=1}^N \sum_{m=1}^n (Y_{i,m} - Y_{э.ср.i})^2}{Nn(n-1)} \quad (6)$$

где Y_p — отклик, вычисляемый по уравнению регрессии; b_0 — нулевой коэффициент уравнения регрессии; b_i — коэффициент уравнения регрессии, отражающий вклад i -го фактора в выходной параметр; b_{ij} — коэффициент, характеризующий вклад парного взаимодействия i -го и j -го факторов. Парные коэффициенты в наших опытах не учитывались из предположения малости этого влияния и заменялись дополнительными факторами.

Поскольку все опыты производились одновременно, но в разных контейнерах, размещенных в «Молярии» случайным образом, то выделять и усреднять опыты первой, второй и третьей повторностей не имело смысла. Поэтому усреднение экспериментальных результатов производилось сразу по всем повторностям.

Результаты исследований и их обсуждение

Измерение массы личинок, их длина и ширина головной капсулы в качестве выходных параметров производилось одновременно, в результате проведенных экспериментов получились три независимых таблицы, в которых отражены значения массы, их длины и ширины головной капсулы.

Усредненные значения массы, длины и ширины головной капсулы личинок, как результат реализации матрицы планирования экспериментов $Y_{э.1}^1$ показаны в таблице 3.

На основании экспериментальных данных для массы личинок по формуле (5) был проведен расчет коэффициентов уравнения регрессии для масс личинок. Результаты помещены в таблицу 4.

Дисперсия уравнения регрессии для массы личинок, вычисленной по формуле (6), составила $1,12 \cdot 10^{-5}$, для

Таблица 3. Усредненные значения для массы, длины и ширины головной капсулы личинок

Table 3. Average values for the mass, length and width of the head capsule of larvae

№ опыта	1	2	3	4	5	6	7	8
Масса личинок Y_3^1	0,085	0,083	0,068	0,047	0,033	0,017	0,049	0,026
Длина личинок Y_3^2	15,31	14,47	14,16	12,82	11,82	9,18	11,38	10,04
Ширина головной капсулы личинок $Y_3^3 \cdot 10^{-1}$	15,13	14,04	14,07	13,47	11,55	9,71	11,88	11,85

Таблица 4. Значение коэффициентов уравнения регрессии при соответствующих входных факторах для массы, длины, ширины головной капсулы личинок

Table 4. The value of the coefficients of the regression equation with the corresponding input factors for the mass, length, width of the head capsule of larvae

Коэффициент уравнения регрессии	b_0	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	b_6	b_7
Масса	0,051	0,0078	0,0035	0,0198	-0,0033	0,0098	-0,002	-0,0015
Длина	12,3875	0,76	0,2875	1,8025	0,09	0,4125	-0,215	-0,215
Ширина головной капсулы	12,71	0,44	-0,108	1,46	0,29	0,515	-0,02	-0,17

длины личинок составила $2,08 \cdot 10^{-5}$, для ширины головной капсулы личинок, составила 0,17.

Для определения значимых коэффициентов уравнения регрессии с учетом 95% уровня достоверности необходимо соблюдение условий в соответствии с формулой (2). В нашем случае этот коэффициент из таблицы Стьюдента будет равен 2,12.

Таким образом, интервал 95% достоверности определения значимости коэффициентов уравнений регрессии будет для массы личинок 0,0071, для длины личинок 0,0096, для ширины головной капсулы 0,87. С учетом вычисленных коэффициентов уравнения регрессии для масс личинок уравнение примет вид.

$$Yp^1 = 0,051 + 0,0078X_1 + 0,0035X_2 + 0,0198X_3 - 0,0033X_4 + 0,0098X_5 - 0,002X_6 - 0,0015X_7 \quad (7)$$

В уравнении регрессии для масс личинок не все коэффициенты оказались значимыми. Значимыми ингредиентами оказались пшеничная мука (X_1), дрожжи (X_3) и мед (X_5). Все остальные ингредиенты внесли незначительный вклад в данных условиях эксперимента. При детальном факторном эксперименте происходит некоторое искажение информации, потому что хотя парные взаимодействия и могут быть малы, но они все равно вносят свой вклад в значения коэффициентов уравнения регрессии в соответствии понятием контраста факторного эксперимента. Это приводит к тому, что появляется некий фон. Этот фон мы и видим на примере X_2 , X_4 . Аналогично говорить о сильном уменьшении отклика под действием факторов X_4 , X_6 , X_7 не приходится. Тем не менее, полученные результаты ясно говорят, что для оптимизации состава необходимо в первую очередь увеличивать в составе корма для личинок количество пшеничной муки, дрожжей и меда. Причем самым эффективным для данного состава будет увеличение концентрации дрожжей в корме, это и понятно, потому что дрожжи будут основным источником белка в корме по составу приближенном к животному белку.

