

흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*) 사료 내 동애등에 유충과 갈색거저리 유충의 어분대체효과

신재형[†] · 조세희[†] · 고대현 · 이경준^{1*}

제주대학교 해양생명과학과, ¹제주대학교 해양과학연구소

Replacing Fish Meal with Black Soldier Fly Larvae and Mealworm Larvae in Diets for Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*

Jaehyeong Shin[†], Sehee Jo[†], Daehyun Ko and Kyeong-Jun Lee^{1*}

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

¹Marine Science Institute, Jeju National University, Jeju 63333, Korea

This study was conducted to partially replace fish meal with black soldier fly (BSF) larvae or mealworm (MW) larvae in the diet for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. A tuna by-product meal (27%) was used as the protein source in a control (Con) diet, which was replaced with 20%, 40%, or 60% BSF (designated as BSF20, BSF40, and BSF60, respectively), or MW (MW20, MW40, and MW60, respectively). The shrimp (average body weight, 0.09 g) were randomly stocked in 28 acrylic tanks and quadruplicate groups were fed one of the experimental diets six times daily. After 57 days of the feeding trial, growth and feed efficiency were significantly higher in shrimp that were fed the BSF40 and BSF60 diets than those in shrimp fed the Con diet. Phenoloxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and gene expression of crustin were significantly higher in shrimp fed BSF or MW diets than those in shrimp fed the Con diet. The results indicate that BSF or MW could be used as a fish meal replacement or as a functional protein source in diets and can help improve the growth, feed utilization, innate immunity and antioxidant capacity of Pacific white shrimp.

Keywords: Insect meal, Fish meal, Pacific white shrimp, Black soldier fly, Mealworm

서론

곤충박(insect meal)은 단백질(39-62%)과 지질(10-34%)의 함량이 높을 뿐만 아니라 양식생물의 필수아미노산인 lysine, methionine, leucine 등의 함량이 식물성 원료에 비해 높아, 최근 양식사료의 어분대체원료로써 주목 받고 있다(Nogales-Mérida et al., 2019; Rahimnejad et al., 2019). 곤충의 사육에는 음식물 찌꺼기와 밀기울(wheat bran) 등의 생활·농업부산물을 먹이로 이용할 수 있어 경제적이며, 곤충의 배설물은 질 좋은 비료로 사용되기 때문에 곤충은 친환경적인 사료 원료로 평가 받고 있다(Van Huis et al., 2013). 최근 전세계적으로 곤충의 산업화를 위해 대규모 생산설비를 구축하고 있으며, 식용·약용 등 다양한 분야에서 곤충을 이용한 연구가 활발하게 진행되고

있다(Nogales-Mérida et al., 2019). 국내 곤충 시장의 규모도 2011년 1680억원에서, 2018년 2648억원으로 크게 증가하였다(MAFRA, 2019). 곤충은 체내에 다양한 항균펩타이드를 함유하고 있어(Ravi et al., 2011), 사료에 첨가할 경우 새우와 어류의 비특이적 면역력과 질병저항성을 향상시킬 수 있다고 보고되었다(Motte et al., 2019; Nogales-Mérida et al., 2019). 동애등에(black soldier fly, BSF; *Hermetia illucens*)와 갈색거저리(mealworm, MW; *Tenebrio molitor*)는 고밀도로 사육이 가능하며, 세대 주기가 다른 곤충에 비해 짧아 대량생산에 적합한 종으로 평가 받고 있다(Kroeckel et al., 2012; Lock et al., 2016; Magalhães et al., 2017). 새우 사료 내 어분대체에 관한 연구는 다양한 원료를 이용하여 수행되었다(Pakravan et al., 2017; He et al., 2020; McLean et al., 2020). 그러나, 갈색거저리와 동애

*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3423 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: kjlee@jeju.ac.kr †Contributed equally.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0900>

Korean J Fish Aquat Sci 53(6), 900-908, December 2020

Received 19 October 2020; Revised 17 November 2020; Accepted 23 November 2020

저자 직위: 신재형(대학원생), 조세희(대학원생), 고대현(대학원생), 이경준(교수)

등을 이용하여 흰다리새우 사료 내 어분을 대체한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 특히, 곤충의 체성분은 먹이, 사육환경, 가공 방법 등에 따라 큰 차이를 보이기 때문에 원산지에 따른 곤충 원료의 이용성 평가가 필요하다(Henry et al., 2015).

흰다리새우는 다른 새우류와 비교하여 성장이 빠르고 여러 질병에 대한 내병성이 높아 전세계에서 주요 양식 대상으로 각광받고 있다. 흰다리새우는 전세계에서 연간 생산되는 전체 새우류 중 53%를 차지하며, 생산량은 계속해서 증가할 것으로 예상되고 있다(FAO, 2018). 흰다리새우의 연간 국내 생산량 또한 2012년도에 2,784톤에서 2019년도에 7,542톤으로 계속해서 증가하고 있다(KOSIS, 2020). 따라서, 본 연구에서는 흰다리새우 사료에 어분대체원으로써 국내에서 생산된 동애등에와 갈색거저리의 이용가능성을 조사하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험새우와 사육관리

