

## SUR LES BESOINS NUTRITIFS DE LA LARVE DE *TENEBRIO MOLITOR* L.

par

JEAN LECLERCQ

*Laboratoire de Chimie physiologique, Université de Liège (Belgique)*

LAFON ET TEISSIER<sup>1</sup>, puis MARTIN ET HARE<sup>2</sup> ont montré que les larves de *Tenebrio molitor* peuvent grandir dans un milieu nutritif artificiel à base de gluten (ou caséine) et de glucose (ou amidon) additionné de sels inorganiques, de cholestérol et de levure ou d'extrait de foie. MARTIN ET HARE<sup>2</sup> ont prouvé que ces insectes n'ont pas besoin de Vitamines A, C, D, E, K, ni de choline, mais que les facteurs essentiels fournis par les extraits de levure ou de foie comprennent au moins cinq Vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide nicotinique et acide pantothénique). FRAENKEL ET BLEWETT<sup>3, 4</sup> ont constaté que l'addition d'acide folique stimule la croissance des mêmes larves qui, suivant FRAENKEL<sup>5</sup> exigeraient au surplus une septième substance hydrosoluble, non identifiée et désignée provisoirement sous le nom de "Vitamine B<sub>T</sub>".

Nous avons entrepris dès 1946 de nombreux essais visant à élever des larves de *Tenebrio molitor* avec des rations purement synthétiques. Nos résultats peuvent non seulement confirmer ceux des auteurs précédents, mais encore préciser différents points qui méritaient une attention spéciale, notamment la question des différences dans les exigences alimentaires suivant le stade de croissance.

### MÉTHODES

Tous nos essais ont été réalisés en étuve à la température de 26–27° C. Les milieux nutritifs étaient préparés suivant les indications de FRAENKEL<sup>6</sup> et de FRAENKEL ET BLEWETT<sup>7</sup>.

Les premières tentatives ont montré que les rations à base de glucose pur et de caséine ("Flavin-free", Glaxo Lab.) se dessèchent beaucoup plus que la farine de blé dans l'air conditionné à 70% H.R. Pour maintenir un taux d'hydratation de l'ordre de 10%, comparable à celui de la farine courante, et pour éviter des ralentissements de la croissance imputables uniquement à l'hydratation insuffisante des milieux, il faut maintenir ceux-ci à des taux hygrométriques voisins de 90% H.R. Or, dans ces conditions, la nourriture ne tarde pas à se modifier par suite de la prolifération des moisissures. La difficulté a été résolue en mêlant à la nourriture 0.5% de Nipagine (p-hydroxybenzoate de méthyle) qui assure une stérilisation suffisante des milieux sans incommoder les vers de farine. On sait que le même produit a déjà été employé avec le même succès par BROADHEAD ET HOBBY<sup>8</sup> pour stériliser au point de vue microbiologique les élevages de *Liposcelis*.

Nous n'avons mis en élevage que des larves de *Tenebrio* d'âge connu, les unes dès l'éclosion, les autres à différents stades du développement. Rappelons que la courbe de croissance normale des larves de *Tenebrio molitor* peut être divisée en trois segments

caractéristiques analogues à ceux que l'on observe généralement chez les autres Insectes Holométaboles (TEISSIER<sup>9</sup>). En suivant l'évolution pondérale d'un groupe de larves témoins, élevées "*ab ovo*" dans de la farine additionnée de 10% de levure sèche ("Dried Brewer's Yeast", Glaxo Lab.), nous avons pu caractériser comme suit chacun des stades correspondant à ces segments.

*Stade I*: depuis l'éclosion jusqu'au trentième jour environ: croissance pondérale lente, les sujets passant seulement de 0.5 à  $\sim$  25 mg.

*Stade II*: depuis le trentième jour jusqu'aux environs de 120° jour: phase de croissance active, les sujets passant de 25 à plus de 100 mg (90 à 180 mg, suivant les races, la densité de population, etc.).

*Stade III*: depuis le 120° jour environ jusqu'à la nymphose: phase caractérisée par une grande variabilité individuelle; les larves perdent en général de leur poids et deviennent de moins en moins actives.

Ces trois stades ne correspondent à aucune modification morphologique extérieure et on ne peut songer à les mettre en rapport avec les phénomènes d'exuviation du fait que le nombre et la fréquence des mues sont variables (COTTON ET ST. GEORGES<sup>10</sup>). Mais ils représentent trois états physiologiques bien distincts auxquels correspondent des différences dans les échanges respiratoires (MICHAL<sup>11</sup>) et aussi, comme nous le montrerons ailleurs, dans l'activité et la vitalité des individus.

