

NHỮNG CÂN NHẮC VỀ PHÚC LỢI KHI NUÔI RUỒI LÍNH ĐEN, *HERMETIA ILLUCENS* (DIPTERA: STRATIOMYIDAE): MỘT MÔ HÌNH CHO NGÀNH CÔNG NGHIỆP CÔN TRÙNG LÀM THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI

Tên bài gốc:

*Welfare considerations for farming black soldier flies, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): a model for the insects as food and feed industry*

Tác giả:

Barrett, M., Chia, S.Y., Fischer, B., Tomberlin, J.K.

Xuất bản trong: *Journal of Insects as Food and Feed*, năm 2023, volume 9, issue 2

DOI: <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0041>

Giấy phép: Bài báo gốc được cấp phép theo Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0). Người dùng được phép sao chép, phân phối, trình bày, chuyển ngữ và tạo tác phẩm phái sinh, kể cả mục đích thương mại, với điều kiện phải ghi rõ tác giả gốc, nguồn xuất bản, và chỉ rõ đây là bản dịch.

Để biết chi tiết: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Bản dịch tiếng Việt:

Dịch bởi: *Huỳnh Nguyễn Nguyên Hạ*

Ngày hoàn thành: 19/11/2025

Link bài gốc: <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0041>

Original Title:

*Welfare considerations for farming black soldier flies, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): a model for the insects as food and feed industry*

Authors:

Barrett, M., Chia, S.Y., Fischer, B., Tomberlin, J.K.

Published in: *Journal of Insects as Food and Feed* (2023), Volume 9, Issue 2

DOI: <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0041>

License: The original article is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)** license. Users are permitted to copy, distribute, display, translate, and create derivative works, including for commercial purposes, provided that proper credit is given to the original authors, the source is cited, and it is clearly indicated that this is a translation.

For full license details: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Vietnamese Translation:

Translated by: *Huỳnh Nguyễn Nguyên Hạ*

Completion date: *19 November 2025*

Link to the original article: <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0041>

LỜI NGƯỜI DỊCH

Tài liệu này được dịch nhằm hỗ trợ cộng đồng nghiên cứu, nhà sản xuất và các tổ chức quan tâm đến phúc lợi côn trùng tại Việt Nam, đặc biệt trong bối cảnh ngành nuôi ruồi lính đen (BSF) đang phát triển mạnh. Một số thuật ngữ chuyên môn trong bài, như *lekking*, *maceration*, *substrate heterogeneity*, *sentience* hay các khái niệm về hành vi và sinh lý côn trùng, chưa phổ biến trong tài liệu tiếng Việt. Vì vậy, tôi lựa chọn dịch theo hướng:

- Giữ nguyên thuật ngữ tiếng Anh khi không có từ tiếng Việt tương đương hoặc khi thuật ngữ mang nghĩa rất đặc thù.
- Diễn giải thêm trong ngoặc khi cần, để đảm bảo người đọc dễ hiểu hơn.
- Giữ cấu trúc khoa học của bài gốc, hạn chế lược bỏ hoặc diễn giải chủ quan.

Một số tên hóa chất, tác nhân sinh học, vi sinh vật và quy trình kỹ thuật được giữ nguyên theo chuẩn quốc tế để tránh hiểu sai trong ứng dụng thực tiễn. Mọi sai sót dịch thuật, diễn giải chưa đầy đủ hoặc từ ngữ chưa tối ưu đều thuộc về người dịch, và tôi luôn sẵn lòng tiếp nhận góp ý để hoàn thiện hơn các bản dịch về sau.

Hy vọng bản dịch này sẽ góp phần thúc đẩy thảo luận và nhận thức về phúc lợi côn trùng trong ngành sản xuất ruồi lính đen tại Việt Nam – một chủ đề tuy mới nhưng ngày càng quan trọng khi quy mô nuôi trồng tăng nhanh trên toàn thế giới.

—*Nguyễn Hạ, Người dịch. Ngày 19 tháng 11 năm 2025*

TÓM TẮT

Hiện nay, mỗi năm có khoảng 200 - 300 tỷ cá thể ruồi lính đen (*Black Soldier Fly* – BSF, *Hermetia illucens*, Bộ Hai cánh *Diptera*, Họ Ruồi lính *Stratiomyidae*) được nuôi trên toàn thế giới, và ngành công nghiệp này dự kiến sẽ tăng trưởng mạnh mẽ trong thập kỷ tới. Ruồi lính đen đang được nghiên cứu và khai thác rộng rãi cho nhiều mục đích, bao gồm sản xuất thức ăn chăn nuôi cho gia súc, thay thế bột cá trong thủy sản và gia cầm, sản xuất nhiên liệu sinh học, quản lý chất thải hữu cơ từ con người, động vật và thực phẩm, cũng như cung cấp nguồn protein bền vững cho con người. Mặc dù số lượng côn trùng được nuôi công nghiệp rất lớn và mối quan tâm về phúc lợi của ruồi lính đen ngày càng gia tăng từ phía nhà sản xuất, giới nghiên cứu và người tiêu dùng, hiện vẫn chưa có nhiều nghiên cứu chuyên sâu về các yếu tố phúc lợi liên quan đến loài này trong điều kiện nuôi thương mại. Bài viết này tổng hợp và đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến phúc lợi ruồi lính đen, bao gồm: bệnh tật và ký sinh trùng, các điều kiện phi sinh học như nhiệt độ, độ ẩm, thông khí, ánh sáng, giá thể hóa nhộng và nhu cầu không gian của con trưởng thành; dinh dưỡng của cả ấu trùng và con trưởng thành; chấn thương và mật độ nuôi (chen chúc); căng thẳng do xử lý và thu hoạch; chọn giống và biến đổi di truyền; chất gây ô nhiễm từ môi trường; cùng phương pháp giết mổ và xử lý sau thu hoạch. Cuối cùng, chúng tôi thảo luận về các vấn đề phúc lợi quan trọng nhất mà ngành sản xuất ruồi lính đen đang phải đối mặt, đồng thời đề xuất khuyến nghị cải thiện điều kiện nuôi và định hướng nghiên cứu trong tương lai nhằm nâng cao hiểu biết về phúc lợi của loài này. Mặc dù nội dung tập trung vào BSF, các nguyên tắc cốt lõi được đề cập cũng có thể áp dụng cho những mô hình nuôi côn trùng thương mại khác hiện tại và trong tương lai, phục vụ sản xuất thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

1. GIỚI THIỆU

Khoảng 200-300 tỷ cá thể ruồi lính đen (BSF), *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae), được ước tính nuôi hàng năm, và ngành công nghiệp này được dự báo sẽ tiếp tục tăng trưởng (Rowe, 2020). Phần lớn BSF được nuôi công nghiệp bị giết mổ ở giai đoạn ấu trùng, mặc dù con trưởng thành cũng được nuôi làm đàn giống. Ấu trùng BSF được nuôi vì khả năng chuyển hóa sinh khối đáng kinh ngạc, bao gồm cả xử lý chất thải hữu cơ (Cicková et al., 2015; Lalander et al., 2015), cũng như thành phần dinh dưỡng thuận lợi để làm thức ăn cho gia súc và thú cưng ngoại lai. Ấu trùng BSF cũng có thể làm giảm phát thải khí nhà kính và các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi gây khó chịu liên quan đến quá trình phân hủy chất thải (Beskin et al., 2018; Pang et al., 2020; Popa và Green, 2012), và đang được nghiên cứu như một nguồn nhiên liệu diesel sinh học (Lee et al., 2021), một nguồn protein để nuôi sống dân số loài người đang gia tăng (Hopkins et al., 2021), một cách để cải thiện quản lý chất thải (Banks et al., 2013), và một cơ chế tăng trưởng kinh tế ở các quốc gia đang phát triển (Chia et al., 2019).

Mặc dù có số lượng cá thể côn trùng được nuôi rất lớn, và sự quan tâm đến phúc lợi BSF từ nhiều nhà sản xuất, học giả và người tiêu dùng (Bear, 2019, 2021; De Goede et al., 2013; Delvendahl et al., 2022; Erens et al., 2012; IPIFF, 2019), thông tin đặc thù theo loài liên quan đến phúc lợi của BSF nuôi công nghiệp hiện vẫn còn thiếu. Bài báo này trình bày một cách tiếp cận đối với việc đánh giá phúc lợi BSF, sinh học của BSF, các thực hành chăn nuôi hiện nay trong ngành, và nhiều biến số có thể ảnh hưởng đến phúc lợi BSF trong quá trình chăn nuôi và giết mổ, vì đây là bài báo toàn diện đầu tiên, đặc thù theo loài, về phúc lợi BSF trong ngành công nghiệp này. Chúng tôi kết thúc bằng các khuyến nghị để cải thiện phúc lợi, các lĩnh vực đáng quan tâm trong tương lai đối với phúc lợi BSF khi ngành tiếp tục phát triển, và một danh sách các hướng nghiên cứu trong tương lai cần thiết để cải thiện phúc lợi BSF trong điều kiện chăn nuôi công nghiệp.

Khung phúc lợi côn trùng

Lý thuyết chủ đạo về phúc lợi động vật tập trung vào các trạng thái chủ quan của động vật: phúc lợi của một động vật là cách con vật đó đang trải nghiệm cuộc sống từ góc nhìn của chính nó. Theo lý thuyết này, việc động vật có trạng thái chủ quan hay không, và cụ thể là chúng có các trạng thái chủ quan mang giá trị tích cực và tiêu cực hay không, có ý nghĩa rất quan trọng. Những động vật có các trạng thái như vậy được coi là có tri giác (sentient). Câu hỏi liệu côn trùng có tri giác hay không vẫn còn xa mới được giải quyết

(để thảo luận, xem Adamo, 2016; Barron và Klein, 2016; Birch, 2020; Lambert et al., 2021) và nằm ngoài phạm vi bài báo này. Ở đây, chúng tôi áp dụng nguyên tắc phòng ngừa: vì côn trùng có thể có tri giác, chúng ta nên đối xử với chúng như thể chúng có tri giác (Birch, 2017; Mikhalevich và Powell, 2020; Van Huis, 2021).

Cách tiếp cận này có thể bị coi là quá thận trọng (mặc dù nguyên tắc phòng ngừa đã được một số nhà sản xuất côn trùng sử dụng để biện minh cho sự chú tâm của họ đến thực hành chăn nuôi dựa trên phúc lợi; Bear, 2021), tuy nhiên có nhiều lý do đạo đức và thực tiễn để thận trọng khi nói đến phúc lợi côn trùng. Thứ nhất, có sự bất đồng sâu rộng cả về khoa học ý thức nói chung lẫn khoa học về tri giác nói riêng (để có cái nhìn về phạm vi các lý thuyết hiện có, xem Browning và Birch, 2022; Del Pin et al., 2021). Do đó, mặc dù nhiều người có thể có trực giác mạnh mẽ rằng côn trùng nhiều khả năng không có tri giác, những trực giác đó không thể được coi là có sự đồng thuận khoa học. Thứ hai, có những lý do khiến các nhà nghiên cứu có thể không phát hiện được tri giác ở côn trùng ngay cả khi trên thực tế chúng có tri giác. Do những thách thức đáng kể xuất phát từ sự khác biệt về giải phẫu và hành vi giữa động vật có xương sống và không xương sống, rất ít nghiên cứu được thiết kế để kiểm tra các dấu hiệu của tri giác với độ tin cậy cao. Vì vậy, việc có ít bằng chứng ủng hộ hoặc phản đối tri giác ở côn trùng có thể không nói lên nhiều điều về việc liệu chúng có thực sự có tri giác hay không. Thứ ba, kể từ thời kỳ Cách mạng Khoa học, xu hướng lịch sử là hướng tới quan điểm cho rằng tri giác được phân bố rộng rãi hơn trong giới động vật – chứ không phải hẹp hơn (Proctor, 2012). Vì vậy, sẽ không có gì ngạc nhiên nếu khoa học trong tương lai cuối cùng kết luận rằng côn trùng có tri giác. Cuối cùng, có những lý do thực tiễn để ngành công nghiệp áp dụng các thực hành sẽ không phải sửa đổi sau này do áp lực từ công chúng hoặc cơ quan quản lý. Việc cải tổ lại các cơ sở sản xuất và quy trình vận hành tiêu chuẩn (SOP) có thể rất tốn kém cả về mặt tài chính lẫn quan hệ công chúng. Có vẻ khôn ngoan khi tránh những chi phí đó nếu có thể.

Nếu chúng ta áp dụng cách tiếp cận phòng ngừa, chúng ta sẽ phải đối mặt với câu hỏi khó là làm thế nào để đánh giá phúc lợi BSF. Một đề xuất thường gặp (Erens et al., 2012; IPIFF, 2019; Van Huis, 2021; nhưng xem Gjerris et al., 2016) là mở rộng mô hình năm quyền tự do (five freedoms) cho côn trùng. Theo mô hình có ảnh hưởng này về lợi ích của động vật (Brambell, 1965), động vật cần được nuôi giữ theo cách giúp chúng thoát khỏi: (1) đói và khát; (2) khó chịu; (3) đau đớn, chấn thương và bệnh tật; (4) được thể hiện hành vi bình thường; và (5) sợ hãi và đau khổ. Đề xuất của Erens et al. (2012) hữu

ích ở chỗ nắm quyền tự do (hiện nay thường được hiểu theo năm "lĩnh vực" – domains) đưa ra các mục tiêu cụ thể cho nhà sản xuất. Tuy nhiên, đối với côn trùng, có rất ít thông tin về cảm giác đau, sợ hãi, khó chịu hoặc đau khổ ở từng cá thể; và riêng đối với BSF, có rất ít thông tin về các hành vi tự nhiên của chúng. Do đó, việc sử dụng các khung đánh giá phúc lợi tiêu chuẩn chi tiết hơn để đánh giá phúc lợi côn trùng là một thách thức. Vì vậy, chúng tôi theo đuổi hai chiến lược để hiểu rõ hơn về phúc lợi BSF dựa trên tình trạng kiến thức hiện tại.

Thứ nhất, chúng tôi sử dụng tỷ lệ tử vong ở cấp độ quần thể như một chỉ số gần đúng (proxy) thô sơ cho phúc lợi chủ quan của từng cá thể – vốn, theo các giả định trên, là điều thực sự quan trọng. Ưu điểm của chỉ số gần đúng này là nó có thể được đánh giá một cách trực tiếp và rõ ràng là một dấu hiệu của căng thẳng ở cá thể. Và, nếu BSF có tri giác, thì có khả năng – mặc dù còn xa mới chắc chắn – rằng căng thẳng này sẽ gây ra các trạng thái chủ quan tiêu cực.

Thứ hai, chúng tôi thảo luận về các yếu tố cận tử (sublethal) có thể làm giảm phúc lợi BSF trong điều kiện công nghiệp. Các yếu tố như vậy bao gồm bệnh/ký sinh trùng, các điều kiện phi sinh học (nhiệt độ, độ ẩm/hơi nước, độ thoáng khí của chất nền, ánh sáng, chất nền hóa nhộng, và nhu cầu không gian của con trưởng thành), các cân nhắc về dinh dưỡng cho con trưởng thành và ấu trùng, chấn thương và tình trạng đông đúc, căng thẳng liên quan đến xử lý, chọn lọc giống và biến đổi di truyền, các chất gây ô nhiễm môi trường, và các phương pháp giết mổ. Phải thừa nhận rằng, ngoài việc gây tử vong, vẫn còn nhiều điều chưa chắc chắn về tác động đến phúc lợi của từng yếu tố này. Tuy nhiên, trong mỗi trường hợp, các yếu tố tương tự ở các loài động vật có xương sống được nuôi công nghiệp đều gắn liền với các tác động tiêu cực đến phúc lợi. Vì vậy, mặc dù cần nhiều nghiên cứu hơn nữa, có vẻ hợp lý khi rà soát những nguồn tiềm ẩn này của tình trạng phúc lợi kém.

Sinh học ruồi lính đen

Hiểu biết về sinh học của BSF là điều thiết yếu để đặt trong bối cảnh các mối quan ngại về phúc lợi có thể phát sinh trong điều kiện công nghiệp. BSF có nguồn gốc từ vùng Tân nhiệt đới (Neotropics) nhưng đã lan rộng ra hầu hết thế giới do toàn cầu hóa. Số thế hệ mỗi năm có thể chịu ảnh hưởng bởi sự thay đổi theo mùa của ánh sáng, nhiệt độ và/hoặc độ ẩm của khu vực (ví dụ Park et al., 2010); ở vùng nhiệt đới, BSF có thể sinh sản quanh năm.

Ấu trùng trải qua sáu giai đoạn (Kim et al., 2010), với giai đoạn cuối cùng sau khi ăn – giai đoạn "lang thang" (wandering) – đặc trưng bởi sự tăng cường quá trình sừng hóa (sclerotisation) và sự sẫm màu của lớp biểu bì từ màu kem chuyển sang nâu vào thời điểm hóa nhộng (pupariation). Ấu trùng sợ ánh sáng (photophobic) và tự vùi mình vào chất nền thức ăn hoặc chất nền hóa nhộng khô hơn. Thời gian phát triển và tăng trưởng của ấu trùng chịu ảnh hưởng mạnh bởi chế độ ăn và các điều kiện phi sinh học như nhiệt độ (từ mười ngày đến vài tháng). Quá trình hóa nhộng, giống như phát triển ấu trùng, có thể kéo dài từ vài tuần đến vài tháng, với giai đoạn nhộng trưởng thành (pharate adult) xuất hiện sau khoảng một ngày (Barros-Cordeiro et al., 2014).

Kích thước con trưởng thành có liên quan chặt chẽ đến việc ăn uống ở giai đoạn ấu trùng (ví dụ Addeo et al., 2021). Con đực và con cái trưởng thành trông giống nhau, mặc dù con đực thường có kích thước cơ thể nhỏ hơn (Jones và Tomberlin, 2019). Khác với bộ phận miệng phát triển tốt ở ấu trùng, cho phép chúng tiêu thụ nhiều loại chất nền trong quá trình phát triển (Kim et al., 2010), con trưởng thành có bộ phận miệng dạng vùi hút (sponging) để tiêu thụ chất lỏng (Oliveira et al., 2016; Rozkošný, 1982). Tùy thuộc vào sự sẵn có của thức ăn và nước, con trưởng thành BSF có thể sống từ 8-73 ngày (Nakamura et al., 2016); tuy nhiên, con trưởng thành BSF không cần ăn để sinh sản (Sheppard et al., 2002).

Sự giao phối của BSF có thể diễn ra trên mặt đất (Tingle et al., 1975) hoặc trong lúc bay (Copello, 1926). Con đực có thể bị thu hút bởi con cái đang "gọi" (calling) (Tingle et al., 1975) hoặc tham gia vào hành vi lekking (tụ tập để phô diễn và cạnh tranh), với hàng trăm con đực tụ tập trong một khu vực (có thể đóng vai trò như một yếu tố thu hút con cái; Tomberlin và Sheppard, 2001). Các con đực tại các điểm lek vật lộn với nhau trên không, cho đến khi một con rời đi; con đực cũng đuổi theo và tóm lấy con cái ngay giữa không trung. Dữ liệu về hình thái, thần kinh giải phẫu và hành vi cho thấy con đực sử dụng nhiều loại giác quan, bao gồm tín hiệu thị giác, hóa học, và/hoặc âm thanh, để định vị con cái (Barrett et al., 2022; Giunti et al., 2018; Heussler et al., 2018; Holmes, 2010; Klüber et al., 2020; Liu et al., 2020; Macavei et al., 2020; Nakamura et al., 2016; Oonincx et al., 2016; Schneider, 2020; Tingle, 1975; Tomberlin và Sheppard, 2002; Zhang et al., 2010).

Trong các lồng giao phối nuôi nhốt, con đực đã được ghi nhận là tham gia vào các "quả bóng" giao phối hung hăng (aggressive mating balls) gồm 4-12 cá thể trong các

chuồng lớn hơn. Con đực có cơ thể lớn hơn thường hung hăng hơn và thành công hơn trong giao phối (Jones và Tomberlin, 2021). Nghi thức tán tỉnh giữa đực và cái có thể theo một trình tự khuôn mẫu được mô tả chi tiết trong Julita et al. (2020), có thể bao gồm các yếu tố lựa chọn của con cái (Giunti et al., 2018). Con cái có thể giao phối nhiều hơn một lần (trong điều kiện nuôi nhốt; Jones và Tomberlin, 2021). Tuy nhiên, những con cái được cho là đã giao phối tại các địa điểm đẻ trứng có sự hiện diện của con đực trong tự nhiên thì không bị đuổi theo, cho thấy có một tín hiệu bên ngoài nào đó thể hiện tình trạng không sẵn sàng của chúng đối với những nỗ lực giao phối thêm (Tomberlin và Sheppard, 2001). Con cái đẻ trứng vào các khe nứt khô phía trên nguồn thức ăn, với khoảng 600-700 trứng/ổ (và thường chỉ một ổ trong suốt cuộc đời); con cái chưa giao phối cũng đẻ trứng không được thụ tinh.

BSF có hệ miễn dịch thích nghi cao, cho phép chúng sống trong các chất nền giàu vi sinh vật như phân động vật. Các nghiên cứu phiên mã học đã xác định được 57 peptide kháng khuẩn (AMP) hoạt động trong huyết tương (haemolymph) (Moretta et al., 2020; Vogel et al., 2018). Các AMP này ức chế hiệu quả sự phát triển của một số loại vi khuẩn, với khả năng có tác dụng đối với một số loại nấm và virus nhất định hiện vẫn chưa được nghiên cứu (Alvarez et al., 2019; Liu et al., 2008; Lopes et al., 2020; Moretta et al., 2020; Park et al., 2015; Vogel et al., 2018). Sự biểu hiện và hoạt tính kháng khuẩn của các AMP này phụ thuộc vào chế độ ăn (mức độ cảm ứng cao khi chế độ ăn được bổ sung dầu thực vật và protein), nhiệt độ, chế độ cho ăn, và sự hiện diện của các vi sinh vật khác (Liu et al., 2008; Lopes et al., 2020; Vogel et al., đang in). Đặc tính kháng khuẩn của ấu trùng BSF cũng có thể có tác dụng có lợi đối với hệ miễn dịch của vật nuôi tiêu thụ chúng (De Souza Vilela et al., 2021).

Điều kiện chăn nuôi trong ngành công nghiệp

Điều kiện chăn nuôi công nghiệp rất đa dạng, vì các nhà sản xuất phải điều chỉnh theo sự khác biệt giữa các quần thể và địa điểm trong khi vẫn nâng cấp công nghệ sử dụng tại cơ sở của họ; hiện có rất ít nguồn tài liệu ghi nhận sự đa dạng này. Dưới đây là tổng quan ngắn gọn về một số thực hành trong ngành và, khi có thể, các nhận định về những gì có khả năng phổ biến nhất trong ngành hiện nay.

Thực hành chăn nuôi ấu trùng

Trứng có thể được ấp nở trong môi trường "vườn ươm", giúp ngăn ngừa sự lây lan mầm bệnh sang ấu trùng lớn tuổi hơn. Một số vườn ươm cung cấp "chế độ ăn đặc biệt,

chất lượng cao" cho ấu trùng mới nở, mặc dù thành phần của hỗn hợp này nhìn chung không được nêu rõ (Yang, 2019; nhưng thức ăn khởi động cho gà con được sử dụng với hàm lượng nước 70% trong Dortsman et al., 2017). Phần lớn thất bại trong việc ấp nở trứng ở điều kiện công nghiệp được cho là do "nhiệt độ cao và độ ẩm thấp", cho thấy việc quản lý các điều kiện này trong các cơ sở có thể là một thách thức. Con cái cũng có thể chưa giao phối, hoặc bị gián đoạn trong quá trình giao phối, dẫn đến trứng không thụ tinh và sẽ không bao giờ nở (tình trạng kém hiệu quả trong giao phối dường như khá phổ biến; Tomberlin, 2018).

Hiện tại ấu trùng được cho ăn các phụ phẩm từ rau củ, sữa và bánh, bã hèm bia hoặc bã chưng cất rượu, và thức ăn chăn nuôi, với kế hoạch ngắn hạn là mở rộng sang thực phẩm dư thừa và phụ phẩm động vật. Kế hoạch dài hạn đề xuất cho BSF ăn phân động vật, chất thải đô thị, và chất thải từ lò mổ, thịt hoặc cá, mặc dù những chất này có thể gây lo ngại về an toàn cho các sinh vật tiêu thụ sản phẩm BSF cuối cùng (Bessa et al., 2021; EFSA, 2015; FAO, 2021).

Mọi loại chất thải cung cấp cho ấu trùng đều phải được xử lý trước như một biện pháp để tối ưu hóa hệ thống và đảm bảo chất nền cung cấp điều kiện phù hợp cho việc nuôi ấu trùng. Việc này có thể bao gồm: tháo nước/tưới nước lại (thay đổi mức độ ẩm để tạo điều kiện nuôi tối ưu), kiểm tra các chất gây ô nhiễm môi trường có hại cho sự sống sót của ấu trùng, nghiền chất nền để giảm kích thước hạt, trộn nhiều loại chất nền để tạo ra chế độ ăn đa dạng và cân bằng hơn, và thậm chí lên men/cấy vi sinh vật vào chất nền để cải thiện hàm lượng dinh dưỡng, "thời hạn sử dụng" của chất thải, và tốc độ phân hủy (Dortsman et al., 2017; Yang, 2017b).

Các nhà sản xuất có thể sử dụng khay nhỏ có thể xếp chồng hoặc máng nuôi lớn để nuôi ấu trùng xử lý chất thải (Yang, 2017b). Với phương pháp khay, chất nền và ấu trùng 5 ngày tuổi (DOL – days-old larvae) từ vườn ươm được thêm vào cùng nhau trong các "larveros" để xử lý chất thải. Một phần nhỏ ấu trùng 5-DOL sẽ được giữ lại trong vườn ươm, để làm đàn giống trong tương lai. Số ấu trùng 5-DOL dư thừa bị loại bỏ (phương pháp không được mô tả). Khoảng 40.000 ấu trùng được cấp không gian 1 m², phân bố trên nhiều khay, tương đương mật độ khoảng 4 ấu trùng/cm² (Dortsman et al., 2017). Độ sâu chất nền thường không quá 5 cm, để tránh chất thải chưa xử lý tích tụ ở đáy. Thức ăn có thể được cho một lần với số lượng lớn, nhưng thường xuyên hơn là được cung cấp theo từng đợt nhỏ (cho ăn mỗi 3-5 ngày) để ngăn ngừa thối rữa và cho ăn quá mức. Các

hệ thống tự động (Yang, 2017b) đã giúp giảm chi phí nhân công liên quan đến việc cho ăn theo đợt.

