

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Les ARCHIVES INTERNATIONALES DE PHYSIOLOGIE ET DE BIOCHIMIE publient, en français ou en anglais, des travaux originaux de caractère expérimental, à l'exclusion de toutes « Revues générales », « Berichte », « Ergebnisse », « Analyses » ou « Referats ».

Titre et rédaction. — Les auteurs choisiront un titre qui donne une idée précise du contenu de leur travail et condenseront leur rédaction de manière à ne dépasser qu'exceptionnellement l'étendue d'une feuille d'impression (16 pages).

Manuscrits dactylographiés. — Nous invitons les auteurs à fournir des manuscrits dactylographiés sous forme *ne varietur*, et dont la rédaction soit *entièrement terminée* (afin d'éviter sur les épreuves les remaniements et les corrections, très onéreux et qui sont à la charge des auteurs).

Résumé. — Chaque article sera suivi d'un court résumé, objectif, pouvant être utilisé directement comme « Analyse » ou « Referat » par les organisations bibliographiques.

Citations. — Les citations seront réunies à la fin de l'article sous la rubrique « Bibliographie » (Pour les mémoires en langue anglaise, le titre sera « References »). Elles seront classées par ordre alphabétique des noms d'auteurs.

Chaque citation comprendra :

1° Nom et prénom (ou initiales des prénoms) de l'auteur en PETITES CAPITALES (souligner deux fois dans le manuscrit); 2° année de publication, entre parenthèses; 3° titre abrégé du recueil, en italique (souligner une fois dans le manuscrit); 4° tome, en chiffres arabes, caractères gras (souligner d'un trait ondulé); 5° première et dernière pages du mémoire en chiffres arabes ordinaires.

Les indications Vol., T., Bd., pag. sont supprimées.

Exemples :

ZWAARDEMAKER, H. (1904). — *Arch. internat. Physiol.*, 1, 1-16.

RITCHIE, J. M. (1954). — *J. of Physiol.*, 124, 605-612.

Pour les livres cités dans la Bibliographie, on indiquera :

1° nom et initiales des prénoms de l'AUTEUR; 2° (date de publication); 3° titre de l'ouvrage; 4° Nom de l'éditeur; 5° Ville.

Dans le texte, le nom de l'auteur (souligner deux fois) et l'année de publication (entre parenthèses) suffisent à renvoyer à la Bibliographie. Si plusieurs travaux du même auteur, publiés la même année, sont cités, l'indication chronologique est donnée par les lettres *a*, *b*, *c* (en italique, souligner une fois), placées après l'indication de l'année.

Exemples :

BREMER, F. (1947, *a*).

BREMER, F. (1947, *b*).

Figures. — Leur nombre doit être limité au minimum strictement indispensable à l'intelligence du texte.

Les dessins seront exécutés à l'encre de Chine sur carton bristol blanc, et uniquement en traits, hachures et points, sans « gris » ni « dégradés ».

Les graphiques originaux doivent être tracés en lignes bien blanches sur fond uniformément noir.

Pour les courbes sur papier quadrillé, employer du papier millimétré noir ou rouge si le quadrillé doit apparaître sur la figure définitive; du papier millimétré bleu si le quadrillé doit disparaître.

Ce n'est qu'à titre exceptionnel que les « Archives » peuvent accepter de publier des photographies ou des tracés destinés à être reproduits en similitude sur cuivre; dans ce cas une entente préalable avec la Direction scientifique est nécessaire.

Les dimensions de toutes les figures seront réduites au minimum. La dimension des clichés sera telle que toutes les figures puissent être intercalées dans le texte.

Il est d'ailleurs conseillé de fournir des figures originales très grandes, destinées à être réduites aux 2/3, à la 1/2, au 1/4, etc. (la réduction ainsi indiquée porte sur les dimensions linéaires). Tenir compte de la réduction prévue dans les dimensions à donner aux chiffres, lettres et signes conventionnels incorporés dans les dessins et graphiques.

Prrière de réduire dans la même proportion toutes les figures d'un même mémoire.