Nous avons procédé comme suit pour introduire dès l'éclosion de jeunes larves dans les milieux nutritifs. Sous la farine des cristallisoirs contenant des adultes, nous plaçons des feuilles de papier sur lesquelles les femelles venaient attacher leurs œufs. Ces feuilles de papier étaient retirées tous les deux ou trois jours, secouées pour les débarrasser des poussières de farine, puis replacées dans des récipients pourvus de la ration synthétique, à la surface de celle-ci. Dès l'éclosion, les jeunes larves tombaient sur le milieu qui, grâce à ces précautions n'était pas souillé de particules de farine ou de restes des coques d'œufs.

Les sujets qui ne furent mis en expérience qu'à partir du Stade II ou III furent, jusqu'au moment de leur utilisation, nourris au moyen de farine additionnée de 10% de levure.

#### RÉSULTATS

Il faut comprendre comme suit les signes employés dans le Tableau I qui présente nos principaux résultats:

- aucune croissance pondérale, tous les sujets meurent après quelque temps;
- ± croissance insignifiante, les sujets survivent au moins deux mois, mais ne fournissent jamais de nymphe;
- + croissance médiocre, les sujets passent au stade suivant de leur évolution pondérale, mais ne fournissent aucune nymphe;
- ++ croissance lente et médiocre, quelques sujets arrivent toutefois à fournir une nymphe de poids relativement réduit (moins de 120 mg);
- +++ même croissance que dans la farine de blé, mortalité réduite, poids des nymphes obtenues normal;
- ++++ croissance optimale, comme dans la farine additionnée de levure; les nymphes apparaissent dans les délais les plus courts et pèsent fréquemment plus de 150 mg.

TABLEAU I

CROISSANCE DES LARVES DE *Tenebrio molitor* PRISES A DIFFÉRENTS STADES DU DÉVELOPPEMENT, DANS DIVERS MILIEUX NUTRITIFS

Milieux nutritifs	Larves mises en expérience à partir		
	de l'éclosion	du début du stade II (plus de 25 mg)	du début du stade III (plus de 120 mg)
Farine de blé + 10% de levure sèche . . .	++++	++++	++++
Farine de blé . . . . .	+++	+++	++++
Ration (A) = caséine + glucose + cholestérol + McCollum's Salt Mixture . . .	—	±	++
Ration (A) + thiamine, riboflavine, acide nicotinique et acide pantothénique . .	—	±	++
Ration (B) = Ration (A) + thiamine, riboflavine, acide nicotinique, acide pantothénique et pyridoxine . . . . .	—	+	+++
Ration (B) + acide folique . . . . .	+	++	+++
Ration (B) + acide folique, le glucose étant remplacé par de l'amidon de riz . . .	++	++	

## CONCLUSIONS

1. Nos résultats confirment que la larve de *Tenebrio molitor* satisfait totalement à ses besoins protidiques et énergétiques si elle reçoit de la caséine comme seule source d'acides aminés et du glucose ou de l'amidon comme seul glucide. Elle exige, en plus du cholestérol et des sels inorganiques, six vitamines hydrosolubles du groupe B: thiamine, riboflavine, acide nicotinique, acide pantothénique, pyridoxine et acide folique. Cet ensemble reste insuffisant pour assurer une croissance tout à fait normale, mais les facteurs B<sub>T</sub> postulés par FRAENKEL<sup>5</sup> sont probablement présents dans l'amidon de riz, au moins sous forme de traces, puisque le remplacement du glucose par ce produit permet à un petit nombre de larves — au moins une sur dix — de se développer "*ab ovo*" et de fournir une nymphe.

2. La farine additionnée de levure reste dans tous les cas la meilleure nourriture, assurant les développements les plus rapides et permettant d'obtenir des nymphes de taille au-dessus de la moyenne.

3. Au point de vue qualitatif, les exigences alimentaires diminuent au cours de la croissance des larves. Les individus qui ont dépassé le premier point d'inflexion de la courbe de croissance normale (~ 25 mg) continuent à grandir dans des milieux nutritifs privés de pyridoxine et d'acide folique, alors qu'une larve tenue "*ab ovo*" y succombe. Les besoins en vitamines deviennent minima avec les larves qui atteignent le second point d'inflexion de la courbe de croissance, prélude du stade de prénympe; ces larves peuvent même fournir leur nymphe sans plus recevoir aucune vitamine.

Cet aspect de la question des besoins d'un insecte en vitamines n'avait pas encore, jusqu'ici, retenu l'attention des expérimentateurs.