실험새우는 제주대학교 동물실험윤리위원회의 윤리규정(승인번호, 2019-0039)을 준수하며 실험에 이용하였다. 실험새우는 제주도 성산읍에 위치한 종묘장에서 post-larvae 시기의 흰다리새우를 구입하여 약 0.1 g 크기가 될 때까지 실험용 수조에서 사육한 후 실험에 이용하였다. 흰다리새우(0.09 g)는 총 28개의 acrylic 수조(210 L)에 25마리씩 배치하였다. 사육실험 중 수질은 1일 1회 측정되었으며, 평균 수온은 27.8°C, 용존산소는 5.04 ppm, pH는 7.82, 염분은 31 ppt, 암모니아는 0.041 ppm으로 나타났다. 실험사료는 새우 체중의 6-8%를 1일 6회(08:30, 10:30, 12:30, 14:30, 16:30, 18:30 h)에 나누어 총 57일간 공급하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 조절(12 light: 12 dark)하였다. 사육수조의 환수는 실험사료의 공급량에 따라 2일에 한번(80%)씩 진행되었다.

실험사료

사육실험에 사용된 분말 형태의 동애등에(비탈지) 유충과 갈색거저리(탈지) 유충은 (주)CIEF (Gimje, Korea)와 (주)KEIL (Seoul, Korea)에서 각각 구매하였고, 원료 내 일반성분, 아미노산, 지방산, chitin의 함량은 Table 1에 나타내었다.

대조사료(control, Con)는 어분과 대두박을 기초로 조성되었고, 조단백질과 조지질의 함량은 흰다리새우의 영양소 요구량을 충족시키도록 구성하였다(Table 2). 실험사료는 총 7종으로, 대조사료 내 어분을 동애등에와 갈색거저리 분말로 각각 20, 40, 60% 대체하였다(BSF20, BSF40, BSF60, MW20, MW40, MW60). 실험사료는 펠릿사료 제조기(SP-50, Gungang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 총 2가지 크기(1, 2 mm)로 성형되었고, 건조 후(15시간, 20°C) 사료공급 전까지 냉동보관(-20°C)되었다.

Table 1. Nutrient contents of black soldier fly (BSF), mealworm (MW) and tuna by-product meal (TM) for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Nutrient contents	Ingredients		
	BSF	MW	TM
Proximate composition (% of dry matter)			
Crude protein	41.7	69.8	60.0
Crude lipid	17.4	7.24	9.24
Ash	18.7	8.34	21.5
Moisture	4.39	5.39	7.00
Essential amino acids (% of protein)			
Methionine	0.27	0.23	1.35
Lysine	5.93	5.83	5.89
Arginine	5.36	5.23	4.71
Histidine	8.38	7.84	3.15
Isoleucine	4.78	5.00	3.64
Leucine	7.23	7.92	5.79
Phenylalanine	3.96	4.25	3.09
Threonine	4.15	4.12	3.42
Valine	6.70	7.09	4.11
EAA/NAA	0.88	0.99	0.54
Fatty acids (% of lipid)			
12:0	23.2	0.41	0.10
14:0	5.30	4.17	14.9
16:0	19.0	16.7	40.3
16:1	2.42	2.04	4.80
18:0	4.82	-	10.9
18:1n9	23.4	43.4	4.50
18:2n6	16.3	31.7	0.30
18:3n3	2.18	1.36	0.30
20:0	0.26	0.18	0.40
20:1	0.17	0.13	0.30
20:4n6	0.28	-	1.10
20:5n3(EPA)	1.32	-	12.2
22:0	0.18	-	0.10
22:6n3(DHA)	0.26	-	7.90
SFA ¹	52.8	21.5	66.6
MUFA ²	26.0	45.6	9.60
PUFA ³	20.3	33.1	21.9
∑n-3 ⁴	3.76	1.36	20.4
∑n-6 ⁵	16.6	31.7	1.40
n-3/n-6	0.23	0.04	14.6
Chitin (% of dry matter)	5.11	3.24	-

¹Saturated fatty acids. ²Monounsaturated fatty acids. ³Polyunsaturated fatty acids. ⁴Omega-3 fatty acids. ⁵Omega-6 fatty acids.

Sampling과 분석

실험새우의 무게는 2주 간격으로 측정되었고, 스트레스를 최소화 하기 위해 무게 측정 24시간 전부터 사료의 공급을 중단하였다. 사육실험 종료 후, 실험새우의 최종무게(final body weight, FBW), 일간성장률(specific growth ratio, SGR), 사료 계수(feed conversion ratio, FCR), 단백질이용효율(protein ef-

Table 2. Dietary formulation and proximate compositions of the experimental diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% of dry matter)

Ingredients	Experimental diets						
	Con	BSF 20	BSF 40	BSF 60	MW 20	MW 40	MW 60
Tuna by-product meal ¹	27.0	20.1	15.7	11.8	21.6	16.2	10.8
Black soldier fly ²	-	8.50	17.0	25.5	-	-	-
Mealworm ³	-	-	-	-	5.00	10.0	15.0
Soybean meal	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0
Squid liver meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Starch	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Wheat flour ⁴	21.8	20.8	18.1	14.5	22.2	22.6	22.5
Soybean oil	3.00	2.40	1.00	0.00	3.00	3.00	3.50
Cod liver oil ⁵	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral premix ⁶	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin premix ⁷	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline chloride	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Lecithin ⁸	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cholesterol	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
MCP ⁹	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Proximate composition							
Crude protein	37.1	36.0	37.1	38.0	37.8	38.0	38.0
Crude lipid	9.29	9.84	9.87	9.60	8.59	8.66	9.12
Crude ash	12.1	12.3	12.9	13.3	11.4	10.7	9.70