Ấu trùng nuôi trong khay thường được thu hoạch bằng cách sử dụng sàng để phân loại ấu trùng theo kích thước. Vài ngày trước khi thu hoạch, việc thông gió chủ động cho chất nền làm giảm hàm lượng độ ẩm và giúp chất nền khô hơn, vụn hơn, dễ tách khỏi ấu trùng hơn. Có thể sử dụng sàng tự động hoặc sàng thủ công, nhưng hệ thống tự động thường được ưu tiên do giảm chi phí nhân công và tần suất rung lắc cao hơn giúp giảm thiểu thất thoát sản phẩm ấu trùng (Dortsman et al., 2017).

Máng nuôi lớn hơn mang tính truyền thống hơn, và thường dựa vào hệ thống cho ăn liên tục. Không giống như trong khay, ấu trùng trong máng có độ tuổi khác nhau và máng liên tục được bổ sung trứng và chất nền mới. Tiền nhộng tự thu hoạch bằng cách bò lên một đường dốc và vào thùng thu gom (Dortsman et al., 2017), nơi phần lớn sẽ bị giết mổ nhưng một số sẽ được phép hóa nhộng để làm giống. Toàn bộ máng thỉnh thoảng phải được làm trống, làm sạch, và nạp lại. Việc mở rộng quy mô thương mại cho phương pháp truyền thống này đã tỏ ra vô cùng khó khăn, và phương pháp khay (dù tốn nhiều nhân công hơn) có vẻ phổ biến hơn trong ngành.

Có rất ít thông tin về tỷ lệ sống sót của ấu trùng trong các cơ sở chăn nuôi. Tuy nhiên, Dortsman et al. (2017) cung cấp dữ liệu từ một cơ sở tại Indonesia:

- 70% trứng đã nở thành ấu trùng (30% không thụ tinh hoặc đã chết);
- 70% ấu trùng sẽ hóa nhộng;
- 80% nhộng sẽ nở thành con trưởng thành (nếu được tạo điều kiện).

Những dữ liệu này cho thấy còn nhiều dư địa đáng kể để cải thiện phúc lợi BSF trong điều kiện công nghiệp.

Chăn nuôi, giao phối và đẻ trứng ở con trưởng thành

Nhộng được giữ trong lồng tối, nơi chúng cuối cùng sẽ vũ hóa (eclose). Con trưởng thành sau khi vũ hóa có thể phân tán trong lồng đến khu vực mở nơi có ánh sáng mặt trời hoặc ánh sáng nhân tạo dành cho việc giao phối. Con trưởng thành mới vũ hóa có thể được giữ trong bóng tối vài ngày trước khi được cho tiếp cận với lồng giao phối được chiếu sáng tốt, nhằm ngăn ngừa giao phối và đẻ trứng, để luôn có sẵn nguồn "cá thể sinh sản tươi mới". Một lượng nhỏ ethyl acetate có thể được sử dụng để làm tê liệt con trưởng

thành nhằm thu thập số liệu cân nặng (Dortsman et al., 2017).

Con trưởng thành được nuôi trong lồng lưới (thường có thể tích từ 4,26 đến 19,5 m³) có lẽ ở những vị trí yên tĩnh, khuất, để tránh gián đoạn giao phối, hoặc bên trong nhà kính để có ánh sáng tự nhiên hoặc dùng đèn LED (thường được thiết kế riêng cho BSF). Con trưởng thành đôi khi được cung cấp cây nhân tạo hoặc cây thật trong lồng giao phối để khuyến khích hành vi lekking. Mật độ con trưởng thành thường không được nêu rõ, nhưng theo kinh nghiệm ngành, số lượng ruồi trưởng thành có thể lên đến hàng nghìn con mỗi lồng (Tomberlin, trao đổi cá nhân). Chúng được cung cấp bầy đẻ trứng ("eggies") bằng bìa cứng/gỗ màu nâu hoặc trắng, hoặc đôi khi bằng nhựa, để đẻ trứng vào, và thường chỉ được cung cấp nước (thường qua đài phun nước nông hoặc hệ thống phun sương để tránh chết đuối nếu có quá nhiều nước) và không có thức ăn. Con trưởng thành giao phối khi khoảng hai ngày tuổi, đẻ trứng khi khoảng bốn ngày tuổi (Tomberlin và Sheppard, 2002), và sống tổng cộng chỉ 8-14 ngày (Tomberlin et al., 2002a), ngắn hơn nhiều so với các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm với điều kiện dinh dưỡng/phi sinh học khác nhau. Thức ăn ẩm, đang phân hủy, đôi khi được cấy sẵn ấu trùng cùng loài, có thể được cung cấp để kích thích đẻ trứng, tương tự như điều kiện tự nhiên (Booth và Sheppard, 1984).

Có thể nuôi con trưởng thành trong cùng không gian với ấu trùng (Fischer và Romano, 2020) nhưng điều này có vẻ không phổ biến trong ngành (nhưng xem Yang (2017a), nơi ấu trùng nhỏ được cấy vào thức ăn đang phân hủy để lại trong lồng của con trưởng thành nhằm khuyến khích chúng đẻ trứng).

Giết mổ

BSF thường được giết mổ ở các giai đoạn cuối của quá trình phát triển chưa trưởng thành (mặc dù con trưởng thành cũng có thể bị giết mổ trước khi làm sạch và tái đàn lồng giao phối, nhưng với số lượng nhỏ hơn nhiều). Ấu trùng có thể bị ngưng cho ăn trong 24-48 giờ trước khi giết mổ (gọi là "giai đoạn ngừng cho ăn" – feed withdrawal period) để làm rỗng ruột ấu trùng. Nhà sản xuất cũng có thể bao gồm bước rửa bằng nước để loại bỏ chất gây ô nhiễm trên bề mặt ấu trùng (Larouche, 2019). Các phương pháp giết mổ hiện tại đối với ấu trùng BSF bao gồm: đông lạnh (trong không khí hoặc nitơ lỏng), nướng bằng lò đối lưu, rang trong cát hoặc dưới ánh nắng, quay vi sóng, luộc/chần, gây ngạt, và nghiền/xé nhỏ (EAWAG, không rõ năm; Larouche et al., 2019; Mat et al., 2021). Ấu trùng BSF cũng có thể được bán trước khi giết mổ và bị vật nuôi hoặc gia súc ăn sống mà không qua gây mê.

Sự đa dạng trong các phương pháp giết mổ được sử dụng có thể xuất phát từ chi phí, kiến thức, khả năng tiếp cận thiết bị, quy mô lô hàng, hoặc các đặc tính sản phẩm mong muốn. Ví dụ, quay vi sóng tạo ra ấu trùng "phồng lên" có thể hấp dẫn người tiêu dùng hơn so với ấu trùng cứng hơn, nhỏ hơn được tạo ra qua sấy đối lưu (EAWAG, không rõ năm). Cần lưu ý rằng phương pháp giết mổ cũng sẽ ảnh hưởng đến thành phần dinh dưỡng (Huang et al., 2018), cũng như mức độ oxy hóa lipid và ô nhiễm vi sinh vật, và màu sắc của sản phẩm cuối cùng (Larouche et al., 2019; Zhen et al., 2020). Có rất ít dữ liệu về các phương pháp cụ thể được các nhà sản xuất sử dụng, nhưng đông lạnh trong không khí, chân (đối với côn trùng nguyên con; Van Huis và Tomberlin, 2017), và nghiền (đối với côn trùng dạng bột) có thể là phổ biến.

2. ĐIỀU KIỆN NUÔI DƯỠNG VÀ PHÚC LỢI CỦA RUỒI LÍNH ĐEN (BSF)

Phúc lợi của ruồi lính đen (BSF) trong quá trình nuôi có thể chịu ảnh hưởng bởi: tương tác giữa các loài (mầm bệnh, ký sinh trùng và động vật ăn thịt), các điều kiện phi sinh học, dinh dưỡng, chấn thương và tình trạng quá đông, căng thẳng liên quan đến thao tác, biến đổi gen và chọn lọc giống, cũng như các chất gây ô nhiễm môi trường.

Tương tác giữa các loài

Mầm bệnh và bệnh tật

Bùng phát dịch bệnh là hiện tượng phổ biến ở nhiều quần thể động vật không xương sống được nuôi và có thể gây tỷ lệ tử vong đáng kể, cũng như gây đau khổ liên quan đến triệu chứng bệnh và làm mất đi các hành vi tự nhiên trước khi chết. Các triệu chứng bệnh ở côn trùng biểu hiện khác nhau tùy theo tác nhân gây bệnh, nhưng thường đi kèm với sự đau khổ trước khi có thể dẫn đến tử vong, bao gồm thay đổi hành vi, lơ đãng, nhiễm trùng huyết, bụng chướng, ngừng ăn và nhiều biểu hiện khác (Joosten et al., 2020).

So với các loài côn trùng nuôi khác, BSF có thể ít có nguy cơ xảy ra dịch bệnh trên quy mô lớn hơn. Tính đến năm 2015, chưa có một vụ dịch bệnh quy mô lớn nào được 20 nhà sản xuất BSF quốc tế báo cáo (Eilenberg et al., 2015), và ấu trùng có thể có khả năng kháng mầm bệnh tốt hơn nhờ hệ miễn dịch thích nghi đặc biệt của chúng (Joosten et al., 2020; Zdybicka-Barabas et al., 2017). Tuy nhiên, các ghi nhận không chính thức từ nhà sản xuất BSF cho thấy mầm bệnh là mối lo ngại nghiêm trọng hơn so với những gì tài liệu khoa học hiện có phản ánh: “có những loại nấm không mong muốn có thể gây hại cho đàn... và một số đợt tấn công dẫn đến xóa sổ toàn bộ quần thể... Một đợt nhiễm virus

thường giết chết hơn 90% ấu trùng” (Yang, 2017a) và “rất có khả năng bạn sẽ trải qua một đợt bùng phát dịch bệnh. Một số người thậm chí cho rằng điều đó là không thể tránh khỏi... [bạn sẽ] hiểu được sự thất vọng khi mất một phần hoặc toàn bộ đàn của mình” (Miranda, 2021).

Khi các cơ sở nuôi BSF tiếp tục mở rộng quy mô sản xuất, khả năng xảy ra dịch bệnh và phát hiện các mầm bệnh mới trong ngành sẽ càng cao hơn. Các loại virus côn trùng mới liên tục được phát hiện (ví dụ: Patterson et al., 2020; Yang et al., 2016), và mật độ nuôi cao đi kèm với sự đa dạng di truyền thấp (tình trạng thường gặp ở quần thể côn trùng nuôi) có thể dẫn đến sự xuất hiện của các bệnh có độc lực rất cao (Maciel-Vergara và Ros, 2017; Steinhaus, 1958). Các nhà nghiên cứu cho rằng số lượng mầm bệnh nấm được báo cáo ở BSF thấp hơn so với các loài Diptera khác là do thiếu nghiên cứu/lấy mẫu, chứ không phải do thực sự ít mầm bệnh tồn tại, vì hầu như tất cả các loài côn trùng tự nhiên đều là vật chủ của nấm gây bệnh côn trùng (Joosten et al., 2020; Meyling và Eilenberg, 2007).

Một số tài liệu về việc nuôi ấu trùng BSF trong phòng thí nghiệm hoặc cơ sở sản xuất có đề cập đến các vấn đề liên quan đến mầm bệnh nấm ở cả ấu trùng giai đoạn đầu lẫn giai đoạn cuối (Sheppard et al., 2002; Yang, 2017a). BSF được biết là dễ nhiễm nấm *Beauveria bassiana* (Lecocq et al., 2021), và các loài nấm thuộc chi *Entomophthora* cũng đã được ghi nhận gây nhiễm trên họ Stratiomyidae (dù chưa xác định được loài nấm và loài ruồi cụ thể; Balazy (1993); Eilenberg (2000)). Barrett (thông tin cá nhân) đã nhận được một lô nhộng bị nhiễm nấm từ một nhà sản xuất vào năm 2021, gây tỷ lệ tử vong 100% (loại nấm chưa xác định, xem Hình bổ sung S1). Một đoạn video của nhà sản xuất từ năm 2016 mô tả tình trạng nhiễm nấm chưa xác định xảy ra trong các khay ấu trùng, khiến chúng di chuyển chậm lại, ngừng ăn và cuối cùng chết. Đoạn video cũng ghi lại một bệnh đặc trưng theo loài, không thể điều trị, khiến ấu trùng chết chậm, ngăn cản cả quá trình biến thái lẫn quá trình vũ hóa (Symton BSF, 2016). Một báo cáo không chính thức khác (Lecocq, 2019) ghi nhận hiện tượng nhộng bị xoắn vặn, không thể vũ hóa, và những con trưởng thành có cánh bị dị dạng — cả hai đều chưa rõ nguyên nhân nhưng gợi ý khả năng nhiễm virus (tương tự virus gây biến dạng cánh ở ong mật *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae); Lanzi et al. (2006)).

Khi các nguồn thức ăn mới cho ấu trùng, mang theo hệ vi sinh vật mới, được đưa vào sử dụng, mầm bệnh có thể theo đó xâm nhập vào các cơ sở sản xuất. Joosten et al. (2020)

đã tổng hợp các loại nấm, vi khuẩn, động vật nguyên sinh và virus có khả năng là mối quan tâm quan trọng nhất cho các nghiên cứu về BSF trong tương lai. Ngoài tổng quan đó, virus *Penaeus merguensis* densovirus (PmergDNV) — vốn lây truyền giữa nhiều nhóm động vật không xương sống được nuôi (từ cua đến dế) — cũng có thể là mối quan tâm đối với BSF (Fauce và Owens, 2008). Các nhà nghiên cứu nên tập trung xác định các mầm bệnh có nguy cơ đe dọa BSF trước khi dịch bệnh bùng phát, nhằm triển khai các biện pháp phòng ngừa và chương trình nâng cao nhận thức cho nhà sản xuất. Do nhiễm nấm đã được nhiều nguồn ghi nhận ở BSF nuôi tại trang trại/phòng thí nghiệm, và các loài nấm như *Entomophthora* có lịch sử đồng tiến hóa lâu dài với bộ Diptera (Jensen và Eilenberg, 2001; Jensen et al., 2009), các nhà nghiên cứu nên ưu tiên tìm hiểu mức độ miễn dịch của BSF với các loài nấm mà: (a) phổ biến ở các loài động vật không xương sống nuôi khác; (b) có khả năng xuất hiện trong các chất nền dùng để nuôi ấu trùng BSF (ví dụ do được sử dụng trong kiểm soát sinh học); hoặc (c) được biết là có thể lây nhiễm cho các loài côn trùng hai cánh khác. Chỉ có 2 trong số 57 peptide kháng khuẩn (AMP) đã xác định ở BSF có đặc tính kháng nấm (Moretta et al., 2020), gợi ý rằng BSF có thể đặc biệt dễ bị tổn thương trước các tác nhân gây bệnh nấm.

Các nhà nghiên cứu cũng nên tìm hiểu những điều kiện nào có thể khiến các virus tiềm ẩn, không triệu chứng trở nên gây bệnh, tạo ra các đợt bùng phát đột ngột, nghiêm trọng và gây chết dai dẳng trong các hệ thống nuôi động vật không xương sống (Eilenberg et al., 2015; Weissmann et al., 2012). Tương tự, trong điều kiện căng thẳng hoặc quá đông, vi bào tử trùng (microsporidia) có thể gây ra các đợt dịch nhiễm trùng mạn tính diễn tiến chậm, dẫn đến dị tật cơ thể, chậm phát triển và chết sớm (Becnel và Andreadis, 2014; Bjornson và Oi, 2014; Franzen et al., 2005; Stentiford et al., 2016). Việc xác định chính xác những điều kiện tạo thuận lợi cho sự thay đổi về khả năng gây bệnh hoặc độc lực của vi sinh vật là một hướng nghiên cứu quan trọng khác trong tương lai. Mặc dù các bệnh gây chết là ưu tiên hàng đầu, các đợt bùng phát không gây chết cũng có thể ảnh hưởng đến phúc lợi của BSF.

Nhà sản xuất có thể thực hiện các biện pháp để quản lý nguy cơ dịch bệnh tiềm ẩn, ngay cả khi phần lớn các bệnh vẫn chưa được mô tả đầy đủ (Eilenberg et al., 2015, 2018; Joosten et al., 2020; Bảng 4). Cuối cùng, việc nuôi côn trùng trong điều kiện mô phỏng môi trường tự nhiên của chúng càng gần càng tốt có thể quan trọng trong việc ngăn ngừa dịch bệnh bùng phát và các mầm bệnh cơ hội (Erens et al., 2012), cũng như việc nuôi côn trùng trong các điều kiện phi sinh học không thuận lợi cho sự phát triển của mầm bệnh

(ví dụ: độ ẩm thấp hơn để hạn chế mầm bệnh nấm; Eilenberg et al. (2018)). Thông tin chi tiết hơn về các biện pháp phòng bệnh này và các biện pháp khác có thể được tìm thấy trong các bài tổng quan của Eilenberg et al. (2015, 2018) và Joosten et al. (2020).

Ký sinh trùng và ký sinh thể

Ngoài bệnh tật, các sinh vật ký sinh khác cũng có thể ảnh hưởng đến phúc lợi của BSF nuôi, bao gồm ve/mạt (Acari), ruồi họ Phoridae (Diptera: Phoridae), tuyến trùng (Nematoda) và ong bắp cày (Hymenoptera) — tất cả đều gây ảnh hưởng đến các loài Diptera khác (Khoobdel et al., 2019; Müller et al., 2017; Perez-Leanos et al., 2017). Một loài “ve đỏ” chưa xác định, có thể là loài săn mồi trên ấu trùng BSF hoặc chỉ đơn thuần là sinh vật cộng sinh, đã được ghi nhận trên ấu trùng nuôi trong thùng ủ phân tại Texas, Hoa Kỳ (Müller et al., 2017), và ve cũng được báo cáo không chính thức trên ruồi trưởng thành ở khu vực Tây Bắc Hoa Kỳ. Những con ruồi bị ve bám đầy người được quan sát thấy trở nên lờ đờ hơn và dành nhiều thời gian cố gắng làm sạch ve khỏi cơ thể nhưng không thành công (Jetson, 2020). Yang (2017a) ghi nhận rằng ve có thể xâm nhập theo các chất nền làm từ ngũ cốc và “gây phiền toái” cho BSF ở mọi giai đoạn sống.

Lô nhộng BSF mà Barrett (thông tin cá nhân) nhận được từ một nhà sản xuất vào năm 2021 có kèm theo một loài ve ăn tạp chưa xác định, bao phủ cả nhộng lẫn ấu trùng bộ cánh cứng họ Dermestidae đến cùng trong lô hàng (xem Hình bổ sung S1). *Macrocheles subbadius* (Mesostigmata: Macrochelidae) là một loài ve ăn tạp được biết đến với khả năng hút dịch máu (haemolymph) từ ruồi trưởng thành của các loài khác, làm giảm thể trạng của chúng và cản trở quá trình giao phối (Beresford và Sutcliffe, 2009; Perez-Leanos et al., 2017; Polak, 1996, 1998; Polak và Markow, 1995). Sự hiện diện của ve đã được chứng minh là gây tiêu hao năng lượng ở vật chủ, ngay cả khi chưa bị nhiễm (Luong et al., 2017), và trong một số điều kiện, tác động của *M. subbadius* có thể tương đương với tình trạng đói (Polak, 1996). Ve cũng đe dọa các loài ruồi khác được nuôi đại trà — cụ thể là ruồi giấm *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) (University of Cambridge, 2021) — và thậm chí đã được nghiên cứu như một tác nhân kiểm soát sinh học đối với ruồi nhà (ví dụ *Macrocheles muscaedomestica* (Mesostigmata: Macrochelidae), Ho (1985); Safaa et al. (2014)). Ve ngũ cốc là loài sống chung phổ biến khác của *Drosophila* và cũng có thể ảnh hưởng đến đàn BSF ăn chất nền ngũ cốc. Dù không trực tiếp săn mồi BSF, ve ngũ cốc có thể sinh sản nhanh với số lượng lớn, tiềm ẩn nguy cơ cạnh tranh thức ăn với ấu trùng BSF (Müller et al., 2017). Tương tự, ruồi họ Phoridae cũng không trực tiếp săn

mồi nhưng cạnh tranh thức ăn với ấu trùng BSF và có thể sinh sôi với số lượng lớn, khiến cơ sở nuôi trở nên bẩn hơn (Yang, 2017a) và có khả năng lây lan bệnh giữa các lô/khay nuôi.

Các loài tuyến trùng gây bệnh côn trùng đã được nghiên cứu như tác nhân kiểm soát sinh học đối với các loài gây hại thuộc bộ Diptera, một số loài có thể giết tới 80% ấu trùng, nhộng và con trưởng thành (Torrini et al., 2020). Nhiều loài tuyến trùng có phổ vật chủ rộng, như các loài *Heterorhabditis* (gây nhiễm ruồi nhà; Shapiro-Ilan et al. (2009)). *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) có khả năng gây nhiễm BSF (Tourtois et al., 2017). Trong khi nhiều loài tuyến trùng cần độ ẩm cao và có khả năng sống sót thấp trong một số loại phân chuồng nhất định (làm giảm xác suất nhiễm ấu trùng ruồi nhà; Georgis et al. (1987)), chất nền nuôi ấu trùng BSF thường có độ ẩm “dư thừa” (Cheng et al., 2017), điều này có thể làm tăng khả năng nhiễm tuyến trùng. Nhiễm tuyến trùng có thể gây tử vong nhanh với tỷ lệ cao ở ấu trùng (95% trong vòng sáu giờ ở một số trường hợp, nhưng thường gần đạt 100% sau hai ngày; Georgis et al. (1987), Shapiro-Ilan et al. (2009)), và ấu trùng BSF đã được chứng minh là dễ nhiễm nhiều loài tuyến trùng khác nhau, đặc biệt là trước giai đoạn ấu trùng tuổi 6 (Tourtois et al., 2017).

Ong ký sinh (Hymenoptera) vốn được dùng để kiểm soát quần thể ruồi gây hại trong nông nghiệp cũng có thể tấn công BSF (Tomberlin, chưa rõ năm) nếu bị đưa vào cơ sở nuôi cùng với chất nền dùng cho ấu trùng. Dù chỉ có ít loài ong cụ thể gây ảnh hưởng đến BSF được xác định, các loài ong họ Pteromalidae nhiều khả năng là ký sinh trùng của ấu trùng và/hoặc nhộng BSF, dựa trên việc chúng vốn ký sinh trên ruồi nhà (*Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)) và ruồi chuồng (*Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae)) (Skovgård, 2002; Tomberlin, chưa rõ năm; University of California Riverside, chưa rõ năm). Loài *Trichopria* sp. (Hymenoptera: Diapriidae) đã được quan sát thấy tấn công nhộng BSF trên các trang trại với tỷ lệ 21-32% trong các tháng mùa hè (Bradley et al., 1984; Mitchell et al., 1974), và cũng được phát hiện trong các cơ sở nuôi công nghiệp, nơi chúng “xuất hiện với số lượng lớn và... làm giảm tỷ lệ nhộng vũ hóa thành công” (Yang, 2017a). Ngoài ra, loài ong ký sinh ăn tạp *Dirhinus giffardii* (Hymenoptera: Chalcididae) cũng được phát hiện tại một cơ sở nuôi ở Ghana, gây chết tới 71% số nhộng trong một lô, với tỷ lệ tử vong trung bình 52% (Devic và Maquart, 2015).

Việc kiểm soát ve (và tuyến trùng) áp dụng nhiều biện pháp tương tự như kiểm soát các

bệnh khác: cách ly/vệ sinh mọi lô hàng/chất nền mới đưa vào cơ sở, làm sạch thùng nuôi, tay và dụng cụ trước khi sử dụng cho một quần thể ấu trùng mới, và thường xuyên dọn sạch mảnh vụn/rác thải trong cơ sở nuôi để ngăn quần thể ve và ruồi Phoridae hình thành bên ngoài thùng nuôi rồi xâm nhập trở lại (University of Cambridge, 2021). Các thùng nhiễm ve/tuyến trùng nên được cách ly và làm sạch ngay lập tức; đối với trường hợp ve, có thể làm sạch ấu trùng và chuyển sang chất nền mới, nhưng vẫn cần cách ly chúng khỏi các ấu trùng khác cho đến khi kiểm soát được sự xâm nhiễm. Kiểm soát sự xâm nhiễm của ong ký sinh có thể khó khăn hơn do khả năng di chuyển cao của chúng — tuy vậy vẫn nên áp dụng các biện pháp cách ly tương tự; nếu loài ong đó chỉ ký sinh ở giai đoạn nhộng, có thể kiểm soát bằng cách cách ly toàn bộ nhộng trước khi vệ sinh kỹ lưỡng cơ sở nuôi. Bẫy dính hiện cũng được sử dụng để kiểm soát ong ký sinh (Yang, 2017a) và có thể cả ruồi Phoridae trưởng thành (dù các loại bẫy này cũng đặt ra vấn đề phúc lợi đối với chính các loài côn trùng ký sinh mà chúng kiểm soát).

Động vật ăn thịt

Nhìn chung, động vật ăn thịt có lẽ không phải là mối lo ngại lớn đối với việc nuôi BSF; tuy nhiên kiến (Hymenoptera; Chia et al. (2018)), nhện (Araneae) và gián (Blattodea) cũng có thể săn mồi ấu trùng (Holmes, 2010; Holmes et al., 2017). Nên sử dụng các sản phẩm không gây chết làm cản trở sự di chuyển của côn trùng (như Insectaslip/Fluon) để ngăn chúng di chuyển giữa các vị trí làm tổ tiềm năng và thùng nuôi; hầu hết động vật chân đốt săn mồi có thể bị ngăn cản tiếp cận ấu trùng nhờ nắp lưới trên thùng nuôi hoặc bằng cách đặt chân bàn/giá nuôi vào các xô nước xà phòng.

Điều kiện phi sinh học

Các tác nhân gây căng thẳng phi sinh học có thể làm giảm phúc lợi động vật, hoặc thông qua tác động trực tiếp, hoặc bằng cách kết hợp cộng hưởng với các tác nhân sinh học/phi sinh học khác khiến tình trạng của sinh vật trở nên tồi tệ hơn (Polak, 1998).