Аналогично можно провести анализ для уравнения регрессии для длины личинок. Как и в случае с массой личинок не все коэффициенты уравнения регрессии для длины личинок оказались значимыми. Уравнение регрессии для длины личинок примет вид

$$Yp^2 = 12,39 + 0,76X_1 + 0,29X_2 + 1,80X_3 - 0,09X_4 + 0,41X_5 - 0,22X_6 - 0,22X_7 \quad (8)$$

В уравнении регрессии (8) для длин личинок, хотя все члены уравнения и являются значимыми ингредиентами ($b_i \geq 0,0096$), но наиболее значимыми ингредиентами, которые вносят максимальный вклад, опять являются дрожжи (X_3) и мед (X_5) и мука (X_1). Все остальные ингредиенты вносят значительно меньший вклад. Самым сильно влияющим фактором в уравнении регрессии (8), как и в уравнении (7), который больше суммы всех других положительных коэффициентов уравнения регрессии, являются дрожжи. Это и понятно, потому что как и для массы личинок дрожжи являются основным поставщиком белковой компоненты.

Уравнения регрессии для ширины головной капсулы личинок строятся аналогично двум предыдущим уравнениям. В отличие от двух предыдущих уравнений регрессии (7) и (8) в уравнении регрессии (9) появились незначимые члены, которые меньше величины 0,87, определенной ранее, как дисперсия коэффициентов уравнения регрессии умноженной на табличное значение критерия Стьюдента для 95% уровня достоверности. Уравнение регрессии для ширины головной капсулы личинок примет вид.

$$Yp^3 = 12,71 + 0,44X_1 - 0,108X_2 + 1,46X_3 + 0,29X_4 + 0,515X_5 - 0,02X_6 - 0,17X_7 \quad (9)$$

Ширина головной капсулы определяет возраст личинок восковой моли. В таком случае увеличение положительных значений коэффициентов в уравнении регрессии (9) соответствует ускорению созревания личинок, то есть ускорению жизненного цикла большой восковой моли. Полученные уравнения регрессии дают возможность математического моделирования в рамках линейной модели представленной уравнениями регрессии в исследованном диапазоне морфологических показателей личинок в зависимости от состава корма.

Выводы

1. Для всех трех уравнений регрессии наибольшее влияние оказывает увеличение в составе корма пшеничной муки, кормовых дрожжей и меда.

2. На основе полученных выше результатов была разработана искусственная питательная среда с увеличением ключевых ингредиентов на 20%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комплексные исследования биологической ценности *Hermetia illucens* / Н. В. Тышко, В. М. Жминченко, Н. С. Никитин и др. // Вопросы питания. 2021. Том 90. №5 (537). С. 49–58.
2. Souza-Vilela A. de J., Andrew N. R., Ruhnke I. A. Insect protein in animal nutrition // Animal Production Science. 2019 № 59(11). 2029–2036. doi.org/10.1071/AN19255.
3. Campenhout Leen Van, Eilenberg Jørgen Microbial dynamics during industrial rearing and processing of insects // Microbiol. 02 November 2021. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.775603.
4. Rearing of *Hermetia Illucens* on different organic by-products: influence on growth, waste reduction, and environmental impact / Bava L., Costanza J., Gislon G., Lupi D. // Animals. 2019. № 9(6). P. 289. doi:10.3390/ani9060289.
5. Benefits and challenges in the incorporation of insects in food products / Francardi V., Frosinini R., Pichini C. et al. // Frontiers in Nutrition. June 2021. 8:687712. doi:10.3389/fnut.2021.687712.
6. Neha R., Lovleen M. Wax moth *Galleria mellonella*: Blessing or blight // Journal of Entomological Research. 2021 45(1):105–114. doi: 10.5958/0974-4576.2021.00017.7.
7. The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies / I. Wojda, B. Staniec, M. Suiek, et al. // Pathogenesis Disises. 2020. № 78(9): ftaa057. doi: 10.1093/femspd/ftaa057.
8. Prospects of *Galleria mellonella* larvae usage in prevention and comprehensive treatment of human tuberculosis / Valitova N.V., Kolosova S.V., Danilov M.S. et al. // IAJPS 2017, 4 (10), 3678–3688 http://doi.org/10.5281/zenodo.1036518.
9. Осокина А. С., Михеева Е. А., Бабинцева Т. В. Влияние спиртового экстракта большой восковой моли (*Galleria mellonella*) на внутренние органы мышей // Вестник Новосибирского аграрного университета. 2018. № 2(47). С. 91–100.
10. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for in vivo microbiological studies / Jorjão A. L., Oliveira L. D., Scorzoni L. et al. // Virulence. 2018; 9(1): 383–389. doi: 10.1080/21505594.2017.1397871.
11. Michalina K., Kaczmarek A., Boguś M. I. Diet influences the bacterial and free fatty acid profiles of the cuticle of *Galleria mellonella* larvae // Plos One, 2019, doi.org/10.1371/journal.pone.0211697 doi.org/10.1371/journal.pone.0211697.
12. Ellis J. D., Graham J. R., Mortensen A. Standard methods for wax moth research // Journal of Apicultural Research. 2013. № 52(1). P. 1–17. doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.10.
13. Гушин А. В., Колбина Л. М., Осокина А. С. Молярный // Патент РФ № 164529, 10.09.2016.
14. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 295 с.
15. Коновалова Т. В. Современные средства и методы обеспечения ветеринарного благополучия по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел. Методические рекомендации по лабораторному содержанию и разведению большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. М., 2011. С. 156–178.