¹Wooginfeed Industry Co. Ltd, Incheon, Korea. ²CIEF Co. Ltd, Gimje, Korea. ³KEIL Co. Ltd, Seoul, Korea. ⁴Deahan Flour Co. Ltd, Incheon, Korea. ⁵Corp. E-wha oil & fat Industry Corp, Busan, Korea. ⁶Mineral premix contains (g/kg): MgSO₄·7H₂O, 80; NaH₂PO₄·2H₂O, 370; KCl, 130; Ferric citrate, 40; ZnSO₄·7H₂O, 20; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2; CoCl₂·6H₂O, 1. ⁷Vitamin premix contains (g/kg): L-ascorbic acid, 121.2; DL- α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-amino benzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003. ⁸Lysoforte™ Dry, Kemin Korea Co. Ltd., Korea. ⁹Mono-calcium phosphate. Con, control; BSF, black soldier fly; MW, mealworm.

iciency ratio, PER), 생존율(survival)을 조사하였다. 수조당 8마리의 실험새우를 얼음물로 마취시켜 hemolymph와 간체장을 적출하였다. Hemolymph는 원심분리 후 냉동보관(-80°C)하였다. 간체장은 액체질소를 이용하여 급속 냉동한 다음 냉동보관(-80°C)하였다. 간체장을 적출한 후 남은 carcass는 일반성분분석을 위해 냉동보관 되었다(-20°C).

사육수의 암모니아 농도는 Strickland and Parsons (1972)의 방법에 따라 분석되었다. 실험사료와 새우의 일반성분은 AOAC (2005) 방법에 따라 분석되었다. 원료의 chitin 함량은 Song et al. (2018)의 방법에 따라 측정되었다. 아미노산은 Rosen (1957)의 방법을 기초로 아미노산분석기(S433, Sykam GmbH, Fuerstenfeldbruck, Germany)를 이용하여 측정되었다. 지방산은 Garces and Mancha (1993)의 방법에 따라, gas chromatography (6800GC, Agilent, San Francisco, CA, USA)를 이용하여 분석되었다. Hemolymph의 glutathione peroxidase (GPx)와 superoxide dismutase (SOD) 활성은 각각 kit (K762-100, Biovision, San Francisco, CA, USA; 19160, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 분석되었다. Phenoloxidase (PO)와 대식세포(nitro-blue tetrazolium, NBT) 활성은 각각 Hernández-López et al. (1996)과 Zhang et al. (2013)의 방법에 따라 분석되었다. 실험새우의 간체장 RNA는 TRIzol® (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 추출하였다. RNA purity는 μ Drop™ Plate (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 측정하여 모든 OD₂₆₀/OD₂₈₀의 RNA 순도(1.8-2.0)를 확인하였다. cDNA의 합성은 PrimeScript™ first-strand cDNA synthesis kit (TaKaRa, Shiga, Japan)를 이용하였다. β -actin (F-5'-GAGCAACACGGAGTTCGTTGT-3', R-5'-CATCACC AACTGGGACGACATGGA-3')은 reference gene으로 사용되었고, crustin (F-5'-GAGGGTCAAGCCTACTGCTG-3', R-5'-ACTTATCF AFFCCAFCACAC-3') 측정 이용되었다. qPCR은 Real Time System TP 950 Thermal Cycler Dice™ (TaKaRa, Shiga, Japan)를 이용하여 측정되었다.

통계 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(completely randomized design)을 실시하였으며, 분석결과는 SPSS (Version 24.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석하였다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test로 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. 백분율데이터는 arcsine 변형 값으로 통계분석 하였다. Two-way ANOVA 방법을 이용하여 곤충박의 종류(insects)와 대체율(inclusion ratio) 사이의 관계를 통계 분석하였다.

결 과

동애등에 실험구의 경우, 실험새우의 최종평균무게(FBW)와 일간성장률(SGR)은 BSF40, BSF60구가 대조구에 비해 유

의적으로 높았다(Table 3). 사료계수(FCR)는 BSF40, BSF60 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 낮았다. 단백질이용효율(PER)은 모든 동애등에 실험구(BSF20, 40, 60)가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 생존율은 실험구와 대조구 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 실험새우 가식부(muscle)의 조단백질, 조지질, 조회분, 수분 함량은 모든 실험구 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 4). 실험새우 hemolymph의 PO 활성은 BSF40구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다(Table 5). SOD와 GPx 활성은 BSF20, BSF40, BSF60구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. NBT 활성은 대조구와 실험구 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 실험새우 간체장의 crustin 발현량은 BSF 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다.