Nhiệt độ

Các loài biến nhiệt như côn trùng phụ thuộc đặc biệt nhiều vào nhiệt độ môi trường để duy trì thân nhiệt tối ưu, do tỷ lệ trao đổi chất thấp và kích thước cơ thể thường nhỏ hơn (Huey và Stevenson, 1979; Wieser, 1973). Sinh vật thường có một khoảng nhiệt độ có thể sống sót (với biên độ chịu lạnh rộng hơn nhiều so với chịu nóng), và một dải nhiệt độ tối ưu/ưa thích hẹp hơn (Sinclair et al., 2016). Sống ngoài dải nhiệt độ ưa thích này có

thể gây ra những tác động bất lợi về phát triển, sinh lý hoặc hành vi đối với côn trùng (Harvey et al., 2020). Tuy nhiên, cần lưu ý rằng sự ưa thích đối với các yếu tố phi sinh học hoặc sinh học nhất định có thể khác nhau tùy quần thể. Nhà sản xuất nên xác định các yếu tố phi sinh học ảnh hưởng thế nào đến phúc lợi của quần thể cụ thể mà họ đang nuôi ở quy mô lớn.

Ngưỡng nhiệt độ thấp nhất để trứng BSF nở nằm trong khoảng 12-16°C; trứng ở 12°C trở xuống không thể nở (Chia et al., 2018; Holmes et al., 2016). Nhiệt độ khoảng 16°C làm chậm quá trình nở trứng tới 15 ngày (Holmes et al., 2016), trong khi ở 24-25°C trứng thường nở trong 4-5 ngày (Booth và Sheppard, 1984; Chia et al., 2018). Ngoài ra, nhiệt độ thấp còn làm giảm tỷ lệ trứng nở từ 75% ở 19°C xuống chỉ còn 11-13% ở 15-16°C (Chia et al., 2018; Holmes et al., 2016). Ngưỡng nhiệt độ thấp nhất cho sự phát triển của ấu trùng bị ảnh hưởng bởi quần thể (Dixon et al., 2009), giai đoạn thích nghi và chế độ ăn (Spranghers et al., 2017), nhưng được xác định là trong khoảng 16-19°C đối với BSF từ Texas, Hoa Kỳ (Holmes et al., 2016) và 10-15°C đối với BSF ở Kasarani, Kenya (Chia et al., 2018).

Nhiệt độ thấp cũng làm chậm sự phát triển và giảm tỷ lệ sống sót. Ở quần thể Texas, nhiệt độ 19°C làm kéo dài thời gian đến khi vũ hóa lên 72 ngày; chỉ 32% số ruồi sống đến tuổi trưởng thành. 100% ấu trùng không sống sót được ở nhiệt độ phát triển 16°C (Holmes et al., 2016). Ở quần thể Kenya, ấu trùng nuôi ở 15°C mất 181-184 ngày để phát triển, với tỷ lệ sống sót giảm dần qua từng giai đoạn: 83-87% đối với ấu trùng, 59-65% đối với giai đoạn tiền nhộng, và 49-62% đối với nhộng (Chia et al., 2018). Sự khác biệt giữa các quần thể có thể do biến dị di truyền (như sự khác biệt về thời gian phát triển và tăng trưởng quan sát được giữa các dòng trong nghiên cứu của Zhao et al. (2013), và mức độ biến dị di truyền cao giữa các quần thể được ghi nhận trong Ståhls et al. (2020)), hoặc do những khác biệt khác trong điều kiện nuôi mà các nghiên cứu này chưa kiểm soát được (ví dụ độ ẩm, v.v.), có thể tác động riêng lẻ hoặc cộng hưởng đến khả năng sống sót của ruồi.

Ngưỡng nhiệt độ cao nhất để trứng BSF nở nằm trong khoảng 40-42°C, mặc dù khả năng sống sót giảm mạnh từ 75% xuống 10% trong khoảng 35-37°C. 100% ấu trùng không thể sống đến tuổi trưởng thành ở nhiệt độ 37-40°C. Thời gian phát triển hoặc kéo dài hơn, hoặc không bị ảnh hưởng, khi nhiệt độ vượt quá 30°C (tùy thuộc vào chế độ ăn; Chia et al. (2018)). Thời gian phát triển ngắn nhất và tỷ lệ sống sót của ấu trùng cao nhất ở 30°C (Chia et al., 2018; Tomberlin et al., 2009). Sự khác biệt về ngưỡng nhiệt tối đa giữa các

nguyên cứu có thể do hiệu ứng chọn lọc khi nuôi đàn ở một nhiệt độ nhất định, hoặc do phương pháp nghiên cứu khác nhau; ví dụ, Tomberlin et al. (2009) xác định 36°C là nhiệt độ tối đa cho sự phát triển của ấu trùng, trong khi Lardé (1989) cho rằng ấu trùng có thể chịu được ít nhất 40°C; Chia et al. (2018) ước tính ngưỡng nhiệt tối đa nằm trong khoảng 37,2-44,0°C, còn Newby (1997) xác định là 47°C.

Con trưởng thành có dải nhiệt độ tối ưu khác với ấu trùng. Con trưởng thành nuôi ở 27°C sống lâu hơn so với nuôi ở 30°C (Tomberlin et al., 2009). Một nghiên cứu khác cho thấy tuổi thọ của cả con đực lẫn con cái tăng lên ở khoảng 20-25°C, không ảnh hưởng đến số lượng trứng đẻ ở 20°C, dù thời gian trước khi đẻ trứng có kéo dài hơn (Chia et al., 2018). Dữ liệu này trái ngược với các dữ liệu thực địa trước đó cho thấy gần 100% quá trình đẻ trứng diễn ra ở 27,5-37,5°C (Booth và Shepherd, 1984). Các nghiên cứu về ngưỡng nhiệt cực đại tối hạn cho thấy 44-46°C gây chết đối với con trưởng thành (Laursen et al., 2021). Tuổi và kích thước (nhưng không phải giới tính) quyết định nhiệt độ ưa thích ở con trưởng thành: con trưởng thành non (1 ngày sau vũ hóa) ưa nhiệt độ ấm hơn (28,7°C) so với con trưởng thành 7 ngày tuổi (19,2°C), trong khi con trưởng thành nhỏ hơn ưa nhiệt độ mát hơn so với con lớn hơn (Addeo et al., 2021). Đáng chú ý, trong nghiên cứu của Addeo et al. (2021), con trưởng thành không được cho ăn; do đó mối tương quan nghịch giữa tuổi và nhiệt độ ưa thích có thể liên quan đến việc giảm tỷ lệ trao đổi chất trong điều kiện đói, và kết quả này cần được kiểm chứng lại với nhóm con trưởng thành được cho ăn đầy đủ.

Tổng hợp lại, các dữ liệu này cho thấy nuôi BSF dưới 19°C hoặc trên 30°C có thể gây tỷ lệ tử vong đáng kể (hoặc giảm tuổi thọ) và nên tránh. Có khả năng tồn tại sự biến động đáng kể giữa các quần thể BSF, hoặc thậm chí có sự tương tác giữa chế độ ăn, quần thể và nhiệt độ, nhưng nhìn chung khoảng nhiệt độ tối ưu nhiều khả năng luôn gần mức 25-30°C. Cung cấp một dải nhiệt độ cho cả con trưởng thành và ấu trùng trong phạm vi ưa thích của chúng có thể giúp chúng tự điều chỉnh thân nhiệt thông qua việc lựa chọn vi khí hậu phù hợp.

Đối với ấu trùng BSF, tình trạng quá đông kết hợp với nhiệt sinh ra từ trao đổi chất và quá trình lên men hiếu khí của vi sinh vật trong chất nền có thể khiến BSF trải qua nhiệt độ cao ngay cả trong môi trường có vẻ được kiểm soát tốt (Lardé, 1989). Dữ liệu chưa công bố được đề cập trong Yang và Tomberlin (2020) cho thấy ấu trùng ăn tích cực trong thùng nuôi bằng nhựa ở nhiệt độ phòng (25-28°C) có thể tạo ra đủ nhiệt trao đổi chất tập thể để đạt tới 42°C — nhiệt độ gây chết 100% trứng và ấu trùng nếu kéo dài (Chia et al.,

2018). Do đó, quản lý nhiệt trong khu vực nuôi ấu trùng là một biện pháp can thiệp phức lợi quan trọng đối với BSF nuôi.

Giới hạn số lượng ấu trùng trên mỗi đơn vị thức ăn, đặt vách lưới ngăn trong thùng nuôi để chia tách ấu trùng, hoặc tạo thùng cho ăn có tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao để giảm mật độ ấu trùng trong chất nền — tất cả đều có thể giúp ngăn ngừa quá nhiệt. Giảm mật độ nuôi ấu trùng giúp tăng tỷ lệ sống sót, khối lượng cơ thể lớn hơn và thời gian phát triển chậm hơn (tỷ lệ sống sót tăng 10% khi so sánh mật độ 1-2 ấu trùng/cm³ với 10 ấu trùng/cm³; Dzepe et al. (2020); xem thêm Barragan-Fonseca et al. (2018), Paz et al. (2015)). Các biện pháp điều hòa nhiệt độ khác như thiết bị làm mát đối lưu hoặc phun nước mát định kỳ lên thức ăn cũng có thể giúp giảm nhiệt độ hiệu quả. Cuối cùng, nên theo dõi nhiệt độ trên toàn bộ cơ sở nuôi để kiểm tra tình trạng phân bố nhiệt không đồng đều (ví dụ: phân tầng nhiệt độ), có thể ảnh hưởng đến các thùng ấu trùng hoặc lồng con trưởng thành đặt tại các khu vực đó.

Độ ẩm

BSF tiến hóa trong vùng nhiệt đới, nơi độ ẩm tương đối (RH) thường rất cao (trung bình năm ở Brazil là 90%; Silva và Souza (2016)). Tuy nhiên, nhiều nhà sản xuất BSF hiện đặt cơ sở tại vùng ôn đới có RH thấp hơn, có thể khiến ruồi chịu căng thẳng do khô hạn. Các giai đoạn sống khác nhau của BSF có thể nhạy cảm khác nhau với căng thẳng do khô hạn, tùy theo vi môi trường của chúng (trứng, ấu trùng sau khi ăn, nhộng và con trưởng thành có mức tiếp xúc với không khí nhiều hơn ấu trùng đang ăn, nên RH có thể quan trọng hơn đối với các giai đoạn này) và đặc điểm sinh lý hô hấp/lớp biểu bì.

RH có tương quan thuận với hoạt động đẻ trứng của BSF cái trưởng thành: 80% số trứng được đẻ khi RH trên 60% (RH dao động từ 30-85%; Tomberlin và Sheppard (2002)). Việc giảm đẻ trứng ở RH thấp hơn có thể là cơ chế ngăn ngừa trứng bị khô (Tomberlin et al., 2002a). Trứng giữ ở RH 25% có tỷ lệ tử vong trên 90% và bị trì hoãn nở (Holmes et al., 2012); tuy vậy, mức RH thấp như vậy chỉ đặc trưng cho các vùng khô hạn (ví dụ Arizona hoặc Nevada ở Hoa Kỳ). Tuy nhiên, tỷ lệ trứng nở có tương quan chặt với RH — ngay cả ở RH 50%, hơn 60% số trứng không nở (so với 14-35% ở RH 70%; Holmes et al. (2012)). Một hướng dẫn nuôi của nhà sản xuất khuyến nghị RH khoảng 50% trong lồng giao phối — tác động của mức độ ẩm tương đối thấp này đến tỷ lệ giao phối/đẻ trứng và trứng nở không được bàn đến (Yang, 2017a). Độ ẩm cũng có thể ảnh hưởng đến khả năng bay của ruồi đực trong hoạt động giao phối, thông qua tác động lên độ linh hoạt

của cơ quan thăng bằng (halteres) (Parween và Pratap, 2015); cần thêm nghiên cứu để đánh giá tác động của RH đến khả năng thực hiện các hành vi giao phối tự nhiên trong lồng có kích thước khác nhau.

Tỷ lệ tử vong của ấu trùng sau khi ăn và nhộng tăng đáng kể ở RH 25% và 40% so với RH 70%. Chỉ khoảng 2-3% nhộng và ấu trùng sau khi ăn chết ở RH 70% (so với 62-65% ở RH 25%). Tuổi thọ con trưởng thành giảm từ gần 8 ngày ở RH 70% xuống chỉ còn khoảng 6,5 ngày ở RH 40% và khoảng 5 ngày ở RH 25% (Holmes et al., 2012). Các hướng dẫn nuôi BSF thường nhấn mạnh khả năng thích nghi của loài này với dải RH rộng (30-90%; Park (2016), Sheppard et al. (2002)); tuy nhiên, nếu coi tỷ lệ tử vong tăng là chỉ báo của điều kiện phúc lợi kém, dữ liệu trong Holmes et al. (2012) cho thấy trứng, nhộng, ấu trùng sau khi ăn và con trưởng thành đều bị suy giảm phúc lợi khi RH thấp hơn 70%. Do đó, 70% nên được xem là mức RH tối thiểu khi nuôi BSF. Các nghiên cứu trong tương lai về sức khỏe, hành vi và tỷ lệ sống sót trong khoảng RH 60-90% cũng sẽ rất có giá trị, đồng thời cần tính đến khả năng có sự khác biệt về mức chịu đựng RH giữa các quần thể.

Ấu trùng đang ăn tự vùi mình trong chất nền thức ăn, nên chịu ảnh hưởng chủ yếu bởi độ ẩm của chất nền hơn là RH không khí. Độ ẩm chất nền ảnh hưởng không chỉ đến căng thẳng do khô hạn mà còn đến hành vi ăn và sự di chuyển của ấu trùng, thông qua việc làm thay đổi mức khuếch tán oxy (xem mục “oxy”) và kết cấu chất nền (Makkar et al., 2014; Palma et al., 2018). Ví dụ, thức ăn gà giữ ở độ ẩm 45% (w/w) hình thành các cục vón trên bề mặt, buộc ấu trùng phải di chuyển xuống nửa dưới của chất nền; thức ăn gà giữ ở độ ẩm 75% có lớp màng nước mỏng trên bề mặt và ấu trùng chỉ được tìm thấy ở nửa trên (còn ở độ ẩm 55-65%, ấu trùng được tìm thấy ở mọi độ sâu; Bekker et al. (2021)).

Mức độ ẩm lý tưởng phụ thuộc rất nhiều vào loại chất nền. Ấu trùng BSF được ghi nhận có thể phát triển ở độ ẩm chất nền từ 10,0-97,5% (Fatchurochim et al., 1989; Lalander et al., 2020), nhưng nhìn chung mức độ ẩm 60-80% thường được coi là tối ưu cho sự phát triển, trọng lượng cơ thể và tỷ lệ sống sót (Bekker et al., 2021; Cammack và Tomberlin, 2017; Cheng et al., 2017; Dzepe et al., 2020; Palma et al., 2018). Ví dụ, ở độ ẩm 85% trong thức ăn gà, 100% ấu trùng chết — so với chỉ 19% ở độ ẩm 75% và 5-11% ở độ ẩm 45-65% (Bekker et al., 2021). Tuy nhiên, độ ẩm khoảng 40% trong chất nền vỏ hạnh nhân hoặc các chất nền gốc cellulose khác lại dẫn đến tỷ lệ tử vong ấu trùng 100%, trong khi độ ẩm 50-70% giúp tăng trưởng và trọng lượng cuối của ấu trùng tốt hơn (Cammack

và Tomberlin, 2017; Palma et al., 2018). Một nghiên cứu thứ ba trên chất thải thực phẩm cho thấy tỷ lệ sống sót trên 95% ở mức độ ẩm 75-85% (Cheng et al., 2017). Những dữ liệu này cho thấy mức độ ẩm lý tưởng phụ thuộc rất nhiều vào đặc tính của từng loại chất nền và cần được xác định bằng thực nghiệm đối với bất kỳ chất nền mới nào.

Một số nghiên cứu ghi nhận hiện tượng ấu trùng chết đuối ở độ ẩm cao trong chất nền có độ xốp thấp, ngay cả khi có thông gió chủ động (Lalander et al., 2020). Có thể quản lý độ ẩm bằng cách thêm cám lúa mì hoặc mùn cưa quanh mép ngoài chất nền để hút bớt độ ẩm dư thừa từ đáy, trong khi bổ sung độ ẩm mới ở phía trên (Yang, 2019), hoặc bằng cách thêm xơ dừa (coco peat) lên bề mặt chất nền để giảm thất thoát độ ẩm (Dortsman et al., 2017).

RH/độ ẩm cao có thể làm tăng mức độ mầm bệnh/ký sinh trùng — ví dụ, nấm phát triển nhiều hơn trong các buồng ẩm cao dành cho ấu trùng mới nở (Sheppard et al., 2002; xem mục “ký sinh trùng”). Ngoài ra, độ ẩm thấp dường như tạo điều kiện thuận lợi hơn cho quá trình vi sinh vật phân hủy chất nền so với sự phát triển của ấu trùng; sự cạnh tranh này có thể làm giảm phúc lợi của ấu trùng nếu coi tăng trưởng là một chỉ báo quan trọng (dù nhìn chung tỷ lệ sống sót không bị ảnh hưởng; Bekker et al. (2021)). Cần đặc biệt chú ý để cân bằng nhiều tác nhân gây căng thẳng phi sinh học và sinh học cùng lúc.

Oxy

Ấu trùng thường ăn ở lớp bề mặt sâu 2-4 cm của chất nền, nơi lượng oxy thường dồi dào. Tuy nhiên, một số nhà sản xuất có thể sử dụng lớp chất nền sâu hơn hoặc rất ẩm, khi đó cần sục khí để ngăn hình thành các vùng thiếu oxy gây ảnh hưởng xấu đến phúc lợi. Nhà sản xuất có thể đảo chất nền bằng tay (ví dụ dùng xẻng hoặc trống quay để đảo vật liệu và đưa không khí vào) hoặc sử dụng sục khí cưỡng bức (tăng thông gió chất nền bằng quạt, Lalander et al. (2020), hoặc dùng ống dẫn phân bố khắp chất nền để giải phóng khí ở tốc độ nhất định, Palma et al. (2018)). Thông gió chủ động có thể được dùng để tăng khuếch tán oxy, mặc dù theo Lalander et al. (2020), nó cũng làm giảm độ ẩm chất nền nhanh hơn so với thông gió thụ động. Hiện tượng khô do thông gió chủ động cũng có thể gây chết ấu trùng, khi chất nền co lại và ấu trùng bị dính vào các cạnh bã ở mép thùng rồi bị khô. Việc sục khí cho chất nền có thể gặp khó khăn khi lớp chất nền sâu có độ ẩm cao hoặc kết cấu dày đặc, làm chậm quá trình khuếch tán oxy từ bề mặt và tạo ra các vùng kỵ khí ở đáy chất nền mà ấu trùng phải tránh (Lardé, 1989). Nhìn chung, điều kiện thiếu oxy làm giảm sự phát triển thành công của ấu trùng. Tăng mức sục khí chất nền từ 0,04 lên

0,36 ml/phút/g làm tăng gấp ba trọng lượng ấu trùng thu hoạch được; tăng sức khí vượt quá 0,36 ml/phút/g không ảnh hưởng thêm đến sự tăng trưởng của ấu trùng (Palma et al., 2018).

Ấu trùng nhỏ đặc biệt dễ bị tổn thương trong môi trường độ ẩm cao, thiếu oxy vì chúng chưa đủ khỏe về thể chất (Yang, 2017a), khiến chúng khó khăn hơn khi phải len lỏi qua chất nền dày đặc, ẩm ướt để tạo ra các lỗ khí mà chúng có thể thở. Việc bổ sung các chất nền có mật độ thấp, độ cứng cao (cám lúa mì, cám gạo, mùn cưa) như một cách kiểm soát độ ẩm, tạo kết cấu toi xốp và hỗ trợ khuếch tán oxy thụ động sẽ giúp tăng tỷ lệ sống sót của ấu trùng mới nở. Giảm độ sâu của chất nền cũng giúp ấu trùng có thể trồi lên bề mặt nếu các lớp sâu hơn trở nên thiếu oxy, từ đó giảm nguy cơ ngạt thở.

Độ pH

Độ pH của chất nền có thể ảnh hưởng đến cả ấu trùng lẫn hệ vi sinh vật đường ruột của chúng, dẫn đến thay đổi về tỷ lệ sống sót và tốc độ tăng trưởng. Ấu trùng BSF có thể chịu đựng dải pH rộng, phát triển được ở pH chất nền ban đầu từ 2 đến 11. Tuy nhiên, giá trị pH 2-4 thường không tối ưu cho tăng trưởng và có thể làm giảm khả năng sống sót đến giai đoạn tiền nhộng (Ma et al., 2018; Meneguz et al., 2018; Pang et al., 2020). Chất nền có thể trở nên có tính axit (pH 4-5) khi được cung cấp quá nhiều, tạo ra điều kiện kỵ khí, sinh ra các sản phẩm phụ có tính axit từ quá trình phân hủy kỵ khí (Paz et al., 2015). Khi ấu trùng BSF chuyển hóa chất nền có pH ban đầu từ 4 đến 11, giá trị pH sau 10 ngày đều ổn định trong khoảng 8,5-9,5, cho thấy ấu trùng có khả năng điều chỉnh độ axit của môi trường thông qua các sản phẩm phụ từ quá trình tiêu hóa của chúng (Meneguz et al., 2018; Pang et al., 2020).

Ấu trùng thường đạt kích thước lớn nhất trong điều kiện ban đầu trung tính đến kiềm (Ma et al., 2018; Pang et al., 2020), mặc dù một số nghiên cứu không thấy khác biệt về tăng trưởng giữa các điều kiện pH (Meneguz et al. (2018); dù kích thước không hẳn là một chỉ báo đáng tin cậy về phúc lợi). Chất thải rau củ/nhà hàng/hộ gia đình và bã chùng cất ượat thường có pH từ axit đến trung tính, trong khi pH của phân chuồng phụ thuộc nhiều vào độ tuổi, loại và số lượng động vật tạo ra phân (từ axit đến hơi kiềm; Nahm (2003), Stewart et al. (2017), Sundberg et al. (2013)). Nhìn chung, độ pH dường như bị ảnh hưởng nhiều nhất bởi vi sinh vật sống trong chất nền.

Chất nền hóa nhộng

Ấu trùng sau khi ăn cần tìm một chất nền phù hợp để hóa nhộng. Vì ấu trùng thường được thu hoạch để giết mổ ở giai đoạn này, rất ít nghiên cứu đề cập đến độ phù hợp của chất nền hóa nhộng; tuy nhiên, ấu trùng được nuôi làm giống phải trải qua quá trình biến thái, nên chất nền hóa nhộng vẫn liên quan đến vấn đề phúc lợi trong bối cảnh công nghiệp này.

Ấu trùng sau khi ăn mất nhiều thời gian nhất để bắt đầu hóa nhộng, và có tỷ lệ sống đến tuổi trưởng thành thấp nhất, khi không được cung cấp chất nền nào (Holmes et al., 2013). Tỷ lệ sống sót giảm có thể liên quan đến việc tiêu hao năng lượng nhiều hơn khi đi lang thang tìm kiếm chất nền phù hợp. Trong số bốn loại chất nền được thử nghiệm — cát, đất mặt, đất và mùn cưa — những loại có độ nén cao hơn (cát, đất mặt) khiến thời gian đến khi hóa nhộng dài hơn và độ sâu chôn nhộng thấp hơn; điều này có thể do khó khăn vật lý khi đào qua các chất nền có độ xốp thấp, hoặc do các chất nền này kém thuận lợi vì lượng oxy sẵn có giảm. Mùn cưa cũng cho tỷ lệ con trưởng thành sống sót sau hóa nhộng cao nhất, gợi ý rằng đây có thể là chất nền hóa nhộng lý tưởng nhờ độ xốp cao (dễ di chuyển, nhiều oxy) và khả năng giữ ẩm (giảm nguy cơ khô) (Holmes, 2010; Holmes et al., 2013).

Cả việc đi lang thang lẫn việc chôn mình đều là “hành vi tự nhiên” ở giai đoạn sống này. Trong các hệ thống cho phép ấu trùng tự thu hoạch, chúng thường không được tiếp cận chất nền hóa nhộng và bị tước mất cơ hội thực hiện hành vi tự nhiên này trước khi bị giết mổ. Các nghiên cứu trong tương lai nên xem xét liệu ấu trùng sau khi ăn, nếu được cho phép lang thang trong một khoảng thời gian nhất định mà không có cả chất nền ấu trùng lẫn chất nền hóa nhộng, có bị căng thẳng khi không tìm được nơi hóa nhộng phù hợp hay không. Những dữ liệu này sẽ giúp định hướng lịch giết mổ, cách bố trí thùng nuôi ấu trùng sau khi ăn, cũng như việc cung cấp chất nền hóa nhộng trong các lô hàng ấu trùng sống, đã ăn no, gửi đến người tiêu dùng.

Ánh sáng

Điều kiện ánh sáng có thể ảnh hưởng đến cả hành vi phát triển lẫn sinh sản. Ấu trùng BSF sợ ánh sáng (Canary et al., 2009; Fisher và Romano, 2020; Newton, chưa rõ năm), và sẽ di chuyển để cố gắng trốn ánh sáng (Mat et al., 2021). Ấu trùng phát triển chậm lại một chút khi được nuôi trong buồng có cường độ ánh sáng cao hơn 10,6% với chu kỳ chiếu sáng 12:12 giờ (Holmes et al., 2012; tương tự như ở ấu trùng ruồi giấm, Bruins et al. (1991)). Chu kỳ chiếu sáng cũng có thể ảnh hưởng đến sự phát triển: ấu trùng nuôi

trong điều kiện hoàn toàn không có ánh sáng có tỷ lệ tử vong ở giai đoạn sau khi ăn cao hơn và thời gian phát triển dài hơn so với chu kỳ chiếu sáng 8:16 và 12:12 (nhưng điều này có thể liên quan đến sự sẵn môi: Holmes (2010), Holmes et al. (2017)). Nhìn chung, miễn là được cung cấp chất nền cho ăn đủ sâu, ấu trùng BSF có khả năng tránh được hầu hết ánh sáng. Nhà sản xuất có thể giữ nhộng trong bóng tối để làm lệch thời điểm vũ hóa của con trưởng thành, việc này dường như không ảnh hưởng xấu đến nhộng (nhưng lại ảnh hưởng xấu đến sự phát triển và sống sót của ấu trùng sau khi ăn; Holmes et al. (2017)).