ОБ АВТОРАХ:

А.С. Осокина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Удмуртский Федеральный Исследовательский Центр УрО
ORCID 0000-0001-9452-139

А.В. Гушин, директор ООО «М-Технологии»

Э.А. Аникина, студент, Удмуртский государственный университет

REFERENCES

1. Tyshko NV, Zhminchenko VM, Nikitin NS et al [The comprehensive studies of *Hermetia illucens* larvae proteins biological value] Problems of nutrition. 2021; 90, №5(537): 49–58.
2. Souza-Vilela AJ, Andrew NR, Ruhnke IA Insect protein in animal nutrition. Animal Production Science; 59(11):2029–36.
3. Zlotin AZ Tekhnicheskaya ehntomologiya [The technical entomology]. Spravochnoe posobie. Kiev: Izd-vo: Naukova dumka;1989.
4. Bava L., Costanza J., Gislon G., Lupi D. Rearing of *Hermetia Illucens* on different organic by-products: influence on growth, waste reduction, and environmental impact. Animals; 9(6): 289.
5. Bedna ova M., Borkovcova M., Fišer V. Zakladniniutrični profil larev zavije e voskoveho (*Galleria mellonella*). Mendelnet. 2012;(1): 722–27.
6. Kwadha Charles A, Ong'amo O. George, Ndegwa N. Paul et al The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. Insects. 2017;8(2):61.
7. Wojda I, Staniec B, Suiek M et al The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. Pathogenesis Disises. 2020;78(9): ftaa057.
8. Spiridonov NA., Rachkov AK, Mukhin SA et al, inventors; Spiridonov NA. assignee. Sposob polucheniya biologicheskii aktivnogo produkta iz lichinok bol'shoi voskovoi moli [The method of obtaining a biologically active product from great wax moth larvae]. SSSR Patent. 4938002/14, 1995 June 27.
9. Osokina AS, Mikheeva EA, Babintseva TV [Influence of ethanolic extract of bee-moth (*Galleria mellonella*) on the organs of mice]. Vestnik NSAU.2018;(2): 91–100.
10. Michalina K., Kaczmarek A., Boguś M. I. Diet influences the bacterial and free fatty acid profiles of the cuticle of *Galleria mellonella* larvae // Plos One, 2019, doi.org/10.1371/journal.pone.0211697 doi.org/10.1371/journal.pone.0211697.
11. Ellis JD, Graham JR, Mortensen A. Standard methods for wax moth research. Journal of Apicultural Research. 2013; 52(1):1–17.
12. Gushchin AV., Kolbina LM, Osokina AS inventors; Udmurt research institute of agricultural assignee; Molyarii. Russian Federation patent № 164529, 2016 September 10.
13. Urbakh VYu Statisticheskii analiz v biologicheskikh i meditsinskikh issledovaniyakh [Statistical analysis in biological and medical research]. Moscow: Meditsina; 1975.
14. Konvalova TV Sovremennyye sredstva i metody obespecheniya veterinarnogo blagopoluchiya po infektsionnoi i protozoinoi patologii zhivotnykh, ryb i pchel. Metodicheskie rekomendatsii po laboratornomu sodержaniyu i razvedeniyu bol'shoi voskovoi ognivki *Galleria mellonella* L. [Modern means and methods of ensuring veterinary well-being in infectious and protozoal pathology of animals, fish and bees. Guidelines for laboratory maintenance and breeding of large wax fireweed *Galleria mellonella*] Moscow, 2011: 156–78.

ABOUT THE AUTHORS:

Anastasia S. Osokina, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation
ORCID 0000-0001-9452-139

Vladimir A. Guschin, headmaster ООО «М-Technology»

Eliana A. Anikina, student, Udmurt State University