Les légendes des figures doivent être fournies dactylographiées, sur feuillets séparés, et non incorporées dans le manuscrit.

Tableaux. — Leur nombre et leurs dimensions seront réduits au minimum indispensable. Ne pas publier deux fois les mêmes données numériques, une fois sous forme de tableaux, une autre fois sous forme de courbes.

Reçu le 3 septembre 1956.

NOUVELLES RECHERCHES SUR LES BESOINS NUTRITIFS DE LA LARVE DU *TENEBRIO MOLITOR L.* (INSECTE, COLÉOPTÈRE)

PAR

Gottfried FRAENKEL

(University of Illinois, Dept. Entomology, Urbana)

ET

Jean LECLERCQ

(Université de Liège, Institut Léon Fredericq, Chimie physiologique)

(3 figures)

Il a été montré précédemment que les larves de *Tenebrio molitor* peuvent être élevées dans un milieu nutritif artificiel dont tous les constituants sont chimiquement définis et sont indispensables (FRAENKEL, BLEWETT et COLES, 1950). Ce milieu doit contenir de la carnitine (FRAENKEL, BLEWETT et COLES, 1948; CARTER, BHATTACHARYYA, WEIDMAN et FRAENKEL, 1952 *a* et *b*). Celle-ci peut être remplacée par un dimère, la dicarnitine (LECLERCQ, 1954, 1955) ou par d'autres dérivés (BHATTACHARYYA, FRIEDMAN et FRAENKEL, 1955).

Privées de carnitine, les larves commencent à croître, puis dépérissent et meurent entre la 4^e et la 12^e semaine après leur éclosion, en présentant des signes de carence bien particuliers (FRAENKEL et PEH-I CHANG, 1954). La carnitine figure aussi sur la liste des vitamines indispensables à d'autres Ténébrionides de la farine (COOPER et FRAENKEL, 1952; FRENCH et FRAENKEL, 1954; MAGIS, 1954) mais on ne connaît aucun autre animal manifestant la même exigence.

Les premières expériences réalisées avec des larves de *Tenebrio molitor* furent si concluantes qu'il fut possible d'utiliser ces insectes comme test pour doser la carnitine de divers produits (FRAENKEL, 1953, 1954) et pour comparer l'activité de plusieurs substances de synthèse apparentées à la carnitine (BHATTACHARYYA, FRIEDMAN et FRAENKEL, 1955). Entretemps, un ensemble de données a cependant fait croire que la sensibilité

à la carence en carnitine varie suivant les souches, car des individus sont capables de grandir dans des régimes supposés dépourvus de carnitine (LECLERCQ, 1955).

A partir de l'été 1953, les populations de *Tenebrio molitor* utilisées par FRAENKEL à Urbana, et quelque temps plus tard celles de LECLERCQ à Liège, ne permirent plus d'obtenir des résultats aussi nets qu'auparavant. Un nombre accru de larves parvenait à grandir et même à se métamorphoser dans des régimes témoins non additionnés de carnitine. D'autre part, FRAENKEL remarqua que son matériel semblait réclamer un autre facteur de croissance, insoupçonné jusqu'alors et présent dans la fraction insoluble de certaines levures.

Un travail concerté s'imposait. Il fut rendu possible par un séjour de FRAENKEL à Liège pendant l'été 1955, suivi d'un certain nombre d'essais complémentaires réalisés à Liège par LECLERCQ et à Urbana par FRAENKEL, selon un plan établi de commun accord. Le présent travail présente le résultat de cette collaboration.

* * *

Pour tenter d'expliquer les différences entre les résultats obtenus d'une part à Liège et à Urbana, d'autre part avant 1954 et à partir de 1954, les hypothèses suivantes furent retenues et servirent à établir le plan des expériences :

1. Les populations de *Tenebrio molitor* utilisées se seraient modifiées génétiquement et auraient fini par comporter, dès 1954, une proportion accrue de sujets capables de croître sans, ou presque sans carnitine de régime.