Chu kỳ chiếu sáng và loại ánh sáng ảnh hưởng đến tuổi thọ và hành vi của con trưởng thành (đã được tổng quan trong Awal et al., 2022). Con trưởng thành sống lâu hơn trong điều kiện không có ánh sáng so với chu kỳ 12:12, dù có thể là do mức độ hoạt động giảm (Holmes, 2010); có khả năng nếu con trưởng thành được cung cấp dinh dưỡng đầy đủ (xem mục “dinh dưỡng của con trưởng thành” và Macavei et al. (2020)), sự khác biệt về tuổi thọ này sẽ biến mất. Ánh sáng mặt trời kích thích hoạt động của con trưởng thành, bao gồm cả hành vi giao phối, với cường độ ánh sáng tối thiểu cần thiết là $63 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, và phần lớn hoạt động giao phối diễn ra ở mức trên $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (Tomberlin và Sheppard, 2002). Cường độ ánh sáng mặt trời thấp hơn vào mùa đông hoặc khi thời tiết xấu có thể làm giảm đáng kể hoạt động giao phối (Park et al., 2010; Tingle et al., 1975), dù một số ít cá thể vẫn giao phối trong điều kiện không có ánh sáng theo Holmes (2010). Cường độ ánh sáng tăng dẫn đến tỷ lệ giao phối tăng (từ 23% lên 70%), cũng như thời điểm bắt đầu giao phối sớm hơn, ở BSF nuôi trong phòng thí nghiệm dưới đèn LED có đỉnh bước sóng tại 440 và 540 nm (các bước sóng mà một số thụ thể ánh sáng của BSF nhạy cảm nhất; Schneider, 2020). Ngược lại, Ooninex et al. (2016) không tìm thấy khác biệt về số lượng ấu trùng được tạo ra dưới các cường độ ánh sáng khác nhau.

Loại ánh sáng cũng được cho là quan trọng, nhưng các nghiên cứu lại không nhất quán — ví dụ, một số nghiên cứu báo cáo không có hiện tượng giao phối dưới nguồn sáng nhân tạo (Tomberlin và Sheppard, 2002), trong khi đèn huỳnh quang tiêu chuẩn trong phòng thí nghiệm với chu kỳ chiếu sáng 24 giờ lại hỗ trợ hành vi giao phối (Fisher và Romano, 2020). Các thử nghiệm với nhiều nguồn sáng nhân tạo khác nhau cho thấy tác động lên thành công giao phối phụ thuộc vào từng quần thể (Liu et al., 2020). Nhìn chung, đèn LED hỗn hợp (so với đèn LED trắng/đèn neon; Macavei et al. (2020)), đèn LED chuyên dụng cho BSF (so với đèn halogen, đèn LED trắng và đèn halide kim loại; Liu et al. (2020)), hoặc ánh sáng mặt trời cường độ cao (so với đèn thạch anh-iốt, đèn kim loại đất hiếm, và tổ hợp đèn LED trắng + đèn huỳnh quang; Nakamura et al. (2016), Zhang

et al. (2010)) cho kết quả tốt nhất đối với giao phối BSF trong nhiều nghiên cứu.

Việc thiếu kiểm soát các biến số quang học như tần số nhấp nháy của ánh sáng, cường độ, nhiệt độ màu, chu kỳ chiếu sáng, phổ bức xạ, độ phân cực, hoặc xung đột với nhịp sinh học (ví dụ thời điểm trong ngày) có thể lý giải phần lớn sự biến động đáng kể trong hành vi giao phối dưới các loại ánh sáng khác nhau, cùng với sự khác biệt giữa các quần thể. Nhiệt độ màu được phát hiện có ảnh hưởng đến thời điểm đẻ trứng cao điểm: đèn LED “ấm hơn” có thời điểm đẻ trứng cao điểm sớm hơn so với đèn “mát hơn” (Klüber et al., 2020). Ngoài ra, việc đồng nhất “trứng đã đẻ” với “trứng có khả năng sống” cũng khiến kết quả giữa các nghiên cứu khó so sánh — những nghiên cứu chỉ xem xét biến số về kích thước ổ trứng mà không trực tiếp kiểm tra khả năng sống của trứng có thể phản ánh không chính xác tác động của nguồn sáng lên hành vi giao phối (Heussler et al., 2018; Klüber et al., 2020). Việc sử dụng điều kiện ánh sáng phù hợp là yếu tố then chốt để khuyến khích hành vi giao phối tự nhiên ở BSF, và do đó đây là một vấn đề phức tạp đáng được nghiên cứu sâu hơn.

Nhiều nghiên cứu đề cập đến hiệu quả năng lượng của các loại đèn khác nhau dùng cho lồng giao phối, cho thấy ngành công nghiệp hiện có thể đang bị hạn chế bởi chi phí liên quan đến việc cung cấp nguồn sáng tối ưu cho việc giao phối BSF trong nhà (dù là chi phí đèn, hay chi phí sưởi ấm và duy trì nhà kính để tận dụng ánh sáng tự nhiên; Heussler et al. (2018), Liu et al. (2020)).

Con trưởng thành – nhu cầu không gian và đẻ trứng

Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận khó khăn trong việc đạt được giao phối thành công ở BSF trưởng thành do yêu cầu về không gian của các hành vi giao phối (Bảng 1), bao gồm màn tán tỉnh, rượt đuổi, thiết lập lãnh thổ, bảo vệ lãnh thổ một cách hung hăng, tập hợp lek (lekking) và giao phối — phần lớn các hành vi này diễn ra trên không (Giunti et al., 2018).

Giao phối vẫn xảy ra, nhưng giảm đáng kể, trong các lồng có thể tích khoảng 1 m³ hoặc nhỏ hơn so với các không gian lớn hơn. Julita et al. (2020) ghi nhận rằng hành vi lekking và các màn trình diễn giao phối xảy ra thường xuyên hơn ở lồng 3 m³ so với lồng 1 m³. Các hành vi quan sát được ở quần thể BSF hoang dã, như hành vi xoắn vòng và vật lộn giữa các con đực (Tomberlin và Sheppard, 2001), lại không được quan sát thấy trong lồng 1 m³ chỉ chứa 10 con đực và 1 con cái (Giunti et al., 2018). Dù giao phối vẫn có thể đạt được trong lồng nhỏ hơn, lồng lớn hơn dường như cho phép các hành vi tán tỉnh tự

nhiên hơn diễn ra.

Rất ít nghiên cứu đề cập đến hạn chế không gian đồng thời cũng nêu rõ mật độ nuôi con trưởng thành trong không gian đó, khiến việc diễn giải kết quả của chúng khó khăn hơn. Nakamura et al. (2016) cho thấy rõ ràng rằng mật độ con trưởng thành cao là yếu tố then chốt để giao phối thành công trong điều kiện không gian cực kỳ hạn chế ($0,27 \text{ m}^3$). Tuy nhiên, mật độ con đực cao có thể gây gia tăng tính hung hăng và giảm tuổi thọ ở các loài Diptera khác (ví dụ *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), Gaskin et al. (2002); *D. melanogaster*, Bretman et al. (2013)), và cả BSF lẫn loài họ hàng gần *Hermetia comstocki* (Diptera: Stratiomyidae) đều có hiện tượng con đực xung đột hung hăng với nhau (Alcock, 1990, 1993; Tomberlin và Sheppard, 2001). Trong khi con đực trưởng thành tự nhiên tập trung thành từng đám mật độ cao (lek), khả năng thoát khỏi các khu vực mật độ cao đó (và do đó tránh xung đột) có thể bị hạn chế trong lồng nuôi so với ngoài tự nhiên. Nhìn chung, các lồng giao phối nhỏ hơn nhiều khả năng không cho phép các hành vi giao phối tự nhiên diễn ra, và do đó là một vấn đề đáng lo ngại cả về phúc lợi lẫn hiệu quả sản xuất.

BSF trưởng thành có thể rất nhạy cảm với sự gián đoạn trong quá trình giao phối (Yang, 2017a), cho thấy lồng giao phối nên được đặt ở nơi ít người qua lại. Cây (thật hoặc nhân tạo) trong lồng giao phối có thể khuyến khích hành vi lekking mà con đực BSF thể hiện ngoài tự nhiên, nhưng không phải lúc nào cũng được đưa vào lồng do đòi hỏi chăm sóc nhiều hơn (Tomberlin, 2017).

Các nghiên cứu về bẫy trứng cho thấy gỗ và bìa cứng được ưa chuộng hơn (nhiều con cái ghé đến hơn) so với lá khô và nhựa (Julita et al., 2021). Bẫy trứng bìa cứng giá rẻ khá phổ biến trong ngành và không phải là vấn đề đáng lo ngại về phúc lợi. Tuy nhiên, bẫy trứng có thể là nguồn lây lan mầm bệnh, nên cần sử dụng loại dùng một lần hoặc loại bằng nhựa có thể rửa sạch. Con cái cũng có thể ưa đẻ trứng trên bề mặt màu xanh hơn là màu trắng (Romano et al., 2020). Con cái có thể ưa đẻ trứng gần các chất nền đã được cấy sẵn ấu trùng cùng loài (Furman et al., 1959, dữ liệu chưa công bố được trích dẫn trong Tomberlin et al., 2002a), tuy nhiên các nghiên cứu gần đây hơn không ủng hộ kết luận này (Tomberlin et al., 2002a). Dù vậy, con cái có thể bị thu hút bởi các hợp chất hóa học do vi sinh vật thường gắn liền với ấu trùng cùng loài tiết ra (Zheng et al., 2013). Các quan sát bổ sung trên quần thể hoang dã, cũng như các thí nghiệm trong phòng thí nghiệm, có thể giúp xác định liệu sự thu hút đối với ấu trùng cùng loài có phải là một “hành vi tự

nhiên” quan trọng đối với phúc lợi của BSF cái khi đẻ trứng hay không.

Dinh dưỡng

Dinh dưỡng của con trưởng thành

Con trưởng thành thường chỉ được cung cấp nước, thường qua hệ thống phun sương hoặc đài phun nước. Việc được tiếp cận nước giúp tăng tuổi thọ của ruồi đã giao phối từ khoảng 8 ngày lên đến 14 ngày (Macavei et al., 2020; Tomberlin et al., 2002a; Yang, 2017a).

BSF trưởng thành thường được nuôi mà không cho ăn, do quan niệm phổ biến cho rằng chúng có thể sống hoàn toàn nhờ nguồn năng lượng dự trữ tích lũy trong giai đoạn ấu trùng (Caruso et al., 2013; Sheppard et al., 2002; Yang, 2017a). Tuy nhiên, các quan sát thực địa cho thấy ruồi lính đen ngoài tự nhiên có ăn mật rệp (honeydew), mật hoa, và có thể cả phấn hoa lẫn mật ong (Beuk, 1990; Copello, 1926; James, 1981; Oldroyd, 1973). Khảo sát hình thái cho thấy bộ phận miệng của chúng đáp ứng đầy đủ các điều kiện để hút mật hoa (Oliveira et al., 2016; Rozkošný, 1982), và chúng có một hệ tiêu hóa hoạt động chức năng (Bruno et al., 2019). Các nghiên cứu gần đây cho thấy BSF trưởng thành sẽ ăn nhiều loại thức ăn dạng lỏng khác nhau nếu được cung cấp; ruồi ưa mật ong hơn nước đường trắng hoặc nâu, hoặc chỉ nước đơn thuần (Romano et al., 2020).

Ngoài yếu tố sở thích, BSF được nuôi riêng lẻ và không cho giao phối (giao phối có thể làm giảm tuổi thọ ở bộ Diptera; Chapman và Partridge (1996)) có tuổi thọ tăng đáng kể khi được tiếp cận nước đường — từ 21-22 ngày (chỉ có nước) lên 48-73 ngày (Nakamura et al., 2016). BSF đã giao phối cũng có tuổi thọ tăng khi được cho ăn nước đường (Bruno et al., 2019; Fisher và Romano, 2020; Macavei et al., 2020; Oonincx et al., 2016) hoặc thạch/sữa trộn với đường (Bertinetti et al., 2019). Hiện chưa có nghiên cứu nào so sánh nguồn thức ăn giàu protein với nguồn giàu carbohydrate (hoặc hỗn hợp), cũng như tác động của việc bổ sung các nguồn tự nhiên hơn như phấn hoa/mật hoa đến hành vi, khả năng sinh sản và tuổi thọ của BSF trưởng thành.

Ngoài ra, cần lưu ý rằng con đực và con cái đang/đã giao phối có thể được hưởng lợi từ các loại thức ăn khác nhau, do nhu cầu năng lượng khác nhau cho sinh sản (Harrison et al., 2012; Magwere et al., 2004; Wong et al., 2009). Điều này có thể lý giải tại sao nước đường làm tăng tuổi thọ con đực nhiều hơn con cái, trong khi thạch giàu protein và sữa lại làm tăng tuổi thọ con cái nhiều hơn con đực (Bertinetti et al., 2019; Nakamura et al., 2016). Việc con cái tiêu tốn nhiều năng lượng hơn cho sinh sản cũng có thể lý giải vì sao

tuổi thọ con cái thường thấp hơn con đực trong hầu hết các điều kiện chỉ cho uống nước (ví dụ Heussler et al., 2018; Tomberlin et al., 2009).

Những dữ liệu này cho thấy các thực hành hiện tại không đảm bảo cho BSF trưởng thành được “tự do không bị đói”, dẫn đến tử vong sớm do đói và tiềm ẩn nguy cơ đau khổ đáng kể. Việc cho BSF trưởng thành ăn không nên coi là bổ sung tùy chọn, mà là bắt buộc, xét về mặt phúc lợi động vật. Đáng tiếc, các nghiên cứu về dinh dưỡng con trưởng thành lại khuyến nghị chỉ cung cấp nước (Macavei et al., 2020) hoặc hoàn toàn không cho ăn gì (Bertineti et al., 2019) nhằm thúc đẩy đẻ trứng nhanh hơn và thu được số lượng trứng lớn nhất theo thời gian. Những cách làm này không đảm bảo tự do khỏi đói hoặc khát, bất kể tác động của chúng lên tỷ lệ đẻ trứng ra sao. Cũng có khả năng chế độ ăn toàn diện hơn (ví dụ có cả protein và đường) sẽ tốt hơn cho khả năng sống của trứng/kích thước ổ trứng, và các nghiên cứu trong tương lai nên kiểm tra những tác động này cùng các tác động khác của chế độ ăn con trưởng thành.

Nên cung cấp thức ăn trong lồng giao phối bằng các loại máng ăn, chẳng hạn như loại được phát triển cho ong mật, nhằm giảm tỷ lệ tử vong liên quan đến máng ăn (do chết đuối hoặc mắc kẹt). BSF ưa máng ăn màu trắng hơn màu vàng và xanh lá; nên tránh màu nâu, hồng và xanh dương (Romano et al., 2020). Cần thay/vệ sinh máng ăn thường xuyên để tránh lây lan mầm bệnh. Trong trường hợp này, thời gian lưu ruồi trong lồng tại cơ sở nên dựa trên sản lượng trứng hơn là tuổi thọ trung bình của con trưởng thành. Khi sản lượng trứng giảm, có thể vệ sinh lồng và bổ sung đàn mới. Ruồi trưởng thành cần được gây mê (xem mục “sử dụng thuốc gây mê trước khi giết mổ”) trước khi được giết mổ một cách nhân đạo (xem phần “phúc lợi trong lúc giết mổ”).

Dinh dưỡng của ấu trùng

Ấu trùng có khả năng tiêu thụ hầu hết các loại chất nền, và ngoài tự nhiên ăn nhiều loại thức ăn đa dạng như chất thải rau củ, xác động vật, bã cà phê, hoặc phân người và các động vật có xương sống khác (Tomberlin et al., 2005; tổng quan trong Diener et al., 2009; Nguyen, 2010). Tuy nhiên, không phải chất nền nào cũng cho tác động tương tự đến tăng trưởng và tỷ lệ sống sót. Ngoài ra, việc nuôi côn trùng ở quy mô công nghiệp thường đặt ra những thách thức bổ sung không xuất hiện khi sử dụng các chất nền (hoặc điều kiện phi sinh học) cụ thể ở quy mô nhỏ, ngoài tự nhiên (đã được tổng quan cho BSF trong Miranda et al., 2020; Scala et al., 2020; xem thêm Sørensen et al., 2012; Yang và Tomberlin, 2020). Cuối cùng, các quần thể, hay “chủng”, ấu trùng có thể phản ứng khác

nhau đáng kể với cùng một loại chất nền, khiến việc phân tích so sánh giữa các quần thể ruồi khác nhau trở nên phức tạp, đặc biệt khi các biến số phi sinh học khác không được giữ cố định (Zhao et al., 2013).

Ngành công nghiệp hiện đang sử dụng rau củ, sữa, và các sản phẩm phụ từ bánh mì, bã bia đã qua sử dụng và thức ăn chăn nuôi, với kế hoạch ngắn hạn mở rộng sang thực phẩm dư thừa và các sản phẩm phụ từ động vật. Kế hoạch dài hạn đề xuất sử dụng phân chuồng, chất thải đô thị, chất thải lò mổ, thịt hoặc cá; tuy nhiên, để sử dụng an toàn các chất nền này, cần phát triển các biện pháp đảm bảo chất lượng (EFSA, 2015; FAO, 2021). Trong hầu hết các nghiên cứu có báo cáo tỷ lệ sống sót, các chất nền khác nhau cho tỷ lệ sống sót trong khoảng 80-95% (nhưng xem thêm thông tin về chất thải đô thị của con người, bột thịt và phân chuồng bên dưới), cho thấy ấu trùng có khả năng thích nghi tốt với nhiều chương trình dinh dưỡng khác nhau.

Có rất nhiều tài liệu ghi nhận tác động của chế độ ăn đến thời gian phát triển, thành phần cơ thể và trọng lượng của ấu trùng BSF; tuy nhiên, các dữ liệu này cung cấp rất ít thông tin về phúc lợi. Sự khác biệt đáng kể về điều kiện phi sinh học giữa các nghiên cứu, cùng với sự khác biệt trong kỹ thuật xử lý sơ bộ làm thay đổi đáng kể mức độ phù hợp của chất nền, khiến việc khái quát hóa về chất nền tốt nhất hoặc tệ nhất cho phúc lợi ấu trùng trở nên rất khó khăn. Ngay cả cùng một loại chất nền cũng có thể khác nhau về thành phần dinh dưỡng tùy theo vùng địa lý, mùa vụ, giống, và nhiều yếu tố khác (ví dụ: vỏ chuối loại dùng làm món tráng miệng so với loại dùng ép nước tạo ra sự khác biệt 4,5 lần về trọng lượng ấu trùng; Isibika et al. (2019)). Tuy nhiên, một số quy luật chung sau đây có thể giúp cải thiện phúc lợi của ấu trùng.

Ấu trùng phát triển tốt nhất và có tỷ lệ sống sót cao hơn khi ăn chế độ đa dạng, giàu dinh dưỡng với hỗn hợp carbohydrate và protein (Cammack và Tomberlin, 2017; Gobbi et al., 2013). Các chất nền đồng nhất có hàm lượng hemicellulose và lignin cao vốn có tỷ lệ chất không tiêu hóa được cao tự nhiên, bao gồm: rơm rạ (Li et al., 2015), phân chuồng (Miranda et al., 2020; Nyakeri et al., 2017; Rehman et al., 2017a), bã bia đã qua sử dụng (Lynch et al., 2016), vỏ hạnh nhân (Palma et al., 2018), chất thải giấy (Tomberlin, thông tin cá nhân), và một số chất thải rau/quả (như vỏ chuối; Isibika et al. (2019)). Phân bò sữa làm giảm tỷ lệ sống sót xuống còn 45% trong nghiên cứu của Miranda et al. (2020), và khoảng 71-77% trong Myers et al. (2008). Chất nền 100% bã chưng cất khô có chứa chất hòa tan (lúa mạch, ngô, lúa mì và siro đường) làm giảm 34% tỷ lệ sống sót (dù

nghiên cứu này có tỷ lệ sống sót thấp ở mọi điều kiện; Tschirner và Simon (2015)). Hàm lượng dinh dưỡng đôi khi bị chủ động hạ thấp khi thêm chất không tiêu hóa được vào chất nền để tăng độ cứng/nồng độ oxy hoặc kiểm soát độ ẩm; các biến số này cần được quản lý một cách toàn diện.

Một số chất nền dường như không thích hợp cho ấu trùng, dù dữ liệu về hàm lượng dinh dưỡng của chúng hiện còn thiếu. Chế độ ăn từ phân người có thể làm giảm mạnh tỷ lệ sống sót của ấu trùng (trong một số chế độ cho ăn, tỷ lệ sống sót giảm xuống chỉ còn 8%; Banks et al. (2013)). Ngoài ra, chế độ ăn 100% “bột thịt” gây tỷ lệ tử vong 60% ở ấu trùng và 80% ở nhộng (Gobbi et al., 2013). Trừ khi có thêm nghiên cứu xác định được quy trình xử lý giúp cải thiện tỷ lệ sống sót và phúc lợi khi dùng các chất nền này, nên tránh sử dụng chúng để nuôi ấu trùng.

Việc xử lý chất nền có tiềm năng cải thiện phúc lợi ấu trùng bằng cách thay đổi kết cấu, mức vi sinh vật, độ pH, độ ẩm và thành phần dinh dưỡng của chất nền. Nghiền nhỏ chất nền có thể tạo kết cấu tốt hơn cho sự phát triển của ấu trùng bằng cách giảm các cạnh sắc (tránh gây thương tích), tăng độ xốp và tạo kết cấu toi xốp (giúp cải thiện khả năng di chuyển, giữ ẩm và thông khí; Palma et al. (2018)); đặc biệt, ấu trùng nhỏ nên được cung cấp các hạt thức ăn nhỏ hơn (Dortsman et al., 2017; Tomberlin, 2017). Việc bổ sung *Bacillus subtilis* — một loại vi khuẩn phân lập từ ấu trùng BSF — hoặc các vi sinh vật khác có khả năng phân hủy hemicellulose và lignin có thể cải thiện hàm lượng dinh dưỡng của chất nền (Rehman et al., 2019; Zheng et al., 2012). Việc cấy vi sinh vật cũng có thể làm thay đổi mức độ thuận lợi của các khía cạnh khác trong chất nền; ví dụ, xử lý vỏ chuối bằng vi sinh vật đã làm tăng đáng kể độ pH lên mức thuận lợi hơn cho sự phát triển của BSF (Isibika et al., 2019). Tuy nhiên, tác động của nhiều loại vi sinh vật khác nhau đến tỷ lệ sống sót hoặc phúc lợi (so với tác động lên tăng trưởng) vẫn chưa được hiểu rõ, và cần thêm nghiên cứu để xác định mức độ phù hợp của các loại vi sinh vật cấy khác nhau khi kết hợp với từng chất nền cụ thể (Yu et al., 2011; Zheng et al., 2013). Ngoài ra, bản thân chế độ ăn cũng tác động đáng kể đến hệ vi sinh vật đường ruột (Tanga et al., 2021), với những tác động có khả năng xảy ra nhưng hiện chưa được nghiên cứu đầy đủ đối với sức khỏe của ấu trùng BSF.

Chất nền có thể được xử lý để cải thiện tính không đồng nhất và thành phần dinh dưỡng bằng cách trộn với các chất nền khác (glucose, dầu thực vật, bã đậu phụ và chất thải nhà hàng đều đã được sử dụng; Li et al. (2015), Rehman et al. (2017b), Vogel et al. (2018),

Zheng et al. (2012)). Trong khi phân gà nguyên chất chỉ cho tỷ lệ sống sót 35%, việc thêm chỉ 20% chất thải thực phẩm khô đã giúp tỷ lệ sống sót tăng lên gần 100% (Lee et al., 2021). Tương tự, trộn phân ngựa và phân cừu với chất thải rau củ giúp cải thiện tỷ lệ sống sót thêm 11% (dù sự khác biệt giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa thống kê) và làm tăng khối lượng ấu trùng cuối cùng (Julita et al., 2018). Ấu trùng có thể chịu đựng một dải hàm lượng dinh dưỡng khá rộng (có thể xuống đến mức 23% thành phần dinh dưỡng), nhưng khi đó tỷ lệ sống sót giảm và kích thước cơ thể giảm mạnh (Barragan-Fonseca et al., 2018). Khuyến nghị nên duy trì ít nhất 50% hàm lượng dinh dưỡng trong bất kỳ chất nền nào cho đến khi có thêm dữ liệu.

Cuối cùng, nhà sản xuất nên quản lý lượng dinh dưỡng cung cấp cho mỗi ấu trùng. Cho ăn quá nhiều có thể dẫn đến điều kiện kỵ khí và pH axit (Paz et al., 2015), cũng như làm tăng nguy cơ mầm bệnh phát triển (không nên cho thêm thức ăn khi lượng thức ăn cũ chưa tiêu thụ hết còn trên 30-50%; Tomberlin (2017)). Dù cho ấu trùng ăn nhiều hơn có thể tạo ra trọng lượng cơ thể lớn hơn, điều này cũng có thể làm tăng tỷ lệ trao đổi chất của ấu trùng và khả năng bị quá nhiệt (Paz et al., 2015).

Chất gây ô nhiễm môi trường

Một số chất nền có nguy cơ nhiễm các chất gây ô nhiễm ảnh hưởng đến phúc lợi của BSF cao hơn, bao gồm các tác nhân kiểm soát sinh học gây bệnh côn trùng (xem mục “mầm bệnh” và “ký sinh trùng”), thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ hóa học, độc tố và kim loại nặng.

Thuốc trừ sâu và thuốc diệt cỏ hóa học có thể tồn dư trên bất kỳ chất thải nông nghiệp gốc thực vật chưa được rửa nào, và có thể gây chết (ví dụ thuốc trừ sâu độc thần kinh, Costa et al. (2008)) hoặc gây tác động ở mức dưới ngưỡng gây chết (De França et al., 2017). Thuốc trừ sâu gốc photpho hữu cơ như chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl và pirimiphos-methyl không ảnh hưởng đến tăng trưởng hoặc tỷ lệ sống sót của ấu trùng BSF (Purschke et al., 2017). Tuy nhiên, ấu trùng BSF được phát hiện nhạy cảm hơn 12-31 lần (theo LC50) so với ruồi nhà đối với một số loại pyrethroid. 100% ấu trùng BSF chết ở mức chỉ bằng một nửa nồng độ cyromazine thường dùng để kiểm soát côn trùng gây hại thuộc bộ Diptera. Pyriproxifen cũng làm giảm tỷ lệ sống đến tuổi trưởng thành (tối đa 32% ở nồng độ cao nhất) và có thể ngăn cản ấu trùng hóa nhộng hoặc gây vô sinh cho con trưởng thành sinh ra (Tomberlin et al., 2002b). Không nên cho ấu trùng BSF ăn phân chuồng hoặc các chất nền khác thường được xử lý bằng những hóa chất này và các

hóa chất chưa được kiểm nghiệm khác, cho đến khi có kiểm chứng thực nghiệm đảm bảo chúng không gây tác động bất lợi dưới ngưỡng gây chết (hoặc gây chết).