갈색거저리 실험구의 경우, 최종평균무게는 MW20, MW40구가 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았고, MW60구는 대조구에 비해 유의적으로 낮았다(Table 3). 사료계수는 실험구와 대조구에 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 일간성장률, 단백질이용효율, 생존율은 실험구와 대조구 사이에 유의적인 차이가 없었다. 실험새우 가식부의 조단백질, 조지질, 조회분, 수분 함량은 모든 실험구 사이에 유의적인 차이가 없었다(Table 4). 실험새우 hemolymph의 PO 활성은 MW20, MW40구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다(Table 5). SOD 활성은 MW20, MW40, MW60구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. GPx 활성은 MW40구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. NBT 활성은 대조구와 실험구 사이에 유의적인 차이가 없었다. 간체장의 crustin 발현량은 실험구가 대조구에 비해 유

의적으로 높았다.

고 찰

이번 연구에서 동애등에와 갈색거저리는 흰다리새우 사료 내 어분대체원으로써의 이용가능성을 보여주었다. 특히, 동애등에는 사료의 어분을 60%까지 대체 가능할 뿐만 아니라 오히려 새우의 성장을 촉진시키는 것으로 나타났다. Cummins et al. (2017)은 흰다리새우(1.24 g) 사료 내 menhaden 어분을 탈지(defatted) 동애등에 유층으로 대체하여 63일간 사육한 결과, 71%까지 대체 가능함을 보고하였다. Panini et al. (2017)은 흰다리새우(4.42 g) 사료 내 연어부산물(salmon processing waste meal) 어분을 갈색거저리 유층으로 대체하여 42일간 사육한 결과, 100%까지 대체하여도 성장률에 아무런 영향이 없었다고 보고하였다. Choi et al. (2018)은 흰다리새우(2.39 g) 사료에 어분을 갈색거저리 유층으로 대체한 사료를 56일간 공급한 결과, 50%까지 대체 가능하다고 보고하였다. 동일한 곤충을 이용하였음에도 새우 사료 내 어분의 대체율에서 차이를 보이는 이유는 사료의 조성, 사용된 어분의 종류, 사육환경, 곤충의 영양상태, 원료의 가공 방법 및 영양소 함량에 의한 것이라 판단된다. 이번 연구에서 동애등에와 갈색거저리는 사료 내 tuna by-product meal을 각각 60%, 40%까지 성장과 사료효율 저하 등의 부작용 없이 대체 가능할 것으로 사료된다. 동애등에의 최대 어분대체율은 후속연구를 통해 보다 자세한 규명이 요구된다.

본 연구에서 동애등에와 갈색거저리의 아미노산 조성은 methionine (Met)을 제외하고 어분과 유사하거나 높았다(Table

Table 3. Growth performance and feed utilization of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 57 days (initial body weight: 0.09±0.00 g). The experimental diets were prepared by replacement fish meal with black soldier fly (BSF) and mealworm (MW) at each level, respectively (Con, BSF20, BSF40, BSF60, MW20, MW40 and MW60)

Dietary treatment	FBW ¹	SGR ²	FCR ³	PER ⁴	Survival (%)
Con	5.28±0.22 ^{b, x}	7.14±0.10 ^{z, xy}	1.42±0.05 ^a	1.90±0.06 ^c	92.0±2.00 ^{xy}
BSF20	5.54±0.29 ^b	7.18±0.12 ^{bc}	1.36±0.03 ^a	2.04±0.04 ^b	94.0±6.93
BSF40	6.40±0.17 ^a	7.46±0.04 ^a	1.16±0.04 ^b	2.33±0.07 ^a	95.0±2.00
BSF60	6.17±0.69 ^a	7.41±0.22 ^{ab}	1.17±0.07 ^b	2.26±0.12 ^a	93.0±6.83
MW20	5.06±0.11 ^{xy}	7.06±0.12 ^{xy}	1.36±0.04	1.95±0.06	98.0±2.31 ^x
MW40	5.39±0.33 ^x	7.17±0.11 ^x	1.33±0.04	1.98±0.07	90.0±7.66 ^y
MW60	4.67±0.53 ^y	6.93±0.20 ^y	1.41±0.09	1.88±0.11	94.0±2.31 ^{xy}
Two-way ANOVA					
Insects	.000	.000	.000	.000	NS
Inclusion ratio	NS	NS	.002	NS	NS
Insects×Inclusion ratio	NS	NS	.001	NS	NS

Values are mean of quadruplicates and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. ¹Final body weight (g)=final mean body weight-initial mean body weight. ²Specific growth rate (%)=[(log_e final body weight-log_e initial body weight)/days]×100. ³Feed conversion ratio=feed intake/wet weight gain. ⁴Protein efficiency ratio=wet weight gain/total protein given. Con, control; NS, not significant.

1). 필수아미노산인 Met은 사료에 결핍될 경우, 흰다리새우의 성장과 생존율이 감소하는 것으로 알려져 있다(Richard et al., 2010). 대부분의 어분 대체 원료 내 Met의 함량은 어분보다 낮아 제한아미노산으로 인식되고 있다(Gatlin et al., 2007). 본 연구에서도 동애등에와 갈색거저리의 Met 함량(0.23-0.27%)은 어분(1.35%)에 비해 낮았다(Table 1). 흰다리새우를 대상으로 진행된 연구에서 사료 내 어분을 동애등에, 갈색거저리, 누에 등의 곤충으로 대체할 경우, 대체율이 증가함에 따라 사료와 새

우의 Met 함량이 감소되는 것으로 보고되었다(Cummins et al., 2017; Panini et al., 2017; Rahimnagad et al., 2019). 따라서 동애등에와 갈색거저리를 사료에 어분대체원으로써 다량 사용할 경우, Met이 제한 아미노산으로 작용할 가능성이 높다고 판단된다.