On pouvait penser qu'il eût été extraordinaire que les populations de *Tenebrio* élevées à Urbana et à Liège évoluent parallèlement dans le sens d'une régression des besoins en carnitine. Il fallait cependant saisir cette occasion d'examiner l'incidence de différences génétiques entre les populations utilisées et déterminer les précautions à prendre pour assurer l'homogénéité du matériel soumis à des essais de régime.

2. Les milieux nutritifs préparés à partir de 1954 auraient pu différer systématiquement des milieux antérieurs, l'un de leurs constituants procurant de la carnitine à l'insu des expérimentateurs.

A ce propos, il était logique de mettre d'abord en question le degré de purification de la caséine « vitamin-free » employée comme source d'acides aminés dans nos régimes. On sait en effet que la qualité de « vitamin-free » est relative (CANNON,

BOUTWELL et ELVEHJEM, 1954). De plus, à Liège comme à Urbana, les stocks initiaux de caséine expérimentale (LABCO casein) se sont épuisés et furent renouvelés plusieurs fois depuis le début des expériences de nutrition en 1948.

3. Des différences mineures dans le mode de préparation des régimes synthétiques et dans la technique de mise en train des essais auraient pu entrer, elles aussi, en ligne de compte, surtout pour expliquer certaines différences entre des résultats obtenus autrefois à Urbana et à Liège.

Il était donc à propos de soumettre le matériel biologique de FRAENKEL à des expériences préparées par LECLERCQ, et le matériel biologique de LECLERCQ à des expériences préparées par FRAENKEL.

On pourrait incriminer l'aspect microbiologique du problème et mettre en cause l'intervention de microorganismes synthétisant de la carnitine dans les milieux nutritifs en cours d'expérience. Nous n'avons pas retenu cette hypothèse ici parce que :

a) Il paraissait plus logique, méthodologiquement, de faire d'abord un sort aux hypothèses précitées, lesquelles n'impliquent pas un changement radical de technique.

b) Le développement de microorganismes ne peut affecter sérieusement la composition chimique des régimes pendant les premières semaines d'expérience, au cours desquelles se manifeste la carence en carnitine. La faible hydratation des milieux nutritifs (10 % environ) et de l'air des chambres d'élevage (± 70 % H. R.) n'est évidemment pas favorable à un développement rapide de microorganismes.

c) De nombreux essais préliminaires nous ont montré que si on favorise le développement de microorganismes dans les milieux nutritifs (par vieillissement de ceux-ci, ou en élevant le taux d'humidité des conditions d'élevage), il en résulte toujours une diminution de la valeur nutritive de ces milieux, et jamais une amélioration.

Dispositions expérimentales

1. Nos essais furent réalisés à 30° C., dans des étuves ou chambres aérées, à ± 70 % d'humidité relative.

Nos premières expériences furent conduites à 25° C. (FRAENKEL, BLEWETT et COLES, 1950; FRAENKEL, 1951) ou à 27° C. (LECLERCQ, 1954, 1955). L'un de nous trouva plus intéressant et sans effet adverse d'expérimenter à 30° (FRAENKEL et al., 1950) et nous avons adopté définitivement cette condition. Cette modification n'a aucune incidence sur les changements survenus dans l'allure des résultats

obtenus depuis 1954. En effet, les premiers essais réalisés à 30° procurèrent des carences en carnitine encore plus nettes que les essais antérieurs, à 25 ou 27°. De plus, la régression de la sensibilité des larves s'est marquée aussi bien dans des essais contrôlés à 27° que dans les essais à 30°.

La population de *Tenebrio molitor* utilisée par FRAENKEL à Urbana est, elle aussi, élevée à 30° C. Par contre les populations élevées à Liège par LECLERCQ continuent à être tenues à 27° C., ceci afin de ne pas introduire de modification même mineure dans les conditions générales d'entretien de ces populations sélectionnées, faisant l'objet de recherches génétiques depuis 1946 (LECLERCQ, 1950, 1954, 1956). Il faut donc préciser que les parents des larves mises en expérience pour la présente étude ont toujours été élevés à 27°, lorsqu'il s'agit d'essais réalisés par LECLERCQ. Le passage à 30° se fait au moment précis de l'éclosion et de la mise en expérience des larves.