Các cây trồng biến đổi gen (GMO) có thể chứa độc tố Bt gây chết BSF (phá hủy các tế bào biểu mô ruột giữa, cho phép vi khuẩn xâm nhập vào khoang máu; Joosten et al. (2020)). Độc tố Bt liên kết đặc hiệu theo phân loại, vì vậy BSF nhiều khả năng bị ảnh hưởng nhất bởi các GMO được thiết kế để kiểm soát các loài Diptera gây hại khác trên cây ngũ cốc, cây ăn quả và rau (Ogaugwu và Durvasula, 2017). Có thể dùng nhiệt 60-90°C để vô hiệu hóa độc tố Bt (Ujváry, 2010), cho thấy có thể cần xử lý sơ bộ chất nền tốn nhiều năng lượng, kết hợp với cấy vi sinh vật, để đảm bảo an toàn cho ấu trùng khi cho ăn các chất nền từ GMO. Các độc tố nấm mốc (thường có trong một số nông sản dự trữ) như aflatoxin B1/B2/G2, deoxynivalenol, ochratoxin A và zearalenone không ảnh hưởng đến tăng trưởng/sống sót so với đối chứng (Bosch et al., 2017; Purschke et al., 2017).

Các kim loại nặng như đồng và cadmium đã được chứng minh làm thay đổi hệ vi sinh vật đường ruột của ấu trùng, dù không phải lúc nào cũng ảnh hưởng đến mức tăng trọng hoặc tỷ lệ sống sót (Van der Fels-Klerx et al., 2016; Wu et al., 2020, nhưng xem thêm Purschke et al., 2017). Ấu trùng có khả năng tích lũy nhiều kim loại nặng, cũng như asen, trong mô cơ thể (Diener et al., 2015; van der Fels-Klerx et al., 2016). Ở nồng độ đủ cao, điều này có thể làm giảm tỷ lệ sống sót tới 50% (Biancarosa et al., 2017, nhưng xem thêm Purschke et al., 2017). Những kim loại nặng này có thể có mặt trong chất thải đô thị, hộ gia đình và rau củ (Diener et al., 2015). Ngoài ra, sự tích lũy sinh học các chất nguy hại trong ấu trùng có thể ảnh hưởng đến vật nuôi (vì mức tích lũy trong mô ấu trùng BSF có thể vượt ngưỡng được coi là an toàn cho thức ăn chăn nuôi, Purkayastha và Sarkar (2021)).

Cuối cùng, một số dòng chất thải có thể chứa “rác” gây hại cho sự sống còn của BSF: các vật sắc nhọn gây thương tích (như thủy tinh), vật liệu không phân hủy sinh học (túi nhựa, cốc xốp), và axit/dung môi/hóa chất (pin, chất tẩy rửa, v.v.; Yang (2017b)). Những thứ này có thể gây hại cho cả người lao động lẫn ấu trùng BSF. Một số loại được loại bỏ trong quá trình xử lý sơ bộ chất thải, hoặc nếu không thể loại bỏ thì chất thải đó sẽ không được sử dụng (Dortsman et al., 2017). Tuy nhiên, một số loại rác khác, như nhựa và đầu lọc thuốc lá, vẫn có thể lẫn vào thức ăn của ấu trùng (Yang, 2017b) và thậm chí có thể gây độc cho ấu trùng (ví dụ, nicotine có thể gây chết ruồi giấm, Wolf và Heberlein

(2003)).

Biến đổi gen và chọn lọc giống

Việc biến đổi gen (thường sử dụng công nghệ CRISPR/Cas9) trên BSF nhằm tối ưu hóa việc sử dụng chúng trong công nghiệp có thể tác động mạnh đến phúc lợi của chúng. Các hướng biến đổi gen hiện đang được phát triển bao gồm:

1. Kéo dài thời gian phát triển, qua đó tăng trọng lượng ấu trùng và khả năng ăn, bằng cách loại bỏ (knock-out) gen Ptth. Gen Ptth mã hóa hormone hướng ngực (prothoracicotrophic hormone), khởi động chuỗi tín hiệu dẫn đến lột xác và biến thái (Fellner et al., 2005). Các dòng ấu trùng bị loại bỏ gen Ptth có chiều dài giai đoạn ấu trùng cuối tăng gấp 20 lần và trọng lượng cơ thể tăng gấp 2-3 lần (Zhan et al., 2019).
2. Tăng nồng độ các dưỡng chất cụ thể trong cơ thể ấu trùng, nhằm tạo ra hồ sơ dinh dưỡng tối ưu cho tiêu dùng của con người (chi tiết chưa được công bố, nhưng dự án này đã nhận tài trợ từ Echelon Biosciences, Gunther (2018)).
3. Tạo ra con trưởng thành không thể bay, có thể nuôi trong lồng nhỏ hơn, bằng cách làm bất hoạt gen Vg (Zhan et al., 2019) — gen quy định kích thước và hình dạng cánh ở ruồi giấm (Williams et al., 1991).

Trong ba hướng trên, hướng 1 và 3 dường như đáng lo ngại nhất về mặt phúc lợi đối với BSF. Con trưởng thành không thể bay rõ ràng vi phạm quyền tự do thể hiện hành vi bình thường. Việc kéo dài giai đoạn ăn của ấu trùng và làm tăng mạnh kích thước cơ thể trên thực tế có thể làm giảm sức khỏe và phúc lợi, cũng như có khả năng làm thu hẹp hành vi bình thường (dù hiện chưa có dữ liệu nào về hành vi của ấu trùng khi bị loại bỏ gen Ptth). Mặc dù ngành công nghiệp hiện chưa áp dụng bất kỳ biến đổi nào trong số này ở quy mô lớn, việc sử dụng một số biến đổi gen trong tương lai có thể là mối lo ngại nghiêm trọng về phúc lợi đối với BSF nuôi. Các nghiên cứu thực nghiệm trong tương lai nên xác định tác động phúc lợi của những biến đổi này trước khi chúng được áp dụng ở quy mô lớn, thông qua việc nghiên cứu các thay đổi về hành vi hoặc khả năng sống sót, cũng như nồng độ hormone căng thẳng.

Cuối cùng, việc chọn lọc giống để có được các đặc điểm vòng đời cụ thể (như phát triển nhanh, hoặc khả năng sinh sản cao) có thể dẫn đến hiện tượng thất cổ chai di truyền, suy thoái do giao phối cận huyết, và thậm chí sụp đổ quần thể do giảm khả năng chống chịu

căng thẳng và tuổi thọ (Gilchrist et al., 2012); các đàn nuôi cần được quản lý cẩn thận để duy trì sự đa dạng di truyền, từ đó giúp quần thể khỏe mạnh hơn (Hoffman et al., 2021; Rhode et al., 2020). Việc chọn lọc giống đã gây ra nhiều vấn đề phức lợi nghiêm trọng ở nhiều loài động vật có xương sống đã thuần hóa (ví dụ Paxton et al., 2013); ngành công nghiệp BSF nên xem đây là bài học cảnh báo và thận trọng để tránh những vấn đề tương tự.

Sự quá đông và chấn thương

Ấu trùng BSF có xu hướng tập trung thành đám, điều này có thể gây tích tụ chất thải (làm giảm tốc độ tăng trưởng), tăng tiêu hao năng lượng (do tương tác giữa các cá thể cùng loài), tạo ra thách thức về điều hòa thân nhiệt, và thúc đẩy cạnh tranh nguồn lực (dù ấu trùng cũng có thể được hưởng lợi tích cực từ việc các cá thể cùng loài ở gần nhau chia sẻ hệ vi sinh vật đường ruột, như ở ruồi nhà; Zhao et al. (2017)). Tình trạng quá đông ở ấu trùng có thể làm tăng nguy cơ bệnh tật do tạo điều kiện lây lan dịch bệnh (Steinhaus, 1958), và có khả năng làm tăng nguy cơ chấn thương. Việc giảm mật độ xuống còn 1-2 ấu trùng/cm² chất nền đã được chứng minh giúp cải thiện tỷ lệ sống sót của ấu trùng (Dzepe et al., 2020).

Cơ thể ấu trùng BSF mềm, khiến chúng dễ bị tổn thương bởi các vật sắc nhọn. Chấn thương có thể không giết chết ấu trùng ngay, nhưng có thể làm tăng đáng kể nguy cơ nhiễm trùng — ấu trùng bị thương dễ nhiễm tuyến trùng gây bệnh côn trùng hơn (dẫn đến tỷ lệ tử vong tăng do nhiễm trùng; Tourtois et al. (2017)), và ấu trùng bị thương có hoạt động hệ miễn dịch tăng lên sau khi tiếp xúc với môi trường không vô trùng (Zdybicka-Barabas et al., 2017). Chấn thương có thể do chất nền chuẩn bị không đúng cách chứa vật liệu sắc nhọn, do thao tác xử lý không phù hợp, hoặc do ăn thịt đồng loại. Mặc dù ấu trùng thường không được ghi nhận có hành vi ăn thịt đồng loại trong điều kiện bình thường (Caruso et al., 2013), ấu trùng bị căng thẳng ở các loài khác (ví dụ *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae), ruồi nhà) có thể chuyển sang ăn thịt đồng loại trong điều kiện bất lợi; ở *Z. morio*, đây cũng là một cơ chế lây lan dịch bệnh (Lam et al., 2007; Maciel-Vergara et al., 2018).

Hiện tượng ăn thịt đồng loại ở ấu trùng BSF có thể phổ biến hơn so với những ghi nhận không chính thức. Hiện tượng ấu trùng ăn thịt con trưởng thành mới vũ hóa đã được ghi nhận (Furman et al., 1959), cũng như việc ăn ấu trùng/nhộng chết và còn sống, đặc biệt khi nuôi ở mật độ cao. Ấu trùng giai đoạn cuối được tiếp cận nguồn thức ăn hạn chế có

xu hướng ăn thịt đồng loại nhiều hơn so với những con hoàn toàn không được cho ăn (47% so với 7%; Nguyen, 2010). Tuy nhiên, Nguyen (2010) ghi nhận rằng trong điều kiện đói, nguy cơ bị thương khi ăn thịt đồng loại cao hơn; do đó các cá thể có thể chỉ ăn thịt những con nhỏ hơn hoặc non hơn trong các quần thể có kích thước không đồng đều điển hình hơn (điều này không được kiểm chứng trong thiết kế nghiên cứu của họ). Việc giảm khả năng tiếp cận nguồn dinh dưỡng tại chỗ cũng có thể thúc đẩy hành vi ăn thịt đồng loại, giải thích vì sao tỷ lệ sống sót giảm trong điều kiện mật độ ấu trùng cao hơn (Barragan-Fonseca et al., 2018; Dzepe et al., 2020; Paz et al., 2015).

Hiện tượng ấu trùng ăn thịt con trưởng thành dường như khá phổ biến (tổng quan trong Nguyen, 2010; Barrett, thông tin cá nhân); do đó, dù việc nuôi chung có thể giúp việc tái lập quần thể dễ dàng hơn (Fisher và Romano, 2020), BSF trưởng thành nên được nuôi tách biệt khỏi ấu trùng trong môi trường công nghiệp.

Căng thẳng liên quan đến thao tác xử lý

Ấu trùng thường xuyên phải chịu các thao tác xử lý và xáo trộn, có thể gây thương tích hoặc căng thẳng (đặc biệt nếu ấu trùng vốn sợ ánh sáng lại bị đưa ra ánh sáng). Ấu trùng có thể bị xử lý trong quá trình nuôi công nghiệp nhằm mục đích:

- thay đổi chất nền (loại bỏ phân/chất thải, bổ sung vật liệu cứng, đảo trộn để thay đổi độ ẩm và nồng độ oxy trong toàn bộ chất nền);
- kiểm tra sức khỏe và mức độ phát triển;
- thu hoạch ở kích thước cơ thể nhỏ hơn (ví dụ để làm thức ăn cho thú cưng kỳ lạ);
- “xử lý sơ bộ”, trong đó côn trùng sống được làm sạch trước khi giết mổ (xem mục “khoảng thời gian ngừng cho ăn trước xử lý sơ bộ và rửa sạch”).

Một số thao tác xử lý nhiều khả năng không thể tránh khỏi trong quá trình quản lý chất nền và sự phát triển của ấu trùng. Cần thêm nghiên cứu về việc liệu và bằng cách nào sự xáo trộn gây căng thẳng cho ấu trùng BSF, nhưng vì hầu hết các sinh vật đều phản ứng tiêu cực với việc bị xử lý, có thể yên tâm giả định rằng việc xử lý có khả năng gây một mức độ khó chịu nhất định cho ấu trùng (Baumann, 2019). Có thể giảm căng thẳng bằng cách hạn chế tần suất/mức độ xáo trộn và giảm thiểu việc ấu trùng tiếp xúc với ánh sáng (bằng cách chỉ thao tác trong phòng tối). Ví dụ, nhà sản xuất có thể sử dụng hệ thống tự thu hoạch (để thu hoạch ấu trùng giai

đoạn cuối) hoặc sử dụng các lô ấu trùng mới nở cùng độ tuổi có thể thu hoạch cùng lúc (nếu thu hoạch tại nhiều thời điểm trong quá trình phát triển) nhằm giảm tần suất xáo trộn.

BSF trưởng thành cũng nhiều khả năng bị căng thẳng do việc xử lý hoặc hoạt động của con người: sự gián đoạn (dường như do chuyển động hoặc tiếng ồn gây ra) thậm chí có thể khiến quá trình giao phối ngừng lại, và nhà sản xuất khuyến nghị nên đặt BSF trưởng thành ở những vị trí khuất, ít qua lại để tránh bị xáo trộn (Yang, 2017a). Ethyl acetate được sử dụng để làm mê man con trưởng thành khi cân trọng lượng (Dortsman et al., 2017), nhưng hiện chưa có dữ liệu nào về tác động phúc lợi của việc gây mê bằng ethyl acetate (xem mục “sử dụng thuốc gây mê trước khi giết mổ”).

3. PHÚC LỢI TRONG LÚC GIẾT MỔ

Hiện nay chưa có dữ liệu nào về tác động phúc lợi của các phương pháp giết mổ côn trùng khác nhau, và cũng chưa có quy định nào về phúc lợi động vật để hướng dẫn nông dân xây dựng quy trình vận hành tiêu chuẩn (SOP) cho việc giết mổ nhân đạo (Bear, 2019; Delvendahl et al., 2022). Để thực sự hiểu phương pháp giết mổ nào là nhân đạo nhất, cần có các nghiên cứu thực nghiệm mang tính đặc thù cho từng loài (De Goede et al., 2013). Trong khi chưa có dữ liệu tốt hơn, chúng tôi đưa ra một xếp hạng sơ bộ, mang tính phân loại, đối với các phương pháp giết mổ dùng cho ấu trùng BSF, dựa trên khả năng gây chết tức thời (trong vòng một giây), vì cái chết nhanh sẽ giảm nguy cơ đau đớn (IPIFF, 2019). Đáng chú ý, phần lớn kết luận dưới đây cho ấu trùng BSF có thể áp dụng rộng rãi cho các loại côn trùng khác; tuy nhiên, thời gian tử vong của nhiều phương pháp sẽ thay đổi tùy theo hình thái hoặc sinh lý của từng loài sinh vật, do đó chúng tôi giới hạn kết luận của mình trong phạm vi ấu trùng BSF.

Các phương pháp giết mổ nhân đạo hơn

Luộc/chần, đông lạnh trong nitơ lỏng, và nghiền có khả năng là những phương pháp giết mổ nhân đạo nhất, xét riêng về thời gian tử vong (xem thêm Hakman et al., 2013).

Luộc khiến thân nhiệt tăng cao, gây tổn hại nhiều cấu trúc phân tử/tế bào (biến tính enzyme, phá vỡ màng tế bào, thay đổi độ pH, v.v., tất cả tùy thuộc vào thời gian tiếp xúc), dẫn đến sự suy giảm chức năng nhanh chóng trên toàn cơ thể (Neven, 2000). Các phương pháp nhiệt cao gây ra trạng thái “hôn mê do nhiệt” trước khi chết, trong đó hiện tượng khử cực lan rộng sẽ làm ngừng hoạt động của hệ thần kinh trung ương (CNS) trước

khí tử vong xảy ra (Jørgensen et al., 2020). Tất cả các phương pháp nhiệt cao như luộc có thể gây ra một mức độ đau đáng kể: ấu trùng ruồi giấm có khả năng cảm nhận đau do nhiệt và cơ học thông qua các tế bào thần kinh cảm giác dạng nhánh cây lớp IV phân bố khắp bề mặt cơ thể (Grueber et al., 2002; Neely et al., 2011), và thể hiện các phản ứng hành vi bảo vệ trước nhiệt độ cao (Chattopadhyay et al., 2012; Oswald et al., 2011; Petersen et al., 2018). Tuy nhiên, cơn đau nên rất ngắn, vì việc truyền nhiệt từ nước sôi (100°C) đến từng ấu trùng riêng lẻ sẽ khiến hệ thần kinh ngừng hoạt động gần như ngay lập tức.

Quy trình luộc có thể ảnh hưởng đến tốc độ gây chết, đặc biệt khi giết mổ với số lượng lớn. Ví dụ, nhà sản xuất có thể dùng nước ở nhiệt độ thấp hơn để tiết kiệm năng lượng nhằm hướng tới các mục tiêu bền vững, nhưng nước ấm hơn có thể không giết chết ấu trùng ngay lập tức. Nếu thả một lượng lớn ấu trùng vào cùng lúc, chúng có thể làm giảm nhiệt độ nước, khiến cái chết không xảy ra tức thời. Bên cạnh việc gây chết nhanh, phương pháp này còn được chứng minh giúp giảm thiểu quá trình oxy hóa lipid, nhiễm khuẩn và biến đổi màu sắc trong khi bắt đầu quá trình mất nước (Larouche et al., 2019; Sindermann et al., 2021; Zhen et al., 2020), cho thấy đây có thể là một phương pháp tốt cả về chất lượng sản phẩm lẫn phúc lợi (nếu có SOP phù hợp).

Tương tự nước sôi, ấu trùng ngâm trong nitơ lỏng (LN2; -196°C) sẽ bị làm lạnh nhanh chóng và cái chết nhiều khả năng gần như tức thời. Nước trong cơ thể ấu trùng được xử lý bằng LN2 sẽ đóng băng, gây tổn thương cơ học cho tế bào, và chấn thương lạnh trực tiếp sẽ xảy ra do sốc lạnh (một lần nữa dẫn đến biến tính protein và phá vỡ màng tế bào; Drobnis et al. (1993), Muldrew et al. (2004), Privalov (1990)). Việc đông lạnh ấu trùng trong LN2 gặp phải các vấn đề SOP tương tự như luộc: số lượng ấu trùng, nhiệt độ LN2, tỷ lệ ấu trùng:LN2, và hình dạng của lô ấu trùng khi ngâm trong LN2 đều cần được quản lý cẩn thận để đảm bảo cái chết tức thời. Cái chết do LN2 có thể gây đau đớn dữ dội trong thời gian ngắn; ấu trùng ruồi giấm có khả năng cảm nhận đau do lạnh thông qua các tế bào thần kinh đa nhánh và tế bào thần kinh cảm nhận âm thanh (chordotonal) lớp II và III (Turner et al., 2016, 2018), nhưng một lần nữa, hệ thần kinh sẽ ngừng hoạt động nhanh chóng trong LN2.

Nghiên giết côn trùng bằng cách phá hủy cơ học mô và tế bào. Hiện có rất ít thông tin về phương pháp nghiền/xay, nhưng một số nhà sản xuất báo cáo rằng nghiền có lẽ là phương pháp nhân đạo nhất vì cái chết xảy ra trong chưa đầy một giây (Erens et al., 2012; dù có

thể vẫn có căng thẳng liên quan đến việc xử lý khi ấu trùng bị xóc trong máy nghiền trước khi đến bộ phận cắt nhỏ). Xét thiết kế của nhiều loại máy này, việc nghiền không hoàn toàn hoặc gây chết kéo dài đường như khó xảy ra, nhưng điều này cần được kiểm chứng bằng thực nghiệm. Ấu trùng ruồi giấm thể hiện các phản ứng hành vi bảo vệ trước các kích thích đau cơ học (Lopez-Bellido và Galko, 2020). Tuy nhiên, việc nghiền nhiều khả năng cắt đứt kết nối giữa hệ thần kinh ngoại biên và trung ương gần như ngay lập tức, ngăn ngừa cơn đau đáng kể.

Cả ba phương pháp trên cũng nhiều khả năng là nhân đạo nhất đối với BSF trưởng thành, vốn có thể bị giết mổ trước khi bổ sung đàn giống vào lồng giao phối. Do khả năng bay, con trưởng thành có thể có “trốn thoát” khỏi một số phương pháp giết mổ nhất định, dẫn đến cái chết chậm hơn và kém nhân đạo hơn (ví dụ bay ra khỏi bề mặt nước sôi, khiến quá trình chết kéo dài thêm vài giây). Nên sử dụng thuốc gây mê như isoflurane (xem mục “sử dụng thuốc gây mê trong lúc giết mổ”) cho con trưởng thành trước khi áp dụng một trong các phương pháp giết mổ “nhân đạo hơn” này, nhằm tối đa hóa tốc độ và tính nhân đạo của cái chết ở con trưởng thành.

Các phương pháp giết mổ kém nhân đạo hơn

Rang cát, dùng lò vi sóng, phơi nắng, nướng lò, đông lạnh trong không khí, và ngạt thở có khả năng là các phương pháp giết mổ kém nhân đạo hơn đối với ấu trùng BSF, xét theo thời gian tử vong.

Khi rang cát, cát được đun nóng trong chảo hoặc trống quay lên trên 150-200°C trước khi cho ấu trùng vào theo tỷ lệ ấu trùng:cát là 1:1 hoặc 2:3 (EAWAG, chưa rõ năm). Sự truyền nhiệt dẫn giữa ấu trùng và cát sẽ nhanh chóng đưa ấu trùng lên nhiệt độ gây chết ngay khi chúng bị vùi hoàn toàn. Tuy nhiên, cả trống quay lẫn chảo đều có thể không vùi hết toàn bộ ấu trùng trong cát ngay lập tức, khiến việc truyền nhiệt dẫn chỉ tác động đến nhiều ấu trùng trong vài giây đầu tiếp xúc. Sự truyền nhiệt đối lưu từ không khí nóng phía trên bề mặt cát sẽ làm nóng ấu trùng chậm hơn. Trống quay nhiều khả năng gây chết tức thời hơn: chuyển động của trống sẽ nhanh chóng đưa toàn bộ ấu trùng tiếp xúc hoàn toàn với cát nếu ấu trùng được thêm vào khi trống đang quay. Khi dùng chảo, cần khuấy cát liên tục trong lúc thêm ấu trùng, để ấu trùng không chất đông trên bề mặt cát mà nhanh chóng và hoàn toàn bị vùi trong cát, tạo ra mức truyền nhiệt dẫn cao hơn. Tỷ lệ ấu trùng:cát thấp hơn nhiều khả năng giúp vùi hoàn toàn từng ấu trùng hơn, đồng thời tránh làm giảm đáng kể nhiệt độ chảo/trống do việc đưa vật liệu mát hơn vào.

Dùng lò vi sóng sẽ giết côn trùng thông qua cơ chế làm nóng điện môi (được mô tả trong Yadav et al. (2014)). Lò vi sóng có vẻ khá phổ biến đối với ấu trùng BSF; các máy có thể xử lý hơn 4.000 W/kg ấu trùng tươi (tùy thuộc vào SOP và công suất lò vi sóng) và thường hoạt động ở tần số 2.450 MHz. Quá trình làm khô hoàn toàn ấu trùng mất 6-15 phút (EAWAG, chưa rõ năm; MAX Industrial Microwaves, 2016, chưa rõ năm), nhưng cái chết sẽ xảy ra sớm hơn, khi ấu trùng đạt đến ngưỡng nhiệt tối đa (CT_{max}). Một nguồn vi sóng công suất 500 W đã tiêu diệt 100% ấu trùng bọ cánh cứng đỏ hại bột có kích thước nhỏ hơn (*Tribolium castaneum*, Coleoptera: Tenebrionidae) trong vòng 28 giây (trong mẫu ngũ cốc 50g, tương đương 10.000 W/kg vật liệu; Vadivambal et al., 2008). Việc ngoại suy từ bộ dữ liệu này sang các kịch bản giết mổ BSF công nghiệp là rất khó khăn (do kích thước mẫu nhỏ, sự biến thiên về kích thước cơ thể ấu trùng, và chất nền gây cản trở trong nghiên cứu của Vadivambal et al., 2008), nhưng lò vi sóng công nghiệp khó có khả năng giết chết toàn bộ ấu trùng một cách tức thời trong hầu hết các SOP, một phần do sự phân bố năng lượng vi sóng không đồng đều. Thời gian tử vong có thể được rút ngắn bằng cách tăng mức W/kg năng lượng mà ấu trùng nhận được, và bằng cách xếp ấu trùng thành một lớp duy nhất đối diện với nguồn năng lượng.

Lò vi sóng công nghiệp thường có băng tải di chuyển ấu trùng dọc theo một đường ray bên dưới bộ phát vi sóng, hoặc một trống nhỏ có thanh khuấy trộn một lớp ấu trùng nông. Cả hai phương pháp này đều giúp di chuyển ấu trùng so với nguồn vi sóng, vì lò vi sóng thường gặp vấn đề về phân bố năng lượng không đồng đều và khả năng thâm nhập chất nền thấp (Enviroflight, chưa rõ năm; Hossan et al., 2010; Yadav et al., 2014). Nếu ấu trùng không được di chuyển liên tục, hoặc bị xếp chồng lớp, các bộ phát vi sóng sẽ giết chết ấu trùng với tốc độ rất khác nhau tùy vào vị trí của chúng so với nguồn năng lượng. Đáng chú ý, việc di chuyển ấu trùng (ví dụ bằng thiết bị khuấy) cũng có thể gây thêm căng thẳng trước khi chết.

Phơi nắng sẽ mất vài giờ, tùy vào nhiệt độ môi trường, độ ẩm tương đối và cường độ ánh nắng, để giết chết ấu trùng BSF do khô héo hoặc quá nhiệt. Ngoài ra, ấu trùng BSF sợ ánh sáng (Canary et al., 2009; Newton, chưa rõ năm), và sẽ cố di chuyển tránh xa ánh nắng trong quá trình giết mổ theo phương pháp này, cho thấy ánh nắng nhiều khả năng gây thêm căng thẳng (Mat et al., 2021). Không có SOP nào có thể khiến phơi nắng trở thành phương pháp tức thời hoặc nhân đạo.

Lò nướng thường được làm nóng đến 60-65°C (EAWAG, chưa rõ năm; Larouche et al.,

2019). Cả nhiệt độ không khí thấp hơn trong lò nướng (so với rang cát hoặc chảo) lẫn tốc độ truyền nhiệt chậm hơn từ không khí sang ấu trùng, đều cho thấy phương pháp này sẽ không tức thời và có thể mất vài giây đến vài phút để giết chết toàn bộ ấu trùng, tùy vào SOP.