이번 연구에서 사료 내 곤충박의 첨가는 새우 가식부(근육)의 일반성분조성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. Panini et al. (2017)은 흰다리새우 사료에 갈색거저리(지질함량

Table 4. Proximate composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 57 days (% of wet basis). The experimental diets were prepared by replacement fish meal with black soldier fly (BSF) and mealworm (MW) at each level, respectively (Con, BSF20, BSF40, BSF60, MW20, MW40 and MW60)

Dietary treatment	Protein	Lipid	Ash	Moisture
Con	21.0±1.26	0.89±0.06	1.50±0.07	76.3±0.74
BSF20	21.1±0.43	0.80±0.12	1.54±0.04	77.1±0.52
BSF40	21.4±0.34	0.86±0.11	1.52±0.11	77.0±0.35
BSF60	21.5±0.24	0.80±0.20	1.57±0.03	76.6±0.47
MW20	20.5±0.62	0.84±0.21	1.51±0.03	76.8±0.75
MW40	20.6±2.57	0.85±0.19	1.56±0.10	76.2±0.50
MW60	20.6±0.69	1.04±0.06	1.59±0.05	76.1±0.20
Two-way ANOVA				
Insects	NS	NS	NS	NS
Inclusion ratio	NS	NS	NS	NS
Insects×Inclusion ratio	NS	NS	NS	NS

Values are mean of quadruplicates and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. Con, control; NS, not significant.

Table 5. Immune response and anti-oxidation of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 57 days. The experimental diets were prepared by replacement fish meal with black soldier fly (BSF) and mealworm (MW) at each level, respectively (Con, BSF20, BSF40, BSF 60, MW20, MW40 and MW60)

Dietary treatment ¹	PO ¹ (absorbance)	SOD ² (% inhibition)	GPx ³ (mU/ml)	NBT ⁴ (absorbance)	Crustin ⁵
Con	0.12±0.01 ^{b, z}	93.7±0.12 ^{c, y}	74.7±1.51 ^{b, y}	0.93±0.12	1.00±0.13 ^{b, y}
BSF20	0.14±0.02 ^b	98.3±0.39 ^a	93.1±7.14 ^a	0.92±0.25	5.31±0.78 ^a
BSF40	0.16±0.02 ^a	98.1±0.91 ^a	96.1±1.15 ^a	0.93±0.24	6.15±0.14 ^a
BSF60	0.14±0.01 ^{ab}	96.4±1.01 ^b	95.8±1.43 ^a	0.96±0.21	6.77±1.69 ^a
MW20	0.15±0.01 ^x	97.8±0.10 ^x	85.8±2.40 ^{xy}	1.06±0.15	4.67±1.88 ^x
MW40	0.14±0.01 ^{xy}	98.4±0.66 ^x	99.5±8.11 ^x	0.92±0.22	4.15±1.10 ^x
MW60	0.13±0.01 ^{yz}	98.0±0.89 ^x	86.1±5.33 ^{xy}	1.02±0.19	4.52±1.54 ^x
Two-way ANOVA					
Insects	NS	NS	NS	NS	NS
Inclusion ratio	NS	NS	NS	NS	NS
Insects×Inclusion ratio	NS	NS	NS	NS	NS

¹Phenoloxidase activity. ²Superoxide dismutase. ³Glutathione peroxidase. ⁴Nitro-blue tetrazolium. ⁵Crustin gene expression in shrimp hepatopancreas were normalized to β -actin and expressed relative to control. Values are mean of quadruplicates and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. Con, control; NS, not significant.

30%)의 어분대체율이 증가할수록 새우의 지질 함량이 증가한다고 보고하였다. 일반적으로 곤충의 지질 함량은 15-30%로, 변태기에 가까워 질수록 증가하는 경향을 보인다(Barroso et al., 2014). 곤충을 사육하는데 사용되는 먹이는 곤충의 체성분을 변화시키는 주된 요소로 알려져 있다(Barroso et al., 2014). 이번 연구에 사용된 동애등에의 지질함량(17.4%)은 어분(7%)에 비해 매우 높아 어분대체율이 증가할 경우 지방산 함량의 차이에 의해 새우의 체조성에 영향을 미칠 가능성이 높다고 판단된다. 사료 원료의 지질 함량이 높으면 원료 뿐만 아니라 사료도 산패되기 쉽다. 곤충박의 지질은 monounsaturated fatty acids (MUFA)의 함량이 높아(20-50%) 사료에 곤충박을 다량 사용할 경우, 지방산의 불균형으로 인해 어류의 성장과 사료 섭취의 감소와 같은 부작용을 초래할 수 있다(Nogales-Mérida et al., 2019). 따라서, 새우 사료 내 곤충박의 이용효율을 높이기 위해서는 탈지 혹은 발효 등의 가공을 거친 곤충박을 이용하는 것이 보다 효율적일 것으로 판단된다. 그러나, 곤충박의 가공처리에 따른 이용효과를 검증한 연구가 미흡하여, 이에 대한 보충 연구가 요구된다.