2. Tous les milieux nutritifs utilisés pour les expériences considérées dans ce travail eurent la même composition fondamentale (« milieux témoins ») :

glucose anhydre pur	80 g.
caséine « vitamin free »	20 g.
cholestérol	1 g.
« McCollum's salt mixture »	2 g.

et les vitamines suivantes par g. de produit sec :

thiamine	25	µg.
riboflavine	12.5	µg.
acide nicotinique	50	µg.
pantothénate de calcium	25	µg.
pyridoxine	12.5	µg.
acide folique	2.5	µg.
biotine	0.25	µg.
chlorure de choline	500	µg.

Ces vitamines furent mélangées dans l'eau et additionnées aux régimes dans des conditions assurant une hydratation de l'ordre de 10 % au produit final.

Les procédés employés pour mélanger, broyer et répartir les produits diffèrent inévitablement dans le détail, d'un expérimentateur à l'autre. De plus, FRAENKEL a conservé la coutume consistant à prévoir 250 µg./g. d'inositol dans les régimes. Dans les tableaux et figures exposant nos résultats, le signe † indique que les régimes ont été préparés par FRAENKEL et comportent la dose indiquée d'inositol.

3. Dans toutes les conditions où le régime fut valorisé par addition de carnitine, celle-ci fut de la *dl*-carnitine en solution aqueuse, administrée en doses super-optimales de 6 µg./g. de régime sec (expériences réalisées à Liège) ou de la *l*-carnitine à raison de 3µg./g. (expériences réalisées à Urbana).

Par « levure insoluble » (ajoutée à raison de 2 % de certains régimes), nous entendons ce qui reste après extraction prolongée et répétée de levure de brasserie fraîche à l'eau bouillante. Sauf indication contraire, le produit employé pour nos essais fut un échantillon préparé par FRAENKEL en 1948 à partir de levure de brasserie anglaise.

4. Les caséines « vitamin-free » suivantes ont été utilisées dans la préparation des milieux nutritifs :

LABCO 1949 : caséine préparée par la Borden Company en 1949 et utilisée à la Rutgers University dans le « Protein Evaluation Project ».

LABCO 1952a : caséine antérieure à, et déjà utilisée par FRAENKEL en 1952.

LABCO 1952b : caséine de la même époque que la précédente.

LABCO 1952c : caséine achetée par LECLERCQ en 1952, identique à celle qui sert aux expériences de LECLERCQ (1954) et MAGIS (1954).

LABCO 1953 : caséine achetée par FRAENKEL en 1953.

LABCO 1954 : caséine achetée par LECLERCQ en 1954, probablement identique à celle qui sert aux expériences de LECLERCQ (1955).

LABCO 1955a : caséine achetée par FRAENKEL en 1955.

LABCO 1955b : caséine de la même époque, peut-être identique à la précédente.

G. B. I. 1954 : caséine préparée par General Biochemicals Inc., U. S. A., achetée en Belgique en 1954.

G. B. I. 1955a : *idem*, achetée en Belgique en 1955.

G. B. I. 1955b : *idem*, achetée aux U. S. A. par FRAENKEL.

N. B. C. : caséine préparée par la Nutritional Biochemicals Corporation, U. S. A., achetée en 1954.

WISCONSIN : caséine préparée et purifiée par le Dept. Biochemistry, University of Wisconsin.

ROCHE 1955 : caséine préparée par la firme HOFFMANN-LA ROCHE, Bâle, mise à notre disposition par cette firme en 1955.

ROCHE 1956 : caséine fournie par le département américain de la firme HOFFMANN-LA ROCHE en 1956.

SCHUCHARDT : échantillon de caséine préparé et mis à notre disposition par la firme Th. SCHUCHARDT, Munich, en 1955.

Nous avons en outre utilisé un échantillon d'« Alpha Protein », préparée à partir de graines de soja par la Glidden Company, Chicago, U. S. A.