Thời gian tử vong khi dùng phương pháp này có thể được rút ngắn bằng cách: (1) tăng nhiệt độ và tốc độ luồng không khí trong lò; (2) đặt ấu trùng lên khay đã được làm nóng trước khi cho vào lò (tăng truyền nhiệt dẫn và tránh dùng khay lạnh, vốn sẽ làm giảm nhiệt độ lò và khiến ấu trùng tiếp xúc với khay không nóng lên nhanh chóng); (3) tối đa hóa diện tích tiếp xúc của ấu trùng với không khí nóng bằng cách trải ấu trùng đều, tránh vón cục trên khay; hoặc (4) đưa vào một khối lượng ấu trùng nhỏ hơn trên mỗi đơn vị không khí nóng. Tuy nhiên, các SOP dùng phương pháp này khó có khả năng đạt được mức giết mổ tức thời.

Đông lạnh trong không khí đã được xem là — theo ghi nhận không chính thức (Bear, 2019; Erens et al., 2012) — một phương pháp giết côn trùng nhân đạo, vì được cho là gây mê côn trùng trước khi chết bằng cách làm lạnh dần dần. Tuy nhiên, cái lạnh không có tác dụng giảm đau nào, và theo các bác sĩ thú y, không được coi là một phương pháp gây mê nhân đạo đối với động vật không xương sống (AVMA, 2020; Cooper, 2001; Gunkel và Lewbart, 2007; Pellett et al., 2013). Murray (2012) thậm chí khuyến nghị sử dụng thuốc gây mê dạng hít trước khi áp dụng bất kỳ phương pháp giết mổ nào dựa trên đông lạnh.

Việc làm lạnh dần côn trùng sẽ làm giảm tỷ lệ trao đổi chất và gây ra hiện tượng “hôn mê do lạnh” (có thể hồi phục) (ví dụ Andersen et al., 2018; Tutun et al., 2020) xảy ra trước khi chết. Hôn mê do lạnh được cho là do mất chức năng của bơm Na^+/K^+ ATPase, gây ra sự cân bằng ion qua màng tế bào và do đó làm giảm khả năng kích thích ở tế bào cơ, với hiện tượng khử cực lan rộng làm ngừng hoạt động hệ thần kinh trung ương (CNS; Andersen et al., 2018; Goller và Esch, 1990; Hosler et al., 2000). Chức năng CNS sẽ ngừng trước khi tử vong xảy ra, nhưng ngay cả sự ngừng hoạt động của CNS cũng mất vài giây đến vài phút (tùy vào nhiệt độ không khí trong tủ đông), và khoảng thời gian này có thể liên quan đến cơn đau đáng kể gắn với cảm giác đau do lạnh.

Nhiệt độ tủ đông dùng để làm lạnh côn trùng có thể dao động từ -80°C đến 4°C , dù Larouche et al. (2019) báo cáo mức nhiệt độ -20°C hoặc -40°C được dùng để giết ấu trùng BSF. Hiện chưa có dữ liệu về thời gian tử vong (hoặc thời gian bất động) của ấu

trùng BSF, nhưng vì đây là loài nhiệt đới, nhiều khả năng khả năng chịu lạnh của chúng khá kém. Dữ liệu từ ong mật trưởng thành (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apidae) cho thấy chúng vẫn cử động được tới một phút ở -80°C , và chỉ 76% chết sau 10 phút ở -20°C (Tutun et al., 2020). Dù ong mật trưởng thành và ấu trùng BSF có thể phản ứng khác nhau với nhiệt độ thấp, một suy luận hợp lý từ dữ liệu ong mật là việc đông lạnh trong không khí khó có khả năng bao giờ trở thành phương pháp gây chết tức thời đối với ấu trùng BSF. Các thay đổi SOP tương tự như đã liệt kê trong phần nướng lò (làm mát khay trước, v.v.) có thể được dùng để rút ngắn thời gian tử vong.

Thời gian ngạt thở của côn trùng phụ thuộc vào giai đoạn sống, kích thước cơ thể, tốc độ trao đổi chất, điều kiện môi trường (nhiệt độ, độ ẩm, thành phần khí trong không khí) và các khả năng thích nghi khác với tình trạng thiếu oxy mà từng loài côn trùng cụ thể có thể đã phát triển. Một số loại khí dùng để làm ngạt côn trùng cũng có thể dùng để gây mê — ví dụ CO_2 , được chứng minh có khả năng nhanh chóng ngăn chặn dẫn truyền tín hiệu tại khớp thần kinh-cơ (Badre et al., 2005). Tuy nhiên, các chuyên gia thú y vẫn còn nghi ngờ về tác dụng giảm đau của CO_2 (Cooper, 2011; Gunkel và Lewbart, 2007), và Murray (2012) không khuyến nghị đây là phương pháp gây chết nhân đạo cho côn trùng. Cần thêm nghiên cứu về tác động của CO_2 , N_2 và các loại khí khác để hiểu rõ tác động phúc lợi khi sử dụng chúng trong các phương pháp giết mổ bằng ngạt thở.

Cái chết do ngạt thở ở côn trùng nhìn chung diễn ra chậm (nhiều giờ). Giai đoạn ấu trùng/thiếu trùng của 12 loài côn trùng gây hại trong bảo tàng cần từ 3 đến 144 giờ mới đạt tỷ lệ tử vong 100% (Rust và Kennedy, 1993). Điều kiện thiếu oxy gây tăng thông khí và mất kiểm soát lỗ thở, làm tăng đáng kể sự mất nước và gây khô héo. Ngoài ra, hô hấp kỵ khí có thể tạo ra sự tích tụ các sản phẩm phụ chuyển hóa làm tăng độ axit của dịch máu côn trùng (Maekawa và Elert, 2003; Schimpf et al., 2012). Nitơ thường được dùng để làm ngạt côn trùng, nhưng dùng CO_2 có thể làm tăng tốc độ tử vong. Ngoài ra, nhiệt độ tăng cao (40°C ; Valentin, 1993), lượng oxy sẵn có giảm (Soderstrom et al., 1992), và độ ẩm tương đối thấp hơn (30% hoặc thấp hơn; Rust và Kennedy, 1995) có thể rút ngắn thời gian tử vong.

Sử dụng thuốc gây mê trước khi giết mổ

Việc giết mổ cũng có thể trở nên nhân đạo hơn bằng cách làm cho côn trùng mất ý thức theo cách không gây căng thẳng trước khi chết, thông qua việc sử dụng thuốc gây mê. Các hiệp hội thú y khuyến nghị áp dụng thuốc gây mê cho côn trùng trước khi chúng phải

chịu các kích thích gây đau (AVMA, 2020). Lạnh, CO₂, FlyNap (triethylamine và cồn), ethyl acetate, và các loại ete halogen hóa (sevoflurane, halothane, isoflurane) đều là những chất gây mê được báo cáo đã sử dụng cho côn trùng trong các bối cảnh khác (môi trường nghiên cứu và giáo dục, vườn thú/thủy cung, và các phòng khám thú y; Cooper (2011), MacMillan et al. (2017), McCallion et al. (2021)). Chưa có nghiên cứu nào kiểm chứng phương pháp gây mê nào là nhân đạo nhất cho bất kỳ loài côn trùng nào. Lạnh và CO₂ đã được chứng minh có tác động bất lợi kéo dài đến hành vi và sinh lý ít nhất một ngày sau khi hồi phục, đặc biệt khi so với các ete halogen hóa (Gooley và Gooley, đang chờ xuất bản; MacMillan et al., 2017). Một số chuyên gia thú y cho rằng cả lạnh và CO₂ có thể có tác dụng giảm đau hạn chế đối với côn trùng, ít có khả năng là nhân đạo, và nên ngừng sử dụng hoặc chỉ dùng ở mức hạn chế (ví dụ chỉ xử lý bề mặt; Cooper, 2001, 2011). Thuốc gây mê dạng hít và CO₂ có thể gây căng thẳng hoặc tổn hại sinh lý cho động vật có xương sống, đặc biệt nếu dùng sai liều lượng (Marquardt et al., 2018; Turner et al., 2020).

Việc sử dụng thuốc gây mê trước khi giết mổ dường như chưa phải là thực hành tiêu chuẩn trong ngành BSF (nhưng xem Bear, 2019). Zhen et al. (2020) đã dùng CO₂ để làm BSF bất tỉnh trước khi giết mổ, và không tìm thấy tác động đáng kể nào đến chất lượng sản phẩm ở ấu trùng được chần sau khi xử lý bằng CO₂, tuy nhiên họ không đánh giá tác động của CO₂ đến phúc lợi. Cần thêm nghiên cứu để xác định quy trình vận hành tiêu chuẩn cho việc sử dụng thuốc gây mê ở côn trùng trước khi giết mổ. Các nghiên cứu trong tương lai nên xác định: (1) tác động sinh lý và hành vi của các liều lượng khác nhau của các loại thuốc gây mê dạng hít khác nhau; (2) thời gian gây bất tỉnh của các liều lượng này; (3) khoảng thời gian mà các thuốc gây mê này khiến côn trùng bất tỉnh trong khi trải qua các phương pháp giết mổ khác nhau; và (4) mọi tác động của các loại thuốc gây mê này đến độ an toàn hoặc chất lượng sản phẩm cuối cùng khi sử dụng các phương pháp giết mổ khác nhau.

Khoảng thời gian ngừng cho ăn trước xử lý sơ bộ và rửa sạch

Một số nhà sản xuất bỏ đói, hay “nhịn ăn”, côn trùng trước khi giết mổ trong 1-2 ngày để làm rỗng ruột chúng (Van Huis, 2021), dù chưa rõ mức độ phổ biến của thực hành ngừng cho ăn này trong ngành BSF (Larouche, 2019). Tuy nhiên, ở một số loài côn trùng, việc “nhịn ăn” có thể gây ra hiện tượng ăn thịt đồng loại (ví dụ ở dế, được báo cáo trong Bear (2021)), cho thấy côn trùng vẫn có nhu cầu ăn trong giai đoạn đói này. Ngoài ra, căng

thăng do mất nước có thể rất nghiêm trọng đối với côn trùng bị bỏ đói (Schimpf et al., 2012), và ấu trùng BSF bị bỏ đói 96 giờ có sự giảm đáng kể hàm lượng độ ẩm (Larouche, 2019), có thể khiến chúng có nguy cơ chết do khô hạn. Đối với ấu trùng BSF, cần 84 giờ để 99% ấu trùng làm rỗng ruột (trung vị là 72 giờ), dài hơn nhiều so với mức 1-2 ngày thường được báo cáo là áp dụng trong ngành. Ngoài ra, giai đoạn nhịn đói này dường như không cần thiết cho mục đích an toàn sản phẩm, vì tải lượng vi sinh vật không bị ảnh hưởng bởi việc nhịn đói ở sâu bột hay ấu trùng BSF (Larouche, 2019; Wynants et al., 2017).

Ngoài ra, một số nhà sản xuất có thể “rửa” ấu trùng bằng cách phun nước hoặc nhúng chúng vào nước bị khuấy động trước khi giết mổ (Larouche, 2019). Dù nhìn chung khá ngắn, phương pháp xử lý này có thể gây căng thẳng do ngâm ấu trùng trong môi trường có độ ẩm cao bất thường (ấu trùng BSF thường sống trong môi trường bán lỏng, nhưng không phải độ ẩm 100%, và ít oxy; xem các mục “độ ẩm” và “oxy”) và bị khuấy động về mặt vật lý. Chưa có nghiên cứu nào khảo sát tác động của việc rửa ấu trùng BSF đến mức độ nhiễm khuẩn, nhưng việc rửa ấu trùng sâu bột không mang lại lợi ích nào về an toàn sản phẩm (Wynants et al., 2017); tuy nhiên, có khả năng các loại chất nền khác nhau dùng để nuôi ấu trùng BSF có thể ảnh hưởng đến tác dụng của việc rửa lên mức độ nhiễm khuẩn, và điều này cần được nghiên cứu thực nghiệm thêm.

4. CÁC LĨNH VỰC ĐÁNG QUAN TÂM VÀ KHUYẾN NGHỊ

Từ bài tổng quan này, chúng tôi đã xác định một số lĩnh vực đáng quan tâm hiện tại (Bảng 2 và 3) và trong tương lai (Bảng 4) liên quan đến phúc lợi của BSF nuôi. Chúng tôi đưa ra các khuyến nghị nhằm giảm thiểu đau khổ/thúc đẩy trải nghiệm tích cực, phù hợp với mô hình năm quyền tự do trong phúc lợi động vật; đáng chú ý, các khuyến nghị này bị hạn chế bởi lượng dữ liệu còn ít ỏi về sinh học và phúc lợi của BSF, và các nghiên cứu thực nghiệm trong tương lai có thể làm thay đổi các thực hành tốt nhất cũng như khuyến nghị được đưa ra ở đây.

5. HƯỚNG NGHIÊN CỨU CẤP THIẾT TRONG TƯƠNG LAI VỀ PHÚC LỢI RUỒI LÍNH ĐEN

Nghiên cứu sâu hơn về khả năng cảm nhận (tri giác) của côn trùng, và do đó về khả năng có phúc lợi, sẽ rất có giá trị đối với các nhà nghiên cứu đang tìm cách hiểu rõ nguy cơ đau khổ tiềm tàng trong các hệ thống nuôi côn trùng. Đặc biệt, các nghiên cứu tìm hiểu cách chúng ta có thể đánh giá cơn đau, sự khó chịu, nỗi sợ hãi hoặc đau khổ ở côn trùng

sẽ là điều thiết yếu để có thể sử dụng tốt nhất khuôn khổ năm quyền tự do trong đánh giá phúc lợi côn trùng. Cần có thêm nhiều nghiên cứu thực nghiệm quan trọng, nghiên cứu về BSF với trọng tâm là phúc lợi (chứ không chỉ đơn thuần là tăng trưởng hay sống sót), bao gồm:

- a. Các nghiên cứu về hành vi giao phối, đẻ trứng và kiếm ăn của con trưởng thành trong môi trường tự nhiên so với môi trường nuôi, để hiểu rõ hơn tác động của việc bị giam cầm đến hành vi của con trưởng thành.
- b. Các nghiên cứu tìm hiểu tác động của mật độ nuôi trong lồng đến hành vi và phúc lợi của con trưởng thành.
- c. Xác định sở thích dinh dưỡng của con trưởng thành, và tác động của các chế độ ăn khác nhau đến tuổi thọ, hành vi, khả năng sinh sản và phúc lợi.
- d. Các nghiên cứu được kiểm soát chặt chẽ hơn về tác động phúc lợi của các biến số phi sinh học, dinh dưỡng và sự tương tác qua lại giữa chúng đối với ấu trùng, ở quy mô mà ngành công nghiệp thường sử dụng (hoặc dự kiến sẽ sử dụng khi ngành phát triển).
- e. Các nghiên cứu được kiểm soát về mức độ biến động giữa các quần thể trong tác động của các điều kiện phi sinh học hoặc dinh dưỡng.
- f. Các nghiên cứu xác định tác động dưới ngưỡng gây chết của việc xử lý và các yếu tố phi sinh học đối với phúc lợi động vật (ví dụ: nghiên cứu về mức hormone căng thẳng).
- g. Các nghiên cứu xác định các mầm bệnh/ký sinh trùng có thể liên quan đến BSF và tác động của chúng đến phúc lợi động vật, đặc biệt là trước khi xảy ra bùng phát dịch bệnh.
- h. Các nghiên cứu tìm hiểu tác động của các chất nền thiếu dinh dưỡng đến phúc lợi ấu trùng ở mức dưới ngưỡng gây chết và gây chết, ở các quy mô nuôi khác nhau (ví dụ: tác động của việc cho ăn phân chuồng trong Miranda et al. (2020) so với Myers et al. (2008) và Lalander et al. (2019)).
- i. Các nghiên cứu đánh giá hiệu quả của các quy trình nhện đói/rửa sạch trước khi giết mổ trong việc giảm mức độ nhiễm vi sinh vật ở ấu trùng BSF nuôi trên các chất nền khác nhau (như phân chuồng). Nếu các quy trình trước giết mổ này được

xác định là hiệu quả trong từng trường hợp cụ thể, các nghiên cứu này có thể đánh giá và xây dựng hướng dẫn nhằm giảm thiểu căng thẳng cho ấu trùng.

- j. Các nghiên cứu xác định mức căng thẳng trước khi chết do từng phương pháp giết mổ gây ra, cũng như cơn đau trải qua trong quá trình giết mổ, và thời gian mỗi phương pháp cần để tiêu diệt (hoặc làm bất tỉnh) toàn bộ các cá thể trong một lô, nhằm xây dựng các quy trình vận hành tiêu chuẩn (SOP) nhân đạo.
- k. Các nghiên cứu xác định phương pháp nhân đạo nhất để làm côn trùng bất tỉnh (ví dụ thuốc gây mê), có thể giúp giảm bớt đau khổ cho ấu trùng trước khi chết. Ngoài ra, cần xác định tác động của các quy trình này đến sản phẩm cuối cùng.

6. KẾT LUẬN

Phúc lợi côn trùng là một lĩnh vực mới nổi, thu hút sự quan tâm lớn từ giới học thuật, nhà sản xuất và người tiêu dùng (Bear, 2019; De Goede et al., 2013; Delvendahl et al., 2022; Erens et al., 2012; IPIFF, 2019). Để nuôi côn trùng trong điều kiện phúc lợi cao, cần có những đánh giá thực chất, kết hợp hiểu biết đặc thù về lịch sử tự nhiên của loài, thông tin từ nhà sản xuất, và dữ liệu khoa học về sinh lý học, hình thái học, hành vi và phúc lợi (nếu có những dữ liệu như vậy). Các đánh giá này cần được cập nhật liên tục khi thực tiễn/công nghệ trong ngành phát triển, và khi hiểu biết của chúng ta về phản ứng của loài đối với điều kiện nuôi ngày càng sâu sắc hơn. Bài viết này là bước đi đầu tiên hướng tới mục tiêu đó, khi cung cấp bài tổng quan toàn diện đầu tiên về phúc lợi của BSF, dựa trên hiểu biết hiện tại về sinh học cơ bản của loài này cũng như các thực tiễn hiện hành trong ngành.

Côn trùng thường mang tiếng xấu, đặc biệt là những loài bị coi là “sâu hại” (một nhãn hiệu từng được gán cho cả ruồi lính đen; Tomberlin và Van Huis (2020)), điều này có thể khiến con người ít đồng cảm hơn với lợi ích của chúng. Ngoài ra, sự khác biệt về giải phẫu và hành vi giữa động vật có xương sống và côn trùng có thể tạo ra một cảm giác “khoảng cách đạo đức” (Bear, 2021), điều này có thể làm giảm cảm giác cấp thiết trong việc tìm hiểu phúc lợi của chúng ở cấp độ cá thể. Tuy nhiên, nhiều nhà sản xuất thực sự quan tâm đến vật nuôi côn trùng của mình và cần được hướng dẫn về cách nuôi và giết mổ chúng tốt nhất (Bear, 2019, 2021) — điều này đặc biệt quan trọng vì có hàng nghìn tỷ cá thể côn trùng bị ảnh hưởng, khi ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn chăn nuôi từ côn trùng tiếp tục phát triển (Rowe, 2020; Schukraft, 2019). Do đó, không có gì ngạc nhiên khi có nhiều lời kêu gọi cần thêm nghiên cứu trong lĩnh vực này (ví dụ IPIFF, 2019)

— điều mà chúng tôi hoàn toàn đồng tình. Tuy nhiên, những nghiên cứu đó sẽ khó có thể thực hiện kịp thời cho nhiều nhà sản xuất — và vô số côn trùng — trừ khi có thêm nguồn lực được đầu tư nhằm mở rộng nghiên cứu về phúc lợi và tri giác cho những loài động vật này. Sự hợp tác giữa các nhà tài trợ, nhà sản xuất, các nhà đạo đức học về phúc lợi động vật và các nhà côn trùng học sẽ là điều thiết yếu để cung cấp những hướng dẫn kịp thời, đặc thù theo loài, và có căn cứ về mặt phúc lợi cho ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn chăn nuôi từ côn trùng.

Bảng 2. Các vấn đề đáng quan ngại nhất hiện nay liên quan đến phúc lợi của BSF nuôi trong trang trại, và các khuyến nghị cải thiện phúc lợi dựa trên dữ liệu hiện có

Vấn đề đáng quan ngại	Khuyến nghị liên quan
Đói khát và bị từ chối thực hiện hành vi ăn uống	BSF trưởng thành có thể ưa mật ong hơn nước đường; tất cả con trưởng thành nên được cung cấp thức ăn qua máng ăn có thiết kế ngăn ngừa chết đuối.
Nhu cầu giao phối tự nhiên và hành vi liên quan chưa được đáp ứng	Cần cung cấp cho BSF trưởng thành nhiều không gian hơn và mật độ nuôi thấp hơn để khuyến khích các hành vi giao phối tự nhiên. Chúng tôi đề xuất mức tối thiểu 3 m ³ không gian, với 100 cá thể trưởng thành hoặc ít hơn, ở thời điểm hiện tại.
Nuôi trong lồng thiếu ánh sáng sau khi vũ hóa	Con trưởng thành bị giữ trong bóng tối từ 2-10 ngày sau khi vũ hóa sẽ trở nên lơ đãng và làm trì hoãn chuỗi hành vi giao phối tự nhiên. BSF nên được nuôi theo chu kỳ ngày-đêm tự nhiên ngay sau khi vũ hóa.
Giết mổ không tức thời, không gây mê	Nên ưu tiên các phương pháp giết mổ tức thời, cụ thể là nghiền, luộc, và đông lạnh trong LN2, với SOP đảm bảo cái chết nhân đạo cho toàn bộ côn trùng trong một lô. Nên sử dụng thuốc gây mê dạng hít được bác sĩ thú y khuyến nghị (ví dụ isoflurane) trước khi giết mổ (sau khi đảm bảo không có tác động bất lợi của việc sử

	dụng thuốc gây mê đến người tiêu dùng sản phẩm BSF).
Nhịn ăn trước khi giết mổ	96 giờ nhịn ăn không làm giảm mức nhiễm khuẩn ở ấu trùng BSF và nên ngừng thực hành này (dù xem thêm hướng nghiên cứu tương lai #9).
Căng thẳng ở ấu trùng do độ ẩm/oxy và tỷ lệ tử vong	Độ ẩm lý tưởng nằm trong khoảng 50-70% đối với hầu hết các chất nền, nhưng nên được xác định bằng thực nghiệm cho từng chất nền mới (bị ảnh hưởng bởi kết cấu và thành phần). Lớp chất nền nên có độ dày tối đa 5 cm để ngăn ngừa tình trạng kỵ khí ở sâu bên trong. Có thể sử dụng sức khí cưỡng bức, khuấy trộn chất nền thủ công, và bổ sung các chất nền xốp, có độ cứng cao để tăng nồng độ oxy.
Ấu trùng sợ ánh sáng bị tiếp xúc ánh sáng và căng thẳng liên quan đến xử lý	Chỉ nên thao tác với ấu trùng trong phòng tối. Có thể giảm thiểu căng thẳng và xáo trộn liên quan đến xử lý bằng cách cho phép ấu trùng tự thu hoạch hoặc nuôi ấu trùng theo lô cùng độ tuổi để có thể thu hoạch cùng lúc. Việc rửa trước khi giết mổ không có tác dụng đối với mức nhiễm khuẩn ở ấu trùng các loài côn trùng khác (cần thêm dữ liệu về ấu trùng BSF nuôi trên các chất nền khác nhau). Nhà sản xuất có thể cân nhắc bỏ hẳn thực hành này, hoặc giảm thiểu các yếu tố gây căng thẳng tiềm tàng bằng cách dùng phương pháp “nhúng” ngắn, nhẹ nhàng hơn thay vì phun/xịt gây kích động.
Thiếu chất nền hóa nhộng cho ấu trùng sau khi ăn	Cần cung cấp cho ấu trùng chất nền phù hợp để hóa nhộng (mùn cưa có vẻ tối ưu) trong thời gian chờ giết mổ hoặc tiêu thụ, kể cả khi được vận chuyển sống đến người tiêu dùng, để cho phép hành vi chôn mình tự nhiên diễn ra.
Chất nền thiếu dinh dưỡng cho ấu trùng	Có thể bao gồm bã bia, một số loại chất thải rau/quả/hạt/ngũ cốc và phân chuồng có hàm lượng dinh dưỡng thấp. Nên duy trì ít nhất 50% hàm lượng dinh dưỡng trong bất kỳ chất nền nào. Nhà sản xuất nên cân nhắc sử dụng chất nền không đồng nhất, có thể bằng cách trộn nhiều dòng chất thải (hoặc bổ sung glucose, dầu thực vật,

	protein, v.v.). Các chất nền có hàm lượng lớn vật liệu không tiêu hóa được nên được cấy vi sinh vật có lợi để hỗ trợ tiêu hóa.
--	--

Bảng 3. Các lĩnh vực ít đáng quan ngại hơn hiện nay đối với phúc lợi BSF nuôi và khuyến nghị cải thiện phúc lợi dựa trên dữ liệu hiện có

Vấn đề đáng quan ngại	Khuyến nghị liên quan
Hiện tượng ăn thịt đồng loại của con trưởng thành	BSF trưởng thành và ấu trùng nên luôn được nuôi tách biệt.
Chấn thương và tử vong ở ấu trùng liên quan đến tình trạng quá đông khi nuôi và giết mổ ruồi lính đen để vận chuyển đến người tiêu dùng	Cần cung cấp cho ấu trùng nguồn dinh dưỡng dồi dào và duy trì mật độ 1-2 ấu trùng/cm ² để hạn chế hiện tượng ăn thịt đồng loại, quá nhiệt, cạnh tranh và lây truyền mầm bệnh. Giải thích: ấu trùng vận chuyển sống thường được giữ trong điều kiện không tối ưu để ngăn quá trình hóa nhộng, bao gồm: không có thức ăn/nước uống, không có chất nền hóa nhộng, nhiệt độ thấp. Ngoài ra, người tiêu dùng thường được hướng dẫn loại bỏ ấu trùng dư thừa bằng cách đông lạnh trong 24 giờ. Khuyến nghị: nhà sản xuất nên cung cấp thức ăn, chất nền hóa nhộng và hướng dẫn về điều kiện nuôi lý tưởng; nên khuyến cáo dùng nước sôi để tiêu hủy ấu trùng theo từng đợt nhỏ, vì cái chết nhanh hơn có thể giảm đau đớn. Nhà sản xuất nên cân nhắc cho phép mua số lượng ấu trùng nhỏ hơn nhưng thường xuyên hơn, để tránh tình trạng nuôi kém hiệu quả hoặc giết mổ không đúng cách do người tiêu dùng thiếu kinh nghiệm gây ra.