흰다리새우 사료 내 곤충박의 첨가는 새우의 비특이적 면역력 (crustin, PO)과 항산화력 (SOD, GPx)을 증진시키는 것으로 나타났다. 곤충은 종에 따라 차이를 보이나 대체로 체내에 antimicrobial peptides (AMPs)를 함유하고 있다. 곤충의 AMPs는 병원균의 세포벽을 뚫고 세포 내로 침투하여 RNA와 DNA의 정상적인 발현을 억제한다(Nicolas, 2009; Jozefiak and Engberg, 2017). 사료 내 AMPs의 첨가는 닭, 돼지 등의 면역력을 증진시킬 수 있으며, 병원균의 내성을 일으키지 않기 때문에 천연 항생제로도 주목 받고 있다(Wu et al., 2012; Choi et al., 2013; Jozefiak and Engberg, 2017). Lee et al. (1998)은 갈색거저리에서 추출한 tenecin이 항균 활성을 띤다고 보고하였다. 동애등에도 AMPs의 일종인 defensin-like peptides를 함유하고 있다고 보고되었다(Hwang et al., 2008). Choi et al. (2018)은 흰다리새우 사료에 갈색거저리를 첨가할 경우, 실험새우의 β -1, 3-glucan binding protein (BGBP), prophenoloxidase (proPO), crustin의 발현량을 증가시켜 새우의 면역력을 증진시킨다고 보고하였다. Motte et al. (2019)의 연구에서도 흰다리새우 사료에 갈색거저리를 첨가할 경우, 조기폐사증후군(early mortality syndrome)의 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 질병 저항성을 향상시킨다고 보고하였다. 따라서, 동애등에와 갈색거저리를 사료 내 단백질원으로 이용할 경우, 흰다리새우의 면역력과 항산화력 증진에 일조할 것으로 판단된다.

Chitin은 곤충의 갑각을 구성하는 물질로써 대부분의 곤충에는 약 4-25% 정도 포함되어 있다(Henry et al., 2015). 이번 연구에 사용된 동애등에와 갈색거저리의 chitin 함량은 각각 5.11%와 3.24%로 나타났다(Table 1). Shiau and Yu (1998)는 grass shrimp *Penaeus monodon* 사료에 chitin (5%)을 첨가 했을 때 새우의 성장률이 대조구에 비해 유의적으로 높았다고 보고하

였다. Akiyama et al. (1992)은 새우의 원활한 성장을 위해서는 사료에 최소 0.5% 이상의 chitin이 첨가되어야 한다고 보고하였다. 갑각류와 어류 사료 내 chitin의 첨가는 성장률, 질병 저항성, 소장 용모의 기능을 향상시키는 것으로 보고되었다(Kumar et al., 2006; Powell and Rowley, 2007; Zaki et al., 2015). Tzuc et al. (2014)에 따르면, 흰다리새우는 소화관에 chitin 분해효소인 chitinase를 분비하는 미생물이 존재한다고 보고하였다. 닭을 대상으로한 연구에서 chitinase의 활성은 장 내 *Lactobacillus*의 수를 증가시키고 *Escherichia coli*와 *Salmonella sp.*의 증식을 억제한다고 보고되었다(Khempaka et al., 2011). 이번 연구에서도 곤충박의 chitin이 흰다리새우의 성장과 면역력 증진에 직·간접적으로 영향을 끼쳤을 것으로 판단된다. 새우사료 내 chitin의 직접적인 첨가 효과에 대한 작용기전이 밝혀지지 않아 이에 관한 후속 연구가 요구된다.

Lauric acid (LA)는 동애등에의 지질 중 21-50%를 차지하는 주요 지방산으로 알려져 있다(Sealey et al., 2011; Kroeckel et al., 2012; Li et al., 2016). 이번 연구에 사용된 동애등에의 LA 함량은 23%로 어분(0.1%)과 갈색거저리(0.41%)에 비해 매우 높았다(Table 1). LA는 중쇄지방산의 일종으로 긴사슬지방산에 비해 빠르게 체내로 흡수된다(Stubbs and Harbron, 1996). 중쇄지방산은 지방산이 미토콘드리아의 막을 통과 할 때 필요한 carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1)과의 작용을 거치지 않으며, 대부분 에너지 대사과정에 바로 이용되어 다른 지방산에 비해 체내에 축적되는 정도가 비교적 낮은 것으로 알려져 있다(Garlid et al., 1996). Belghit et al. (2019)은 사료에 동애등에 오일을 첨가할 경우, 대서양연어의 간 내 triacylglycerol의 농도가 감소된다고 보고하였다. LA는 그람양성균과 일부 바이러스의 세포벽과 결합하여 이를 파괴시키며, 병원체의 신호 전달과 전사를 억제하여 항균 활성을 띤 것으로 알려져 있다(Dayrit, 2015).

또한, LA는 생체 내에서 lipase 효소와 반응하여 강한 항균 활성을 가지는 monolaurin, 1-monolaurin (MLG) 등으로 전환된다(Schlievert et al., 1992). 이번 연구에서 동애등에의 첨가에 따른 새우의 성장과 면역력의 증진은 동애등에 분말에 다량 포함되어 있는 LA의 역할이 컸을 것으로 추측된다.