5. Dans chaque condition étudiée, les larves mises en expérience ont été réparties en deux ou trois lots de 10, 12 ou 15 sujets, chaque lot recevant 5 g. de régime (essais réalisés à Liège) ou 3 g. de régime (essais réalisés à Urbana). Les chiffres que nous présentons correspondent à la somme des survies dans chaque lot et aux moyennes générales des poids (en mg.), calculées en portant chaque lot en compte.

La quantité de régime prévue (5 ou 3 g.) est plus que suffisante pour satisfaire l'appétit de 10 à 15 larves en bonnes conditions pendant les premiers mois de la croissance. En l'absence de tout autre facteur limitant, certaines larves peuvent d'ailleurs atteindre le stade nymphal sans que cette quantité de nourriture soit augmentée ou remplacée. Il semble cependant qu'il faudrait augmenter ou remplacer la nourriture après environ trois mois pour assurer à chaque sujet la possibilité d'atteindre le stade nymphal. Cette difficulté n'apparut pas dans les essais antérieurs de LECLERCQ (1954, 1955) où chaque larve était tenue isolément dans la même quantité de nourriture (5 g.). Il ne sera donc pas question ci-après de suivre la croissance et le comportement des larves jusqu'à la nymphose. Nous signalerons seulement, dans certaines séries d'expériences, après combien de semaines s'est formée la première nymphe éventuelle de chaque condition ayant permis ce résultat.

Précisons que le cannibalisme redouté par LECLERCQ (1950, 1954) ne s'exerce qu'exceptionnellement aux premiers stades de la croissance et que la surveillance des élevages permet d'éviter que les survivants ne dévorent les cadavres éventuels.

6. Dans les essais antérieurs de LECLERCQ (1954, 1955), les sujets d'expérience furent placés dans les milieux étudiés (avec ou sans carnitine) dès l'éclosion de l'œuf. Le même traitement a été conservé pour les expériences réalisées par LECLERCQ et pour certaines expériences réalisées par LECLERCQ et FRAENKEL ou FRAENKEL seul.

Dans les essais antérieurs de FRAENKEL et al. (1950-1954), les sujets d'expérience furent traités de la façon suivante : dès l'éclosion, les larves étaient élevées en colonies de 400-500 individus, pendant 4 semaines environ, dans un régime témoin (sans carnitine), puis réparties en lots de 10 ou 15 et réparties dans les régimes étudiés. Ce traitement a été employé pour tous les essais marqués du signe * dans les tableaux et figures ci-après.

Toutefois, dans tous les cas, l'âge des larves a toujours été compté à partir de la date de l'éclosion.

Souches et Races étudiées

Le matériel biologique du présent travail se répartit comme suit :

Races F et G : races sélectionnées par LECLERCQ (1950, 1954, 1956) depuis 1946, à partir d'une population hétérogène du *Pest Infestation Laboratory*, Slough, Angleterre. Depuis 1946, ces races sont séparées et élevées à 27° C., dans de la farine non blutée et avec des précautions constantes qui rendent à peu près impossible le cannibalisme interstades, la surpopu-

lation et les disettes alimentaires. Le régime de ces races est de la farine de froment non blutée, préparée à partir de grains frais et entiers.

Souche URBANA : souche non sélectionnée de FRAENKEL qui fournit les sujets qui permirent de découvrir la nature vitaminique de la carnitine (FRAENKEL et al., 1948-1954). Cette souche provenait aussi de la population hétérogène du *Pest Infestation Laboratory*, Slough. Elle fut nourrie de farine de froment non blutée +5 % levure sèche, à 25°, puis à 30° C.

Souche P. I. L. : population constituée à partir d'un échantillon de la souche hétérogène du *Pest Infestation Laboratory*, Slough, mis à notre disposition en 1955. Il s'agit donc de descendants de la population initiale qui fournit en 1946 les races F et G, et dès 1948, la souche URBANA. Cette population fut élevée pendant une première génération dans de la farine de froment non blutée, puis répartie en deux lots, l'un qui resta à Liège, l'autre qui est tenu en élevage à Urbana.