Bảng 4. Các lĩnh vực đáng quan ngại mới nổi đối với phúc lợi BSF nuôi và khuyến nghị

Vấn đề đáng quan ngại	Khuyến nghị liên quan
-----------------------	-----------------------

Mầm bệnh và ký sinh trùng	Nhà sản xuất nên hợp tác chặt chẽ với các phòng thí nghiệm có khả năng chẩn đoán, để nghiên cứu bất kỳ bệnh/ký sinh trùng nào được phát hiện trong cơ sở của họ. Các nhà nghiên cứu nên khảo sát các quần thể BSF hoang dã để tìm mầm bệnh và ký sinh trùng. Ngoài ra, nhà sản xuất nên: (1) vệ sinh cơ sở sản xuất thường xuyên; (2) khử trùng thiết bị mỗi khi thiết bị tiếp xúc với lô côn trùng mới; (3) chỉ cho phép nhân viên đã được đào tạo, với thiết bị bảo hộ cá nhân được khử trùng đúng cách, vào cơ sở sản xuất; (4) giám sát quần thể để phát hiện dấu hiệu bệnh và cách ly ngay các quần thể có biểu hiện kém khỏe mạnh; (5) tránh đưa ruồi hoang dã vào đàn nuôi; (6) tránh cho ăn quá nhiều (không quá 30-50% lượng thức ăn cũ chưa tiêu hóa); (7) chủ động điều chỉnh cộng đồng vi sinh vật trong chất nền dùng để nuôi ấu trùng (ví dụ: tăng cường vi khuẩn có lợi/khử trùng vi khuẩn có hại); (8) nuôi tách biệt con trưởng thành và ấu trùng; và (9) nuôi tách biệt các loài côn trùng khác nhau để giảm nguy cơ lây truyền bệnh giữa các loài.
Biến đổi gen ở con trưởng thành và ấu trùng	Cần chủ động nghiên cứu tác động đến phúc lợi của bất kỳ biến đổi gen mới nào, hoặc chương trình chọn lọc giống nào. Ví dụ, những con trưởng thành không thể bay vì phạm khả năng thể hiện các hành vi bay bình thường của loài. Việc điều chỉnh ấu trùng nhằm kéo dài thời gian cho ăn và tăng kích thước cơ thể cũng có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe hoặc hạn chế các hành vi bình thường.
Cho ấu trùng ăn phân động vật	Phân động vật thường đồng nhất, có hàm lượng dinh dưỡng thấp, làm giảm tỷ lệ sống sót và kích thích cơ thể của ấu trùng; không nên dùng làm thức ăn cho ấu trùng trước khi áp dụng các phương pháp xử lý (ví dụ: cấy vi sinh vật, trộn với các loại chất thải khác) có thể được phát triển để làm chúng phù hợp hơn cho sự sống sót và phát triển của ấu trùng.

Lời cảm ơn

Chúng tôi cảm ơn Daniela R. Walldhorn vì những góp ý hữu ích và đội ngũ nhân viên RP vì các cuộc trao đổi phong phú về phúc lợi côn trùng. MB không phải là nghiên cứu sinh sau tiến sĩ của Quỹ Khoa học Quốc gia Hoa Kỳ (NSF) khi thực hiện công trình này, nhưng là nghiên cứu sinh sau tiến sĩ của NSF tại thời điểm xuất bản: mọi quan điểm, phát hiện, kết luận hoặc khuyến nghị được trình bày trong bản thảo này là của các tác giả và không nhất thiết phản ánh quan điểm của NSF.

Tuyên bố tài trợ

Rethink Priorities đã tài trợ cho MB trong quá trình nghiên cứu, viết và/hoặc biên tập công trình này, và tài trợ cho BF và SC trong quá trình rà soát/biên tập nội dung.

Xung đột lợi ích

Meghan Barrett báo cáo rằng đã nhận hỗ trợ tài chính từ Rethink Priorities. Meghan Barrett và Bob Fischer báo cáo có mối quan hệ với Rethink Priorities dưới hình thức: Nhân viên. Shaphan Yong Chia báo cáo có mối quan hệ với Rethink Priorities dưới hình thức: tư vấn hoặc cố vấn. Jeffery K. Tomberlin báo cáo có mối quan hệ với EVO Conversion Systems, LLC dưới hình thức: chủ sở hữu.

References

- Adamo, S.A. (2016). Do insects feel pain? A question at the intersection of animal behaviour, philosophy and robotics. *Animal Behaviour*, 118, 75–79.
- Addeo, N.F., Li, C., Rusch, T.W., Dickerson, A.J., Tarone, A.M., Bovera, F. & Tomberlin, J.K. (2021). Impact of age, size, and sex on adult black soldier fly [*Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae)] thermal preference. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8, 129–139. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0076>
- Alcock, J. (1990). A large male competitive advantage in a lekking fly, *Hermetia comstocki* Williston (Diptera: Stratiomyidae). *Psyche*, 97, 267–279.
- Alcock, J. (1993). The effects of male body size on territorial and mating success in the landmark-defending fly *Hermetia comstocki* (Stratiomyidae). *Ecological Entomology*, 18, 1–6.
- Alvarez, D., Wilkinson, K.A., Treilhou, M., Castillo, D. & Sauvain, M. (2019). Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacteriales: Helicobacteraceae). *Journal of Insect Science*, 19, 17.
- American Veterinary Medical Association (AVMA) (2020). *AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition*. AVMA, Schaumburg, IL, USA.
- Andersen, M.K., Jensen, N.J.S., Robertson, R.M. & Overgaard, J. (2018). Central nervous system shutdown underlies acute cold tolerance in tropical and temperate *Drosophila* species. *Journal of Experimental Biology*, 221, jeb179598.
- Awal, M.R., Rahman, M.M., Choudhury, M.A.R., Hasan, M.M., Rahman, M.T. & Mondal, M.F. (2022). Influences of artificial light on mating of black soldier fly (*Hermetia illucens*) – a review. *International Journal of Tropical Insect Science*. <https://doi.org/10.1007/s42690-022-00786-7>
- Badre, N.H., Martin, M.E. & Cooper, R.L. (2005). The physiological and behavioral effects of carbon dioxide on *Drosophila melanogaster* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140, 363–376.
- Bałaży, S. (1993). *Entomophthorales*. Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland.

Banks, I.J., Gibson, W.T. & Cameron, M.M. (2013). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Tropical Medicine and International Health*, 19, 14–22.

Barragan-Fonseca, K.B., Dicke, M. & Van Loon, J.J.A. (2018). Influence of larval density and dietary nutrient concentration on performance, body protein, and fat contents of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166, 761–770.

Barrett, M., Godfrey, R.K., Sterner, E.J. & Waddell, E.A. (2022). Impact of development and adult sex on brain cell numbers in the black soldier fly, *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae). *Biorxiv*. <https://doi.org/10.1101/2022.01.25.477588>

Barron, A. & Klein, C. (2016). What insects can tell us about the origins of consciousness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 4900–4908.

Barros-Cordeiro, K.B., B  o, S.N. & Pujol-Luz, J.R. (2014). Intra-puparial development of the black soldier fly, *Hermetia illucens*. *Journal of Insect Science*, 14, 83.

Baumann, A. (2019). Insect welfare in food and feed production. In: *Book of abstracts of the Insecta Conference 2019*, 5–6 September 2019, Potsdam, Germany. Available at: <https://tinyurl.com/4s5vr6x9>

Bear, C. (2019). Approaching insect death: understandings and practices of the UK’s edible insect farmers. *Society and Animals*, 27, 751–768.

Bear, C. (2021). Making insects tick: responsibility, attentiveness and care in edible insect farming. *Environment and Planning E: Nature and Space*, 4, 1010–1030.

Becnel, J.J. & Andreadis, T.G. (2014). Microsporidia in insects. In: Weiss, L.M. & Becnel, J.J. (eds.) *Microsporidia: pathogens of opportunity*. Wiley-Blackwell, Ames, IA, USA, pp.521–570.

Bekker, N.S., Heidelberg, S., Vestergaard, S.Z., Nielsen, M.E., Riisgaard-Jensen, M., Zeuner, E.J., Bahrndorff, S. & Eriksen, N.T. (2021). Impact of substrate

moisture content on growth and metabolic performance of black soldier fly larvae. *Waste Management*, 127, 73–79.

Beresford, D.V. & Sutcliffe, J.F. (2009). The effect of *Macrocheles muscaedomesticae* and *M. subbadius* (Acarina: Macrochelidae) phoresy on the dispersal of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Biotaxa*, 23, 1–30.

Bertinetti, C., Samayoa, A.C. & Hwang, S. (2019). Effects of feeding adults of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on longevity, oviposition, and egg hatchability: insights into optimizing egg production. *Journal of Insect Science*, 19, 19.

Beskin, K.V., Holcomb, C.D., Cammack, J.A., Crippen, T.L., Knap, A.H., Sweet, S.T. & Tomberlin, J.K. (2018). Larval digestion of different manure types by the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) impacts associated volatile emissions. *Waste Management*, 74, 213–220.

Bessa, L.W., Pieterse, E., Marais, J., Dhanani, K. & Hoffman, L.C. (2021). Food safety of consuming black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae: microbial, heavy metal, and cross-reactive allergen risks. *Foods*, 10, 1934.

Beuk, P.L.T. (1990). Honeydew as a food source for insects and in particular for soldier flies (Diptera: Stratiomyidae). *Phegea*, 18, 137–140.

Biancarosa, I., Liland, N.S., Biemans, D., Araujo, P., Bruckner, C.G., Waagbø, R., Torstensen, B.E., Lock, E. & Amlund, H. (2017). Uptake of heavy metals arsenic in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae grown on seaweed-enriched media. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 2176–2183. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8702>

Birch, J. (2017). Animal sentience and the precautionary principle. *Animal Sentience*, 16(1). <https://doi.org/10.51291/2377-7478.1200>

Birch, J. (2020). The search for invertebrate consciousness. *Noûs*, 56, 133–153. <https://doi.org/10.1111/nous.12351>

Bjørnson, S. & Oi, D. (2014). Microsporidia biological control agents and pathogens of beneficial insects. In: Weiss, L.M. & Becnel, J.J. (eds.) *Microsporidia: pathogens of opportunity*. Wiley-Blackwell, Ames, IA, USA, pp.635–670.

Booth, D.C. & Sheppard, D.C. (1984). Oviposition of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): eggs, masses, timing, and site characteristics. *Environmental Entomology*, 13, 421–423.

Bosch, G., Van der Fels-Klerx, H.J., De Rijk, T.C. & Oonincx, D.G.A.B. (2017). Aflatoxin B1 tolerance and accumulation in black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) and yellow mealworms (*Tenebrio molitor*). *Toxins*, 9, 185.

Bradley, S.W., Booth, D.C. & Sheppard, D.C. (1984). Parasitism of the black soldier fly by the *Trichopria* sp. (Hymenoptera: Diapriidae) in poultry houses. *Environmental Entomology*, 13, 451–454.

Brambell, F.W.R. (1965). *Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems*. Her Majesty's Stationery Office, London, UK.

Bretman, A., Westmancoat, J.D., Gage, M.J.G. & Chapman, T. (2013). Costs and benefits of lifetime exposure to mating rivals in male *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 67, 2413–2422.

Browning, H. & Birch, J. (2022). Animal sentience. *Philosophy Compass*, e12822.

Bruins, B.G., Scharloo, W. & Thörig, G.E.W. (1991). The harmful effect of light on *Drosophila* is diet dependent. *Insect Biochemistry*, 21, 535–539.

Bruno, D., Bonelli, M., Cadamuro, A.G., Reguzzoni, M., Grimaldi, A., Casartelli, M. & Tettamanti, G. (2019). The digestive system of the adult *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): morphological features and functional properties. *Cell and Tissue Research*, 378, 221–238.

Cammack, J.A. & Tomberlin, J.K. (2017). The impact of diet protein and carbohydrate on select life-history traits of the black soldier fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Insects*, 8, 56.

Canary, E.G. (2009). *Diseño y gestion de un proceso para reciclar desechos organicos con la larva Hermetia illucens para producir harina de larva*. MSc-thesis, Facultad de Ingeniera Chia, Universidad de la Sabana, Colombia.

Caruso, D., Devic, E., Subamia, I.W., Talamond, P. & Baras, E. (2013). *Technical handbook of domestication and production of Diptera black soldier fly (BSF) Hermetia illucens, Stratiomyidae*. PT Penerbit IPB Press, Kampus IPB Taman Kencana, Bogor, Indonesia, 141 pp.

Chapman, T. & Partridge, L. (1996). Female fitness in *Drosophila melanogaster*: an interaction between the effect of nutrition and of encounter rate with males. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 263, 755–759.

Chattopadhyay, A., Gilstrap, A.V. & Galko, M.J. (2012). Local and global methods of assessing thermal nociception in *Drosophila* larvae. *Journal of Visualized Experiments*, 63, e3837.

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

Chia, S.Y. et al. (2018). Threshold temperatures and thermal requirements of black soldier fly *Hermetia illucens*: implications for mass production. *PLoS ONE*, 13, e0206097.

Chia, S.Y., Tanga, C.M., Van Loon, J.J. & Dicke, M. (2019). Insects for sustainable animal feed: inclusive business models involving smallholder farmers. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 41, 23–30.

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

Cooper, J.E. (2001). Invertebrate anesthesia. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 4, 57–66.

Cooper, J.E. (2011). Anesthesia, analgesia, and euthanasia of invertebrates. *ILAR Journal*, 52, 196–204.

Copello, A. (1926). *Biologia de Hermetia illucens*. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 1, 23–27.

Costa, L.G., Giordano, G., Guizzetti, M. & Vitalone, A. (2008). Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience*, 13, 1240–1249.

De França, S.M. et al. (2017). The sublethal effects of insecticides in insects. In: Shields, V.C.D. (ed.) *Biological control of pest and vector insects*. IntechOpen, London, UK. <https://doi.org/10.5772/66461>

De Goede, D.M., Erens, J., Kapsomenou, E. & Peters, M. (2013). Large scale insect rearing and animal welfare. In: Röcklinsberg, H. & Sandin, P. (eds.) *The ethics of consumption*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, pp.236–243.

De Souza Vilela, J. et al. (2021). Black soldier fly larvae in broiler diets improve broiler performance and modulate the immune system. *Animal Nutrition*, 7, 695–706.

Del Pin, S.H. et al. (2021). Comparing theories of consciousness: why it matters and how to do it. *Neuroscience of Consciousness*, 2021(2), niab019.

Delvendahl, N., Rumpold, B.A. & Langen, N. (2022). Edible insects as food – insect welfare and ethical aspects from a consumer perspective. *Insects*, 13, 121.

Devic, E. & Maquart, P. (2015). *Dirhinus giffardii* (Hymenoptera: Chalcididae), parasitoid affecting black soldier fly production systems in West Africa. *Entomologia*, 3, 284.

Diener, S., Zurbrügg, C. & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management and Research*, 27, 603–610.

Diener, S., Zurbrügg, C. & Tockner, K. (2015). Bioaccumulation of heavy metals in the black soldier fly, *Hermetia illucens*, and effects on its life cycle. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4), 261–270.

Dixon, A.F.G. et al. (2009). Relationship between the minimum and maximum temperature thresholds for development in insects. *Functional Ecology*, 23, 257–264.

Dortmans, B.M.A., Diener, S., Verstappen, B.M. & Zurbrügg, C. (2017). *Black soldier fly biowaste processing - a step-by-step guide*. Eawag – Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Dübendorf, Switzerland.

Drobnis, E.Z. et al. (1993). Cold shock damage is due to lipid phase transition in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *Journal of Experimental Zoology*, 265, 432–437.

Dzepe, D., Nana, P., Fotso, A., Tchuinkam, T. & Djouaka, R. (2020). Influence of larval density, substrate moisture content, and feedstock ratio on life history traits of black soldier fly larvae. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6, 133–140.

Eawag Aquatic Research (n.d.). Small-scale drying methods for black soldier fly larvae. Eawag Aquatic Research. Available at: <https://tinyurl.com/mrv92drz>

Eilenberg, J. (2000). Entomophthorales on Diptera. In: Papp, L. & Darvas, B. (eds.) *Contributions to a manual of Palearctic Diptera (with special reference to flies of economic importance)*. Vol.1. Science Herald, Budapest, Hungary, pp.519–533.

Eilenberg, J. et al. (2018). Towards a coordination of European activities to diagnose and manage insect diseases in production facilities. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4, 157–166.

Eilenberg, J. et al. (2015). Diseases in insects produced for food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1, 87–102.

Enviroflight (n.d.). How you dry the fly matters. Enviroflight. Available at: <https://tinyurl.com/4zn8889s>

Erens, J., Van Es, S., Haverkort, F., Kapsomenou, E. & Luijben, A. (2012). *A bug's life: large-scale insect rearing in relation to animal welfare*. Wageningen UR, Wageningen, the Netherlands, 57 pp.

European Food Safety Authority (EFSA) (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13, 4257.

Fatchurochim, S., Geden, C.J. & Axtell, R.C. (1989). Filth fly (Diptera) oviposition and larval development in poultry manure of various moisture levels. *Journal of Entomological Science*, 24, 224–231.

Fauce, K.A. & Owens, L. (2008). The use of insects as a bioassay for *Penaeus merguensis* densovirus (PmergDNV). *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 1–6.

Fellner, S.K., Rybczynski, R. & Gilbert, L.I. (2005). Ca^{2+} signaling in prothoracicotropic hormone-stimulated prothoracic gland cells of *Manduca sexta*: evidence for mobilization and entry mechanisms. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35, 263–275.

Fisher, H. & Romano, N. (2020). Black soldier fly larval production in a stacked production system. Global Seafood Alliance, Portsmouth, NH, USA. Available at: <https://tinyurl.com/cezhf4ew>

Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) (2021). *Looking at edible insects from a food safety perspective: challenges and opportunities for the sector*. FAO, Rome, Italy. <https://doi.org/10.4060/cb4094en>

Franzen, C., Fischer, S., Schroeder, J., Schölmerich, J. & Schneuwly, S. (2005). Morphological and molecular investigations of *Tubulinoosema ratisbonensis* gen. nov., sp. nov. (Microsporidia: Tubulinoosematidae fam. nov.), a parasite infecting a laboratory colony of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52, 141–152.

Furman, D.P., Young, R.D. & Catts, P.E. (1959). *Hermetia illucens* (Linnaeus) as a factor in the natural control of *Musca domestica* Linnaeus. *Journal of Economic Entomology*, 52, 917–921.

Gaskin, T., Futerman, P. & Chapman, T. (2002). Increased density and male-male interactions reduce longevity in the medfly, *Ceratitis capitata*. *Animal Behaviour*, 63, 121–129.

Georgis, R., Mullens, B.A. & Meyer, J.A. (1987). Survival and movement of insect parasitic nematodes in poultry manure and their infectivity against *Musca domestica*. *Journal of Nematology*, 19, 292–295.

Gilchrist, A.S., Cameron, E.C., Sved, J.A. & Meats, A.W. (2012). Genetic consequences of domestication and mass rearing of pest fruit fly *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 105, 1051–1056.

Giunti, G., Campolo, O., Laudani, F. & Palmeri, V. (2018). Male courtship behaviour and potential for female mate choice in the black soldier fly *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae). *Entomologia Generalis*, 38, 29–46.

Gjerris, M., Gamborg, C. & Röcklinsberg, H. (2016). Ethical aspects of insect production for food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2, 101–110.

Gobbi, P., Martínez-Sááñez, A. & Rojo, S. (2013). The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, 110, 461–468.

Goller, F. & Esch, H. (1990). Comparative study of chill coma temperatures and muscle potentials in insect flight muscles. *Journal of Experimental Biology*, 150, 221–231.

Gooley, Z.C. & Gooley, A.C. (in press). Metabolic effects of anesthetics (cold, CO₂, and isoflurane) and captivity conditions in isolated honey bee (*Apis mellifera*) foragers under different ambient temperatures. *Journal of Apicultural Research*. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1950994>

Grueber, W.B., Jan, L.Y. & Jan, Y.N. (2002). Tiling of the *Drosophila* epidermis by multidendritic sensory neurons. *Development*, 129, 2867–2878.

Gunkel, C. & Lewbart, G.A. (2007). Invertebrates. In: West, G., Heard, D., Caulkett, N. (eds.) *Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia*. Blackwell Publishing, Ames, IA, USA, pp.191–208.

Gunther, D. (2018). Award contract 140D6318C0031: transgenic black soldier flies for sustainable, improved nutrition. SBIR. Available at: <https://www.sbir.gov/sbirsearch/detail/1592615>

Hakman, A., Peters, M. & Van Huis, A. (2013). *Toelatingsprocedure voor insecten als mini-vee voor het plaatsen van nieuwe insectensoorten op de lijst voor productie te houden dieren*. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.

Harrison, J., Woods, H.A. & Roberts, S.P. (2012). Nutrition, growth, and size. In: Burggren, W. (ed.) *Ecological and environmental physiology of insects*. Oxford University Press, Oxford, UK, pp.140–215.

Harvey, J.A., Heinen, R., Gols, R. & Thakur, M.P. (2020). Climate change-mediated temperature extremes and insects: from outbreaks to breakdowns. *Global Change Biology*, 26, 6685–6701.

Heussler, C.D. et al. (2018). Influence of three artificial light sources on oviposition and half-life of the black soldier fly, *Hermetia illucens*: improving small-scale indoor rearing. *PLoS ONE*, 13, e0197896.

Ho, C. (1985). Mass production of the predaceous mite, *Macrocheles muscadomesticae* (Scopoli) (Acarina: Macrochelidae), and its potential use as a biological control agent of house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Dissertation, University of Florida, Gainesville, FL, USA.

Hoffman, L. et al. (2021). Patterns of genetic diversity and mating systems in a mass-reared black soldier fly colony. *Insects*, 12, 480.

Holmes, L. (2010). Role of abiotic factors on the development and life history of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). Dissertation, University of Windsor, Windsor, ON, USA.

Holmes, L.A., VanLaerhoven, S.L. & Tomberlin, J.K. (2012). Relative humidity effects on the life history of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Physiological Ecology*, 41, 971–978.

Holmes, L.A., VanLaerhoven, S.L. & Tomberlin, J.K. (2013). Substrate effects on pupation and adult emergence of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Environmental Entomology*, 42, 370–374.

Holmes, L.A., VanLaerhoven, S.L. & Tomberlin, J.K. (2016). Lower temperature threshold of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) development. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2, 255–262.

Holmes, L.A., VanLaerhoven, S.L. & Tomberlin, J.K. (2017). Photophase duration affects immature black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) development. *Environmental Entomology*, 46, 1439–1447.

Hopkins, I., Newman, L.P., Gill, H. & Danaher, J. (2021). The influence of food waste rearing substrates on black soldier fly larvae protein composition: a systematic review. *Insects*, 12, 608.

Hosler, J.S., Burns, J.E. & Esch, H.E. (2000). Flight muscle resting potential and species-specific differences in chill-coma. *Journal of Insect Physiology*, 46, 621–627.

Hossan, M.R., Byun, D. & Dutta, P. (2010). Analysis of microwave heating for cylindrical shaped objects. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 53, 5129–5138.

Huang, C. et al. (2018). Impact of drying method on the nutritional value of the edible insect protein from black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae: amino acid composition, nutritional value evaluation, in vitro digestibility, and thermal properties. *European Food Research and Technology*, 245, 11–21.

Huey, R.B. & Stevenson, R.D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 19, 357–366.

International Platform for Insects as Food and Feed (IPIFF) (2019). *Ensuring high standards of animal welfare in insect production*. IPIFF, Brussels, Belgium. Available at: <https://tinyurl.com/yxjw9bdy>

Isibika, A., Vinnerås, B., Kibazohi, O., Zurbrügg, C. & Lalander, C. (2019). Pre-treatment of banana peel to improve composting by black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.)) larvae. *Waste Management*, 100, 151–160.

James, M.T. (1981). Stratiomyidae. In: McAlpine, J.F. et al. (eds.) *Manual of Nearctic Diptera*. Research Branch of Agriculture, Quebec, Canada, pp.497–511.

Jensen, A.B. & Eilenberg, J. (2001). Genetic variation within the insect-pathogenic fungus genus *Entomophthora*, focusing on the *E. muscae* complex, using PCR-RFLP of the ITS II and the LSU rDNA. *Mycological Research*, 105, 307–312.

Jensen, A.B., Eilenberg, J. & Lastra, C.L. (2009). Differential divergences of obligately insect-pathogenic *Entomophthora* species from fly and aphid hosts. *FEMS Microbiology Letters*, 300, 180–187.

Jetson, T. (2020). Phoretic mites on black soldier fly adults. Permies. Available at: <https://permies.com/t/147115/phoretic-mites-black-soldier-fly>

Jones, B.M. & Tomberlin, J.K. (2019). Impact of larval competition on life-history traits of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 112, 505–510.

Jones, B.M. & Tomberlin, J.K. (2021). Effects of adult body size on mating success of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Insects as Food and Feed*, 7, 5–20.

Joosten, L., Lecocq, A., Jensen, A.B., Haenen, O., Schmitt, E. & Eilenberg, J. (2020). Review of insect pathogen risks for the black soldier fly (*Hermetia illucens*) and guidelines for reliable production. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168, 432–447.

Jørgensen, L.B., Robertson, R.M. & Overgaard, J. (2020). Neural dysfunction correlates with heat coma and CT max in *Drosophila* but does not set the boundaries for heat stress survival. *Journal of Experimental Biology*, 223, jeb218750.

Julita, U., Fitri, L.L., Putra, R.E. & Permana, A.D. (2020). Mating success and reproductive behavior of black soldier fly *Hermetia illucens* L. (Diptera, Stratiomyidae) in tropics. *Journal of Entomology*, 17, 117–127.

Julita, U. et al. (2021). Ovitrap preference in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24, 562–570.

Julita, U. et al. (2018). Growth performance and nutritional composition of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae) reared on horse and sheep manure. *IOP Conference Series, Earth and Environmental Science*, 187:012071.

Khoobdel, M. et al. (2019). Natural host preferences of parasitoid wasps (Hymenoptera: Pteromalidae) on synanthropic flies. *European Journal of Translational Myology*, 29, 8197.

Kim, W. et al. (2010). The larval age and mouth morphology of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *International Journal of Industrial Entomology*, 21, 185–187.

Klüber, P., Bakonyi, D., Zorn, H. & Rühl, M. (2020). Does light color temperature influence aspects of oviposition by the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae)? *Journal of Economic Entomology*, 113, 2549–2552.

Lalander, C., Diener, S., Zurbrügg, C. & Vinnerås, B. (2019). Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Journal of Cleaner Production*, 208, 211–219.