따라서 두 곤충박을 사료에 적정량으로 첨가하면 흰다리새우의 성장, 사료효율, 비특이적 면역력, 항산화력을 증진시킬 수 있으며, 악영향 없이 사료 내 어분을 동애등에는 60%, 갈색거저리는 40%까지 대체 할 수 있을 것으로 판단된다. 갈색거저리 보다는 동애등에의 이용 효과가 더 클 것으로 생각되며, 갈색거저리의 다량 사용은 오히려 흰다리새우의 성장을 방해할 수 있을 것으로 사료된다. 현재 곤충박은 대량생산 체계와 연구개발의 부재, 낮은 수요로 인해 어분에 비해 비싼 가격이 거래되고 있다. 그러나, 위와 같은 산업적·경제적 문제가 해결된다면, 가까운 미래에 사료 내 주요 단백질원으로써의 이용가치가 매우 높다고 판단된다.

사 사

이 논문은 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2019R1A6A1A03033553)과 이공학개인지초연구(NRF-2018RID1A3B07046053)입니다.

References

- Akiyama DM, Dominy WG and Lawrence AL. 1992. Penaeid shrimp nutrition. In: Marine shrimp culture principles and practice. Fast AW and Lester LJ, 1st ed, Elsevier Science Publishers, New York, NY, U.S.A., 535-568.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, U.S.A. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Barroso FG, de Haro C, Sánchez-Muros MJ, Venegas E, Martínez-Sánchez A and Pérez-Bañón C. 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422, 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>.
- Belghit I, Waagbø R, Lock EJ and Liland NS. 2019. Insect-based diets high in lauric acid reduce liver lipids in freshwater *Atlantic salmon*. *Aquac Nutr* 25, 343-357. <https://doi.org/10.1111/anu.12860>.
- Choi IH, Kim JM, Kim NJ, Kim JD, Park C, Park JH and Chung TH. 2018. Replacing fish meal by mealworm *Tenebrio molitor* on the growth performance and immunologic responses of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Acta Sci* 40, e39077. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.39077>.
- Choi SC, Ingale SL, Kim JS, Park YK, Kwon IK and Chae BJ. 2013. An antimicrobial peptide-A3: effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. *Br Poult Sci* 6, 738-746. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.838746>.
- Cummins Jr, VC, Rawles SD, Thompson KR, Velasquez A, Kobayashi Y, Hager J and Webster CD. 2017. Evaluation of black soldier fly *Hermetia illucens* larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 473, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.022>.
- Dayrit FM. 2015. The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. *J Am Oil Chem Soc* 92, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. The state of world fisheries and aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. FAO Report, 227.
- Garces R and Mancha M. 1993. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal Biochem* 211, 139-143. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1244>.
- Garlid KD, Orosz DE, Modrianský M, Vassanelli S and Jezek P. 1996. On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein. *J Biol Chem* 271, 2615-2620. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.5.2615>.
- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW and Overturf K. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac Res* 38, 551-579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- He Y, Galagarza OA, Wang H, Taylor ZW, Ferguson CS, Ogejo JA and Wiersema BD. 2020. Protein-rich product recovered from brewer's spent grain can partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Res* 51, 3284-3296. <https://doi.org/10.1111/are.14664>.
- Henry M, Gasco L, Piccolo G and Fountoulaki E. 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Anim Feed Sci Technol* 203, 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>.
- Hernández-López J, Gollas-Galván T and Vargas-Alboreo F. 1996. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 113, 61-66. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02033-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02033-0).
- Hwang JS, Kang BR, Kim SR, Yun EY, Park KH, Jeon JP and Kim IS. 2008. Molecular characterization of a defensin-like peptide from larvae of a beetle, *Protaetia brevitarsis*. *Int J Indust Entomol* 17, 131-135.
- Jozefiak A and Engberg RM. 2017. Insect proteins as a potential source of antimicrobial peptides in livestock production. A review. *J Ani Feed Sci* 26, 87-99. <https://doi.org/10.22358/jafs/69998/2017>.
- Khempaka S, Chitsatchapong C and Molee W. 2011. Effect of chitin and protein constituents in shrimp head meal on growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbial populations, volatile fatty acids, and ammonia production in broilers. *J Appl Poult Res* 20, 1-11. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00162>.
- KOSIS (Korea Statistical Information Service). 2020. Survey on the status of aquaculture. Retrieved from http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/1/1/index.board?bmode=read&aSeq=380812 on Dec 8, 2020.
- Kroeckel S, Harjes AG, Roth I, Katz H, Wuertz S, Susenbeth A and 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, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>.
- Kumar P, Sahu NP, Saharan N, Reddy AK and Kumar S. 2006. Effect of dietary source and level of chitin on growth and survival of post-larvae *Macrobrachium rosenbergii*. *J Appl Ichthyol* 22, 363-368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00757.x>.