Influence de la caséine, du matériel biologique, et de la technique expérimentale sur le comportement des larves dans des régimes additionnés ou non de carnitine et de levure insoluble

Dans toutes les expériences considérées, les larves ont été comptées et pesées de quinze en quinze jours à partir de leur sixième semaine. Les figures 1 et 2 montrent par quelques exemples comment évoluent les pourcentages de survie et les poids moyens entre la 6^e et la 12^e semaine. La figure 1 permet de comparer plusieurs séries de témoins placés dans des régimes non additionnés, à base de caséines LABCO 1954 ou G. B. I. 1954. La figure 2 permet de comparer dans 5 cas, l'influence des additions de carnitine et de levure insoluble.

Les figures 1 et 2 indiquent clairement qu'il suffit de considérer la situation entre les 10^e et 12^e semaines pour formuler une conclusion nette quant à la signification des résultats. Il eût été fastidieux et peu utile de figurer de la même façon la totalité des données obtenues dans tous nos essais. C'est pourquoi le tableau I qui récapitule l'ensemble de nos résultats ne présente

que les données relevées à la 12^e semaine (expériences réalisées à Liège) ou à la 10-11^e semaine (expériences réalisées à Urbana).

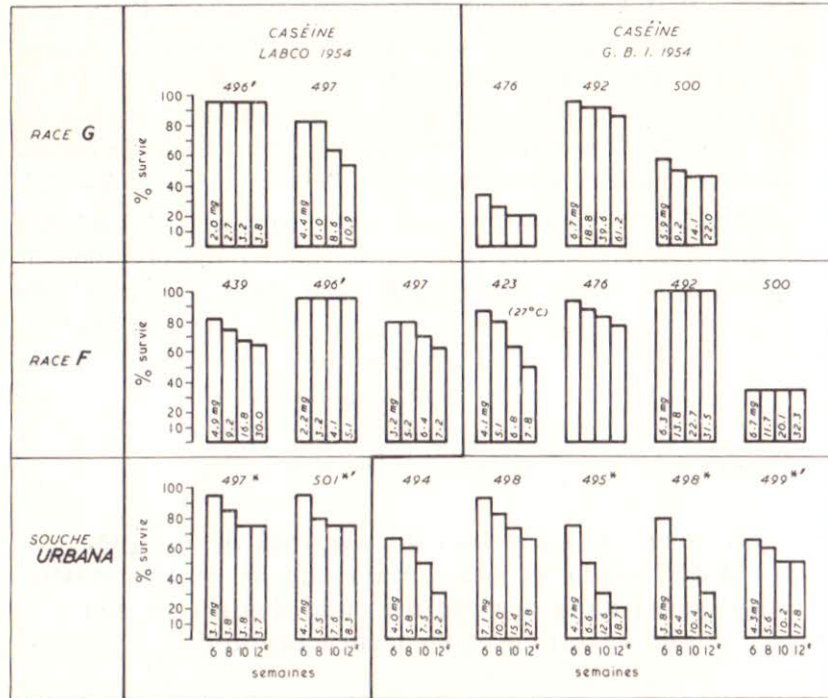


FIG. 1. — Survie (en %) et croissance pondérale de larves de trois souches élevées dans des régimes témoins à base de deux caséines différentes.

Détails complémentaires sur les conditions de chaque essai : voir tableau I. Les essais n^{os} 423, 439 et 476 ne sont pas repris au tableau, pour eux le nombre de larves mises en expérience fut respectivement de 24, 60 et 100. Contrairement à tous les autres cas, 423 fut conduit à 27° C. au lieu de 30.

Commentaires

1. Examinons d'abord les histogrammes de la figure 1 et la première colonne de résultats du tableau I (régimes non additionnés).