## RÉSUMÉ

Description d'une méthode permettant d'étudier les nécessités alimentaires de larves de *Tenebrio molitor* soumises à des régimes synthétiques. Comme d'autres auteurs l'avaient observé précédemment, ces larves peuvent se développer à partir d'un régime dans lequel la caséine constitue la seule

source d'acides aminés, et le glucose ou l'amidon, les seuls hydrates de carbone. Les larves en question nécessitent en outre non seulement du cholestérol et des sels minéraux, mais aussi six vitamines hydrosolubles (thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide nicotinique, acide pantothénique et acide folique). Elles ne peuvent se développer normalement sans la présence d'au moins un facteur hydrosoluble supplémentaire (vitamine B<sub>T</sub> de FRAENKEL<sup>5</sup>) présent dans l'amidon l'amidon de riz. On doit tenir compte du stade du développement dans les études sur l'alimentation de *Tenebrio molitor*. Les besoins qualitatifs sont les plus marqués lorsque les larves viennent d'éclore. Les larves ayant atteint la moitié de leur taille maximum n'ont plus besoin de vitamine pour atteindre le stade de nymphes.

### SUMMARY

A method is described to experiment on nutritive requirements of *Tenebrio molitor* larvae with pure synthetic diets.

As previously shown by other workers, Mealworm larvae can grow on a diet where casein is the sole source for amino acids and glucose or starch the sole carbohydrate. In addition to cholesterol and salts, these larvae require six hydrosoluble Vitamins (thiamin, riboflavin, pyridoxin, nicotinic acid, pantothenic acid and folic acid). They cannot grow properly without at least one further hydrosoluble factor (Vitamin B<sub>T</sub> of FRAENKEL<sup>5</sup>) which seems to be present in rice starch.

It appears that the stage of development ought to be considered in the study of the dietetics of *Tenebrio*. Qualitative needs are maximum with larvae receiving synthetic food from the egg-hatching. Larvae reaching their half or fully-grown size can develop into pupae without any more vitamins.

### ZUSAMMENFASSUNG

Eine Methode wird beschrieben, die es gestattet, die Nahrungsbedürfnisse der Larven von *Tenebrio molitor* mit rein synthetischen Diäten experimentell zu untersuchen.

Wie bereits von anderen Forschern nachgewiesen wurde, können Mehlwurmlarven auf einer Diät wachsen, bei der Kasein die einzige Aminosäurenquelle und Glukose oder Stärke das einzige Kohlenhydrat ist. Ausser Cholesterol und Salzen brauchen diese Larven sechs wasserlösliche Vitamine (Aneurin, Riboflavin, Pyridoxin, Nikotinsäure, Pantothensäure und Folsäure). Sie können ohne mindestens einen weiteren wasserlöslichen Faktor (Vitamin B<sub>T</sub> von FRAENKEL<sup>5</sup>), der in Reiskeime vorzukommen scheint, nicht gut wachsen.

Es stellte sich heraus, dass bei der Untersuchung der Diät von *Tenebrio* das Entwicklungsstadium berücksichtigt werden muss. Die qualitativen Bedürfnisse sind bei Larven maximal, die direkt nach dem Ausbrüten synthetische Nahrung erhalten. Larven, die die halbe Grösse ausgewachsener Larven erreicht haben, können sich ohne weitere Vitamine zu Puppen entwickeln.

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> M. LAFON ET G. TEISSIER, *C. R. Soc. Biol.*, 131 (1939) 75.
- <sup>2</sup> H. E. MARTIN ET L. HARE, *Biol. Bull.*, 83 (1942) 428.
- <sup>3</sup> G. FRAENKEL ET M. BLEWETT, *Nature*, 157 (1946) 697.
- <sup>4</sup> G. FRAENKEL ET M. BLEWETT, *Biochem. J., Proc. Biochem. Soc.*, 41 (1947) XVIII.
- <sup>5</sup> G. FRAENKEL, *Biochem. J., Proc. Biochem. Soc.*, 42 (1948) XVI.
- <sup>6</sup> G. FRAENKEL, *Roy. Coll. Sci. J.*, 13 (1943) 59.
- <sup>7</sup> G. FRAENKEL ET M. BLEWETT, *Biochem. J.*, 37 (1943) 686.
- <sup>8</sup> E. BROADHEAD ET M. HOBBS, *Entom. Month. Mag.*, 80 (1944) 163.
- <sup>9</sup> G. TEISSIER, *Trav. Stat. Biol. Roscoff*, 9 (1931) 29.
- <sup>10</sup> R. T. COTTON ET R. A. ST. GEORGES, *U. S. Dept. Agric. Techn. Bull.* No. 95 (1929).
- <sup>11</sup> K. MICHAL, *Zool. Anz.*, 95 (1931) 65.

Reçu le 18 mai 1948