- Lee KH, Hong SY and Oh JE. 1998. Synthesis and structure-function study about tenecin 1, an antibacterial protein from larvae of *Tenebrio molitor*. FEBS letters 439, 41-45. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)01333-7](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)01333-7).
- Li S, Ji H, Zhang B, Tian J, Zhou J and Yu H. 2016. Influence of black soldier fly *Hermetia illucens* larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Aquaculture 465, 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.020>.
- Lock ER, Arsiwalla T and Waagbø R. 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon *Salmo salar* posts molt. Aquac Nutr 22, 1202-1213. <https://doi.org/10.1111/anu.12343>.
- MAFRA (Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs). 2019. The investigation of insects industry 2018. Retrieved from <https://www.mafra.go.kr/bbs/mafra/65/320711/art-clView.do> on Dec 08, 2020.
- Magalhães R, Sánchez-López A, Leal RS, Martínez-Llorens S, Oliva-Teles A and 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>.
- McLean E, Barrows FT, Craig SR, Alfrey K and Tran L. 2020. Complete replacement of fishmeal by soybean and poultry meals in Pacific whiteleg shrimp feeds: Growth and tolerance to EMS/AHPND and WSSV challenge. Aquaculture 527, 735383. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735383>.
- Motte C, Rios A, Lefebvre T, Do H, Henry M and Jintasataporn O. 2019. Replacing fish meal with defatted insect meal (Yellow Mealworm *Tenebrio molitor*) improves the growth and immunity of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Animals 9, 258. <https://doi.org/10.3390/ani9050258>.
- Nicolas P. 2009. Multifunctional host defense peptides: intracellular-targeting antimicrobial peptides. FEBS J 276, 6483-6496. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07359.x>.
- Nogales-Mérida S, Gobbi P, Józefiak D, Mazurkiewicz J, Dudek K, Rawski M and Józefiak A. 2019. Insect meals in fish nutrition. Rev Aquac 11, 1080-1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>.
- Pakravan S, Akbarzadeh A, Sajjadi MM, Hajimoradloo A and Noori F. 2017. Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. Aquac Res 48, 5576-5586. <https://doi.org/10.1111/are.13379>.
- Panini RL, Freitas LEL, Guimarães AM, Rios C, da Silva MFO, Vieira FN and Amboni RD. 2017. Potential use of mealworms as an alternative protein source for Pacific white shrimp: digestibility and performance. Aquaculture 473, 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.008>.
- Powell A and Rowley AF. 2007. The effect of dietary chitin supplementation on the survival and immune reactivity of the shore crab, *Carcinus maenas*. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 147, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.12.027>.
- Rahimnejad S, Hu S, Song K, Wang L, Lu K, Wu R and Zhang C. 2019. Replacement of fish meal with defatted silkworm (*Bombyx mori* L.) pupae meal in diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 510, 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.054>.
- Ravi C, Jeyashree A and Devi KR. 2011. Antimicrobial peptides from insects: an overview. Res Biotechnol 2, 1-7.
- Richard L, Blanc PP, Rigolet V, Kaushik SJ and Geurden I. 2010. Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilisation efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. Br J Nutr 103, 984-995. <https://doi.org/10.1017/s0007114509992844>.
- Rosen H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. Arch Biochem Biophys 67, 10-15. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(57\)90241-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(57)90241-2).
- Schlievert PM, Deringer JR, Kim MH, Projan SJ and Novick RP. 1992. Effect of glycerol monolaurate on bacterial growth and toxin production. Antimicrob Agents Chemother 36, 626-631. <https://doi.org/10.1128/aac.36.3.626>.
- Sealey WM, Gaylord TG, Barrows FT, Tomberlin JK, McGuiire MA, Ross C and St-Hilaire S. 2011. Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. J World Aquac Soc 42, 34-45. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00441.x>.
- Shiau SY and Yu YP. 1998. Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus monodon*. J Nutr 128, 908-912. <https://doi.org/10.1093/jn/128.5.908>.
- Song YS, Kim MW, Moon C, Seo DJ, Han YS, Jo YH and Jung WJ. 2018. Extraction of chitin and chitosan from larval exuvium and whole body of edible mealworm, *Tenebrio molitor*. Entomol Res 48, 227-233. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12304>.
- Strickland JDH and Parsons TR. 1972. Determination of ammonia In: A Practical Handbook of Seawater Analysis, 2nd eds. Fishery Research Board of Canada. Alger Press Ltd., Ottawa, Canada, 87.
- Stubbs RJ and Harbron CG. 1996. Covert manipulation of the ratio of medium-to long-chain triglycerides in isoenergetically dense diets: effect on food intake in ad libitum feeding men. International journal of obesity and related metabolic disorders. Int J Obes 20, 435-444.
- Tzuc JT, Escalante DR, Herrera RR, Cortés GG and Ortiz MLA. 2014. Microbiota from *Litopenaeus vannamei*: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Springerplus 3, 280. <https://doi.org/10.1186/s13063-014-0280-2>.

org/10.1186/2193-1801-3-280.

- Van Huis A, van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G and van tome P. 2013. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO report, 171.
- Wu S, Zhang F, Huang Z, Liu H, Xie C, Zhang J and Qiao S. 2012. Effects of the antimicrobial peptide cecropin AD on performance and intestinal health in weaned piglets challenged with *Escherichia coli*. *Peptides* 2, 225-230. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.03.030>.
- Zaki MA, Salem M, El-S Gaber MM and Nour AM. 2015. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, feed utilization, body composition and histology of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *World J Engin Technol* 3, 38-47. <https://doi.org/10.4236/wjet.2015.34c005>.
- Zhang SP, Li JF, Wu XC, Zhong WJ, Xian JA, Liao SA and Wang AL. 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol* 34, 1131-1138. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>.