D'importantes différences peuvent être observées d'un essai à l'autre, parfois même lorsque deux essais comparés ont été mis en train simultanément avec le même régime et deux lots

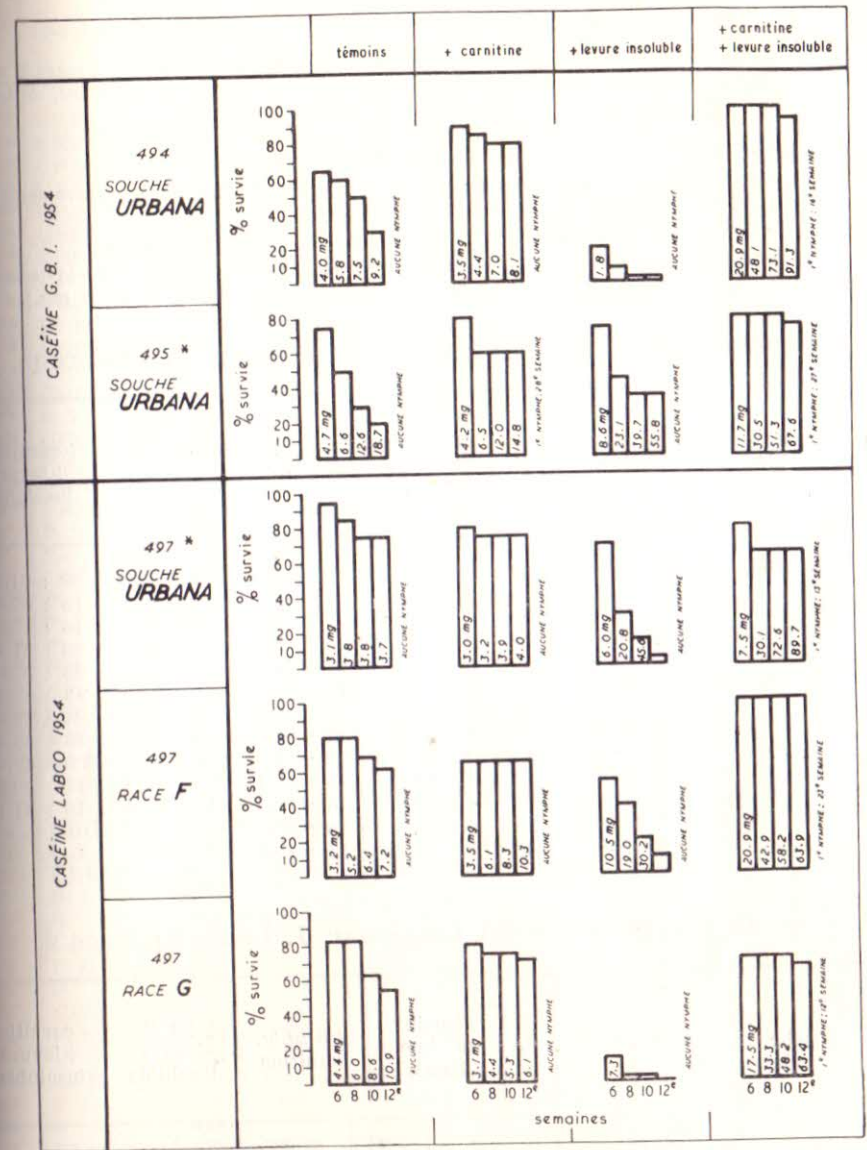


FIG. 2. — Survie (en %) et croissance pondérale de larves de trois souches élevées dans des régimes à base de deux caséines différentes, additionnés ou non de carnitine ou de levure insoluble.

Détails complémentaires sur les conditions de chaque essai : voir tableau I.

TABLEAU I. — *Survie et poids moyen de larves de quatre souches (URBANA, P. I. L., races F et G) placées dans des régimes à base de caséines différentes, additionnés ou non de carnitine, de levure insoluble, ou de ces deux produits à la fois*

✓ Milieux nutritifs préparés par FRAENKEL et contenant de l'inositol.

* Les larves furent installées dans les conditions prévues après un élevage de quatre semaines en colonies dans un régime privé de carnitine.

N₁ Nombre de larves mises en expérience dans chacune des quatre conditions.