Lalander, C., Ermolaev, E., Wiklicky, V. & Vinnerås, B. (2020). Process efficiency and ventilation requirements in black soldier fly larvae composting of substrates with high water content. *Science of the Total Environment*, 729, 138968.

Lalander, C., Fidjeland, J., Diener, S., Eriksson, S. & Vinnerås, B. (2015). High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 261–271.

Lam, K. et al. (2007). Proliferating bacterial symbionts on house fly eggs affect oviposition behaviour of adult flies. *Animal Behaviour*, 74, 81–92.

Lambert, H., Elwin, A. & D’Cruze, N. (2021). Wouldn’t hurt a fly? A review of insect cognition and sentience in relation to their use as food and feed. *Applied Animal Behaviour Science*, 243, 105432.

Lanzi, G. et al. (2006). Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Virology*, 80, 4998–5009.

Lardé, G. (1989). Investigation on some factors affecting larval growth in a coffee-pulp bed. *Biological Waste*, 30, 11–19.

Larouche, J. (2019). Processing methods for the black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae: from feed withdrawal periods to killing methods. MSc-thesis, Université Laval, Québec, QC, Canada.

Larouche, J. et al. (2019). Effects of killing methods on lipid oxidation, colour, and microbial load of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Animals*, 9, 182.

Laursen, S.F. et al. (2021). Contrasting manual and automated assessment of thermal stress responses and larval body size in black soldier flies and houseflies. *Insects*, 12, 380.

Lecocq, A. (2019). Diseases and disorders in black soldier fly (BSF), *Hermetia illucens*. University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark. Available at: <https://tinyurl.com/3z9pkbxc>

Lecocq, A. et al. (2021). *Hermetia illucens* adults are susceptible to infection by the fungus *Beauveria bassiana* in laboratory experiments. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7, 63–68.

Lee, K.S., Yun, E.Y. & Goo, T.W. (2021). Optimization of feed components to improve *Hermetia illucens* growth and development of oil extractor to produce biodiesel. *Animals*, 11, 2573.

Li, W. et al. (2015). Simultaneous utilization of glucose and xylose for lipid accumulation in black soldier fly. *Biotechnology and Biofuels*, 8, 117.

Liu, Q. et al. (2008). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environmental Entomology*, 37, 1525–1530.

Liu, Z. et al. (2020). Mating success of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) under four artificial light sources. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 205, 111815.

Lopes, I.G., Lalander, C., Vidotti, R.M. & Vinnerås, B. (2020). Reduction of bacteria in relation to feeding regimes when treating aquaculture waste in fly larvae composting. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1616.

Lopez-Bellido, R. & Galko, M.J. (2020). An improved assay and tools for measuring mechanical nociception in *Drosophila* larvae. *Journal of Visualized Experiments*, 164, e61911. <https://doi.org/10.3791/61911>

Luong, L.T., Horn, C.J. & Brophy, T. (2017). Mitey costly: energetic costs of parasite avoidance and infection. *Physiological and Biochemical Zoology*, 90, 471–477.

Lynch, K.M., Steffen, E.J. & Arendt, E.K. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, 122, 553–568.

Ma, J. et al. (2018). Dynamic effects of initial pH of substrate on biological growth and metamorphosis of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Environmental Entomology*, 47, 159–165.

Macavei, L.I., Benassi, G., Stoian, V. & Maistrello, L. (2020). Optimization of *Hermetia illucens* (L.) egg laying under different nutrition and light conditions. *PLoS ONE*, 15, e0232144.

Maciel-Vergara, G. & Ros, V.I.D. (2017). Viruses of insects reared for food and feed. *Journal of Invertebrate Pathology*, 147, 60–75.

Maciel-Vergara, G., Jensen, A.B. & Eilenberg, J. (2018). Cannibalism as a possible entry route for opportunistic pathogenic bacteria to insect hosts, exemplified by *Pseudomonas aeruginosa*, a pathogen of the giant mealworm *Zophobas morio*. *Insects*, 9, 88.

MacMillan, H.A. et al. (2017). A critical test of *Drosophila* anaesthetics: Isoflurane and sevoflurane are benign alternatives to cold and CO₂. *Journal of Insect Physiology*, 101, 97–106.

Maekawa, S. & Elert, K. (2003). The use of oxygen-free environments in the control of museum insect pests. Getty Conservation Institute, Los Angeles, CA, USA.

Magwere, T., Chapman, T. & Partridge, L. (2004). Sex differences in the effect of dietary restriction on life span and mortality rates in female and male *Drosophila melanogaster*. *The Journals of Gerontology A*, 59, 3–9.

Makkar, H.P.S., Tran, G., Huez , V. & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on the use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1–33.

Marquardt, N. et al. (2018). Euthanasia of laboratory mice: are isoflurane and sevoflurane real alternatives to carbon dioxide? *PLoS ONE*, 13, e0203793.

Mat, K. et al. (2021). Preliminary study on the effect of feeding black soldier fly larvae (BSFL) on growth and laying performance of Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *International Journal of Agricultural Technology*, 17, 977–986.

MAX Industrial Microwave (2016). Black soldier fly larva microwave drying report. MAX Industrial Microwave, Yantai City, China. Available at: <https://tinyurl.com/5bdh7zru>

MAX Industrial Microwave (n.d.). Insect and bug drying. MAX Industrial Microwave, Yantai City, China. Available at:

<https://www.maxindustrialmicrowave.com/microwave-drying-equipment-for-insect-and-bug-p-4.html>

McCallion, K. et al. (2021). Isoflurane anesthesia in the Madagascar hissing cockroach (*Gromphadorhina portentosa*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 52, 710–714.

Meneguz, M., Gasco, L. & Tomberlin, J.K. (2018). Impact of pH and feeding system on black soldier fly (*Hermetia illucens*, L; Diptera: Stratiomyidae) larval development. *PLoS ONE*, 13, e0202591.

Meyling, N. & Eilenberg, J. (2007). Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43, 145–155.

Mikhalevich, I. & Powell, R. (2020). Minds without spines: evolutionarily inclusive animal ethics. *Animal Sentience*, 29(1). <https://doi.org/10.51291/2377-7478.1527>

Miranda, C. (2021). Bacteria, and viruses, and fungi: oh my! EVO Conversion Systems. Available at: <https://tinyurl.com/3daend3y>

Miranda, C.D., Cammack, J.A. & Tomberlin, J.K. (2020). Mass production of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae) reared on three manure types. *Animals*, 10, 1243.

Mitchell, E.R., Copeland, W.W. & Tingle, F.C. (1975). Parasites of filth-breeding Diptera in poultry houses in North Central Florida. *Florida Entomologist*, 57(4), 383–384.

Moretta, A. et al. (2020). A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the black soldier fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Reports*, 10, 16875.

Muldrew, K. et al. (2004). The water to ice transition: implications for living cells. In: Fuller, B., Lane, N. & Benson, E.E. (eds.) *Life in the frozen state*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp.67–108.

Müller, A., Wolf, D. & Gutzeit, H.O. (2017). The black soldier fly, *Hermetia illucens* – a promising source for sustainable production of proteins, lipids, and

bioactive substances. *Zeitschrift für Naturforschung*, 72, 351–363.
<https://doi.org/10.1515/znc-2017-0030>

Murray, M.J. (2012). Euthanasia. In: Lewbart, G.A. (ed.) *Invertebrate medicine*, 2nd edn. Wiley-Blackwell, Ames, IA, USA, pp.441–444.

Myers, H.M., Tomberlin, J.K., Lambert, B.D. & Kattes, D. (2008). Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology*, 37, 11–15.

Nahm, K.H. (2003). Evaluation of the nitrogen content in poultry manure. *World's Poultry Science Journal*, 59, 77–88.

Nakamura, S., Ichiki, R.T., Shimoda, M. & Morioka, S. (2016). Small-scale rearing of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), in the laboratory: low-cost and year-round rearing. *Applied Entomological Zoology*, 51, 161–166.

Neely, G.G. et al. (2011). TrpA1 regulates thermal nociception in *Drosophila*. *PLoS ONE*, 6, e24343.

Neven, L.G. (2000). Physiological responses of insects to heat. *Postharvest Biology and Technology*, 21, 103–111.

Newby, R. (1997). Use of soldier fly larvae in organic waste management. In: Proceedings of the 'Compost 97' Conference, 14–15 July 1997, Griffith University, Brisbane, Australia.

Newton, R. (n.d.). Process manual for the establishment of a black soldier fly (*Hermetia illucens*) production system. Available at: <https://tinyurl.com/2sh88bxf>

Nguyen, T. (2010). Influence of diet on black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) (Diptera: Stratiomyidae) life history traits. Dissertation, University of Windsor, Windsor, Canada. Available at: <https://scholar.uwindsor.ca/etd/8287>

Nyakeri, E.M., Ogola, H.J.O., Ayieko, M.A. & Amimo, F.A. (2017). Valorisation of organic waste material: growth performance of wild black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) reared on different organic wastes. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3, 193–202.

Ogaugwu, C.E. & Durvasula, R.V. (2017). Developing the arsenal against pest and vector Dipterans: inputs of transgenic and paratransgenic biotechnologies. In: Shields, V.C.D. (ed.) *Biological control of pest and vector insects*. IntechOpen, London, UK. <https://doi.org/10.5772/66461>

Oldroyd, H. (1973). *Diptera Brachycera: Tabanoidea and Asiloidea*. Handbooks for the identification of British insects 9/4. Royal Entomological Society, London, UK.

Oliveira, F.R., Doelle, K. & Smith, R.P. (2016). External morphology of *Hermetia illucens* Stratiomyidae: Diptera (L.1758) based on electron microscopy. *Annual Research and Review in Biology*, 9, 1–10.

Oonincx, D.G.A.B. et al. (2016). Photoreceptor spectral sensitivity of the compound eyes of black soldier fly (*Hermetia illucens*) informing the design of LED-based illumination to enhance indoor reproduction. *Journal of Insect Physiology*, 95, 133–139.

Oswald, M. et al. (2011). A novel thermosensitive escape behavior in *Drosophila* larvae. *Fly*, 5, 304–306.

Palma, L. et al. (2018). Cultivation of black soldier fly larvae on almond byproducts: impacts of aeration and moisture on larvae growth and composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5893–5900.

Pang, W. et al. (2020). Reducing greenhouse gas emissions and enhancing carbon and nitrogen conversion in food wastes by the black soldier fly. *Journal of Environmental Management*, 260, 110066.

Park, K. et al. (2010). Seasonal pupation, adult emergence and mating of black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) in artificial rearing systems. *International Journal of Industrial Entomology*, 21, 189–191.

Park, S., Kim, J. & Yoe, S.M. (2015). Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Developmental and Comparative Immunology*, 52, 98–106.

Park, H.H. (2016). Black soldier fly larvae manual. University of Massachusetts – Amherst Student Showcase, 14. Available at: https://scholarworks.umass.edu/sustainableumass_studentshowcase/14

Parween, R. & Pratap, R. (2015). Modelling of soldier fly halteres for gyroscopic oscillations. *Biology Open*, 4, 137–145.

Patterson, E.I. et al. (2020). Exploiting insect-specific viruses as a novel strategy to control vector-borne disease. *Current Opinion in Insect Science*, 39, 50–56.

Paxton, H., Daley, M.A., Corr, S.A. & Hutchinson, J.R. (2013). The gait dynamics of the modern broiler chicken: a cautionary tale of selective breeding. *Journal of Experimental Biology*, 216, 3237–3248.

Paz, A.S.P., Carrejo, N.S. & Rodriguez, C.H.G. (2015). Effects of larval density and feeding rates on the bioconversion of vegetable waste using black soldier fly larvae *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Waste and Biomass Valorization*, 6, 1059–1065.

Pellett, S. et al. (2013). BIAZA recommendations for ethical euthanasia of invertebrates. British and Irish Association of Zoos and Aquariums, London, UK.

Perez-Leanos, A. et al. (2017). Ectoparasitic mites and their *Drosophila* hosts. *Fly*, 11, 10.

Petersen, M. et al. (2018). Assaying thermo-nociceptive behavior in *Drosophila* larvae. *Biology Protocols*, 8, e2737.

Polak, M. & Markow, T.A. (1995). Effect of ectoparasitic mites on sexual selection in a Sonoran Desert fruit fly. *Evolution*, 49, 660–669.

Polak, M. (1996). Ectoparasitic effects on host survival and reproduction: the *Drosophila-Macrocheles* association. *Ecology*, 77, 1379–1389.

Polak, M. (1998). Effects of ectoparasitism on host condition in the *Drosophila-Macrocheles* system. *Ecology*, 79, 1807–1817.

Popa, R. & Green, T.R. (2012). Using black soldier fly larvae for processing organic leachates. *Journal of Economic Entomology*, 105, 374–378.

Privalov, P. (1990). Cold denaturation of proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 25, 281–305.

Proctor, H. (2012). Animal sentience: where are we and where are we heading? *Animals*, 2, 628–639.

Purkayastha, D. & Sarkar, S. (2021). Sustainable waste management using black soldier fly larva: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s12762-021-03524-7>

Purschke, B. et al. (2017). Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on the growth performance and composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for use in the feed and food value chain. *Food Additives and Contaminants*, 34, 1410–1420.

Rehman, K.U. et al. (2017a). Cellulose decomposition and larval biomass production from the co-digestion of dairy manure and chicken manure by mini-livestock (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Environmental Management*, 196, 458–465.

Rehman, K.U. et al. (2017b). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Cleaner Production*, 154, 366–373.

Rehman, K.U. et al. (2019). Enhanced bioconversion of dairy and chicken manure by the interaction of exogenous bacteria and black soldier fly larvae. *Journal of Environmental Management*, 237, 75–83.

Rhode, C. et al. (2020). Genetic and phenotypic consequences of early domestication in black soldier flies (*Hermetia illucens*). *Animal Genetics*, 51, 752–762.

Romano, N., Fischer, H. & Egnew, N. (2020). Color and sugar preferences of adult black soldier fly (*Hermetia illucens*) (Diptera: Stratiomyidae) for feeding and oviposition. *Journal of Environmental Biology*, 41, 1132–1137.

Rowe, A. (2020). Insects raised for food and feed – global scale, practices, and policies. *Effective Altruism Forum*. Available at: <https://tinyurl.com/yxzf8hec>

Rozkošný, R. (1982). A biosystematic study of the European Stratiomyidae (Diptera). Vol.1. Dr W Junk Publishers, The Hague, the Netherlands, 401 pp.

Rust, M.K. & Kennedy, J.M. (1993). The feasibility of using modified atmospheres to control insect pests in museums. Getty Conservation Institute Scientific Program Report. Getty Conservation Institute, Los Angeles, CA, USA.

Rust, M.K. & Kennedy, J.M. (1995). Enhancing the effectiveness of modified atmospheres to control insect pests in museums. Getty Conservation Institute Scientific Program Report. Getty Conservation Institute, Los Angeles, CA, USA.

Safaa, M.A., Heikal, H.M. & Abd El-Raheem, A.M. (2014). *Macrochelid mite, Macrocheles muscaedomesticae* (Acarina: Macrochelidae) as a biological control agent against house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Egypt. *International Journal of Zoological Research*, 10, 30–36.

Scala, A. et al. (2020). Rearing substrate impacts growth and macronutrient composition of *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) larvae produced at an industrial scale. *Scientific Reports*, 10, 19448.

Schimpf, N.G., Matthews, P.G. & White, C.R. (2012). Cockroaches that exchange respiratory gases discontinuously survive food and water restriction. *Evolution*, 66, 597–603.

Schneider, J.C. (2020). Effects of light intensity on mating of the black soldier fly (*Hermetia illucens*, Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Insects as Food and Feed*, 6, 111–119.

Schukraft, J. (2019). Invertebrate welfare cause profile. *Effective Altruism Forum*. Available at: <https://tinyurl.com/bdfknd47>

Shapiro-Ilan, D.I. et al. (2009). Characterization of biocontrol traits in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis georgiana* (Kesha strain), and phylogenetic analysis of the nematode's symbiotic bacteria. *Biological Control*, 51, 377–387.

Sheppard, D.C., Tomberlin, J.K., Joyce, J.A., Kiser, B.C. & Sumner, S.M. (2002). Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Medical Entomology*, 39, 695–698.

Silva, G.D.P. & Souza, M.J.R. (2016). Análise de variáveis de projeto de sistema solar fotovoltaico utilizando o modelo sam: uma comparação entre Belém, Fortaleza e Brasília. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, 5, 46220.

Sinclair, B.J. et al. (2016). Can we predict ectotherm responses to climate change using thermal performance curves and body temperatures? *Ecology Letters*, 19, 1372–1385.

Sindermann, D. et al. (2021). Industrial processing technologies for insect larvae. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7, 857–875.

Skovgård, H. (2002). Dispersal of the filth fly parasitoid *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a swine facility using fluorescent dust marking and sentinel pupal bags. *Environmental Entomology*, 31, 425–431.

Soderstrom, E.L., Brandi, D.G. & Mackey, B.E. (1992). High temperature combined with carbon dioxide enriched or reduced oxygen atmosphere for control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 28, 235–238.

Sørensen, J., Addison, M. & Terblanche, J. (2012). Mass-rearing of insects for pest management: challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. *Crop Protection*, 38, 87–94.

Sprangers, T. et al. (2017). Cold hardiness of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Economic Entomology*, 110, 1501–1507.

Ståhls, G. et al. (2020). The puzzling mitochondrial phylogeography of the black soldier fly (*Hermetia illucens*), the commercially most important insect protein species. *BMC Evolutionary Biology*, 20, 60.

Steinhaus, E.A. (1958). Crowding as a possible stress factor in insect disease. *Ecology*, 39, 503–514.

Stentiford, G.D. et al. (2016). Microsporidia – emergent pathogens in the global food chain. *Trends in Parasitology*, 32, 336–348.

Stewart, R.L. et al. (2017). Using distiller's grains in beef cattle diets. UGA Cooperative Extension Bulletin 1482. University of Georgia, Athens, GA, USA. Available at: <https://tinyurl.com/yc284trw>

Sundberg, C. et al. (2013). Effects of pH and microbial composition on odour in food waste composting. *Waste Management*, 33, 204–211.

Symton BSF (2016). Description of 2 diseases for black soldier fly. YouTube video. Available at: <https://www.youtube.com/watch?v=RexK0UK2n5Uandt=1s>

Tanga, C.M. et al. (2021). Organic waste substrates induce important shifts in gut microbiota of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.): coexistence of conserved, variable, and potential pathogenic microbes. *Frontiers in Microbiology*, 12, 635881.

Tingle, F.C., Mitchell, E.R. & Copeland, W.W. (1975). The soldier fly, *Hermetia illucens*, in poultry houses in North Central Florida. *Journal of the Georgia Entomological Society*, 10, 179–183.

Tomberlin, J.K. & Sheppard, D.C. (2001). Lekking behavior of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Florida Entomologist*, 84, 729–730.

Tomberlin, J.K. & Sheppard, D.C. (2002). Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *Journal of Entomological Science*, 37, 345–352.

Tomberlin, J.K. (2017). The story of a plant – how Kudzu started a black soldier fly colony. EVO Conversion Systems. Available at: <https://tinyurl.com/5dk4e3s9>

Tomberlin, J.K. (2018). Lights, camera, action – how do black soldier flies respond to light? A possible answer. EVO Conversion Systems. Available at: <https://tinyurl.com/2p884vyh>

Tomberlin, J.K. & Van Huis, A. (2020). Black soldier fly from pest to ‘crown jewel’ of the insects as feed industry: an historical perspective. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6, 1–4.

Tomberlin, J.K., Adler, P.H. & Myers, H.M. (2009). Development of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature. *Environmental Entomology*, 38, 930–934.

Tomberlin, J.K. (n.d.). Black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), in confined animal species. Extension Entomology, Texas A&M University, Stephenville, TX, USA. Available at: <https://tinyurl.com/unppe94z>

Tomberlin, J.K., Sheppard, D.C. & Joyce, J.A. (2002a). Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets. *Annals of the Entomological Society of America*, 95, 379–386.

Tomberlin, J.K., Sheppard, D.C. & Joyce, J.A. (2002b). Susceptibility of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae and adults to four insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 95, 598–602.

Tomberlin, J.K., Sheppard, D.C. & Joyce, J.A. (2005). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) colonization of pig carrion in South Georgia. *Journal of Forensic Science*, 50, JFS2003391.

Torrini, G. et al. (2020). Entomopathogenic nematodes as potential biocontrol agents against *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 9, 909–919.

Tourtois, J., Ali, J.G. & Grieshop, M.J. (2017). Susceptibility of wounded and intact black soldier fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) to entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 150, 121–129.

Tschirner, M. & Simon, A. (2015). Influence of different growing substrates and processing on the nutrient composition of black soldier fly larvae destined for animal feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1, 249–259.

Turner, H.N. et al. (2016). The TRP channels Pkd2, NompC, and Trpm act in cold-sensing neurons to mediate unique aversive behaviors to noxious cold in *Drosophila*. *Current Biology*, 26, 3116–3128.

Turner, H.N., Patel, A.A., Cox, D.N. & Galko, M.J. (2018). Injury-induced cold sensitization in *Drosophila* larvae involves behavioral shifts that require the TRP channel *Brv1*. *PLoS ONE*, 13, e0209577.

Turner, P.V. et al. (2020). Welfare impact of carbon dioxide euthanasia on laboratory mice and rats: a systematic review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 411.

Tutun, H., Sevin, S. & Çetintav, B. (2020). Effects of different chilling procedures on honey bees (*Apis mellifera*) for anesthesia. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67, 284–294.

Ujváry, I. (2010). Pest control agents from natural products. In: Kreiger, R. (ed.) *Hayes' handbook of pesticide toxicology*, 3rd edn. Academic Press, London, UK, pp.119–232.

University of California Riverside (n.d.). Hymenoptera: Pteromalidae. University of California Riverside, Riverside, CA, USA. Available at: <http://www.faculty.ucr.edu/~legneref/identify/pteromal.htm>

University of Cambridge (2021). Mites and how to avoid them. University of Cambridge Fly Facility, Cambridge, UK. Available at: <https://www.flyfacility.gen.cam.ac.uk/Flylab/mites>

Vadivambal, R., Jayas, D.S. & White, N.D.G. (2008). Determination of mortality of different life stages of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) in stored barley using microwaves. *Journal of Economic Entomology*, 101, 1011–1021.

Valentin, N. (1993). Comparative analysis of insect control by nitrogen, argon and carbon dioxide in museum, archive and herbarium collections. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 32, 263–278.

Van der Fels-Klerx, H.J. et al. (2016). Uptake of cadmium, lead and arsenic by *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* from contaminated substrates. *PLoS ONE*, 11, e0166186.

Van Huis, A. & Tomberlin, J.K. (2017). *Insects as food and feed: from production to consumption*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, 447 pp.

Van Huis, A. (2021). Welfare of farmed insects. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7, 573–584.

Vogel, H. et al. (2018). Nutritional immunology: diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Developmental and Comparative Immunology*, 78, 141–148.

Vogel, M. et al. (in press). Health of the black soldier fly and house fly under mass-rearing conditions: innate immunity and the role of the microbiome. *Journal of Insects as Food and Feed*. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0151>

Weissmann, D.B. et al. (2012). Billions and billions sold: pet-feeder crickets (Orthoptera: Gryllidae), commercial cricket farms, an epizootic densovirus, and government regulation make for a potential disaster. *Zootaxa*, 3504, 67–88.

Wieser, W. (1973). Temperature relations of ectotherms: a speculative review. In: Wieser, W. (ed.) *Effects of temperature on ectothermic organisms*. Springer, Berlin, Germany, pp.1–23.

Williams, J.A., Bell, J.B. & Carroll, S.B. (1991). Control of *Drosophila* wing and haltere development by the nuclear vestigial gene product. *Genes and Development*, 5, 2481–2495.

Wolf, F.W. & Heberlein, U. (2003). Invertebrate models of drug abuse. *Journal of Neurobiology*, 54, 161–178.

Wong, R., Piper, M.D.W., Wertheim, B. & Partridge, L. (2009). Quantification of food intake in *Drosophila*. *PLOS ONE*, 4, e6063.

Wu, N. et al. (2020). Effects of heavy metals on the bioaccumulation, excretion, and gut microbiome of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192, 110323.

Wynants, E. et al. (2017). Effect of post-harvest starvation and rinsing on the microbial numbers and bacterial community composition of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 8–15.

Yadav, D.N. et al. (2014). Microwave technology for disinfestation of cereals and pulses: an overview. *Journal of Food Science Technology*, 51, 3568–3576.

Yang, F. & Tomberlin, J.K. (2020). Comparing selected life-history traits of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae produced in industrial and bench-top-sized containers. *Journal of Insect Science*, 20, 25. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa113>

Yang, S. (2017a). Intensive black soldier fly farming. Sympton BSF. Available at: <https://symtonbsf.com/blogs/blog/intensive-black-soldier-fly-farming>

Yang, S. (2017b). What we do in China: teamwork through EVO and JMGreen. EVO Conversion Systems. Available at: <https://tinyurl.com/ywsebwk2>

Yang, S. (2019). Explanation of an industrial application of black soldier fly converting food waste into valuable products. EVO Conversion Systems. Available at: <https://tinyurl.com/433unwv8>

Yang, Y. et al. (2016). A novel picorna-like virus, *Riptortus pedestris virus-1* (RiPV-1), found in the bean bug, *R. pedestris*, after fungal infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 141, 57–65.

Yu, G. et al. (2011). Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Environmental Entomology*, 40, 30–35.

Zdybicka-Barabas, A. et al. (2017). Immune response in the larvae of the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Invertebrate Survival Journal*, 14, 9–17.

Zhan, S. et al. (2019). Genomic landscape and genetic manipulation of the black soldier fly *Hermetia illucens*, a natural waste recycler. *Cell Research*, 30, 50–60.

Zhang, J. et al. (2010). An artificial light source influences mating and oviposition of black soldier flies, *Hermetia illucens*. *Journal of Insect Science*, 10, 202.

Zhao, F. et al. (2013). Developmental and waste reduction plasticity of three black soldier fly strains (Diptera: Stratiomyidae) raised on different livestock manures. *Journal of Medical Entomology*, 50, 1224–1230.

Zhao, Y. et al. (2017). The gut microbiota in larvae of the housefly *Musca domestica* and their horizontal transfer through feeding. *AMB Express*, 7, 147. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0445-7>

Zhen, Y. et al. (2020). Impacts of killing process on the nutrient content, product stability, and in vitro digestibility of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meals. *Applied Science*, 10, 6099.

Zheng, L. et al. (2013). Bacteria mediate oviposition by the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Reports*, 3, 2563.

Zheng, L. et al. (2012). Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes. *Energy*, 47(1), 225–229.