7, 4, 24, etc. Nombre de larves encore en vie à la 12^e semaine (à Liège) ou à la 10-11^e semaine (à Urbana). Le chiffre suivant indique le poids moyen de ces survivants (en mg.).

a) Essais réalisés à Liège par G. Fraenkel et J. Leclercq

Essai n°	Souche	Caséine	N ₁	Témoins (régime basal)	+6 µg./g. carnitine	+2 % levure insoluble	+carnitine +levure insoluble
494	URBANA	G. B. I. 1954	30	7 : 9.2	24 : 8.1	1 : 2.2	28 : 91.3
495*	URBANA	G. B. I. 1954	20	4 : 13.7	12 : 14.8	7 : 55.8	15 : 67.6
496*	URBANA	LABCO 1954	20	15 : 8.3	12 : 8.0	17 : 11.9	16 : 15.5
496'	F	LABCO 1954	24	23 : 5.1	24 : 3.8	13 : 25.7	23 : 21.4
496'	G	LABCO 1954	24	23 : 3.8	24 : 4.6	12 : 39.9	23 : 30.5
497*	URBANA	LABCO 1954	20	15 : 3.7	15 : 4.0	1 : 55.0	13 : 89.7
497	F	LABCO 1954	24	16 : 7.2	16 : 10.3	2 : 71.5	24 : 63.9
497	G	LABCO 1954	24	13 : 10.9	17 : 6.1	0 : —	16 : 63.4
498	URBANA	G. B. I. 1954	30	20 : 20.8	29 : 23.8	12 : 21.3	30 : 22.9
498*	URBANA	G. B. I. 1954	20	6 : 17.2	15 : 26.1	13 : 61.2	17 : 80.9
499*	URBANA	G. B. I. 1954	20	10 : 17.8	16 : 18.9	17 : 47.8	18 : 51.1
500	F	G. B. I. 1954	24	8 : 32.3	8 : 26.6	— —	— —
500	G	G. B. I. 1954	24	11 : 22.0	17 : 45.8	— —	— —

b) Essais réalisés à Liège par J. Leclercq

Essai n°	Souche	Caséine	N ₁	Témoins (régime basal)	+6 µg./g. carnitine	+2 % levure insoluble	+carnitine +levure insoluble
504	G	G. B. I. 1955a	45	2 : 8.5	30 : 5.0	2 : 8.5	27 : 21.4
510	G	G. B. I. 1955a	45	3 : 13.6	40 : 74.9	3 : 22.0	42 : 102.9
505	G	ROCHE 1955	45	8 : 14.4	36 : 21.9	0 : —	27 : 50.9
508	G	SCHUCHARDT	45	35 : 34.1	39 : 36.9	37 : 116.9	42 : 119.3

Essai n°	Souche	Caséine	N ₁	Témoins (régime basal)	+6 µg./g. carnitine	+2 % levure insoluble	+carnitine +levure insoluble
748*	URBANA	LABCO 1952a	20	9 : 14.4	15 : 11.9	4 : 39.5	15 : 87.3
748*	URBANA	LABCO 1952b	20	11 : 19.5	16 : 16.2	4 : 23.7	17 : 66.3
748*	URBANA	LABCO 1955a	20	13 : 6.7	13 : 6.0	11 : 14.1	18 : 14.3
753*	URBANA	LABCO 1949	20	18 : 7.3	17 : 33.8	17 : 33.8	17 : 36.2
753*	URBANA	LABCO 1952a	20	15 : 51.6 ⁽¹⁾	16 : 15.9	8 : 45.8	16 : 110.7
753*	URBANA	LABCO 1953	20	17 : 5.3	16 : 5.0	14 : 43.8	16 : 43.1
753*	URBANA	LABCO 1954	20	17 : 6.0	16 : 4.3	19 : 28.3	18 : 28.4
753*	URBANA	LABCO 1955a	20	9 : 6.2	11 : 5.2	14 : 56.8	15 : 33.7
753*	URBANA	LABCO 1955b	20	15 : 6.1	19 : 5.0	17 : 30.0	17 : 39.7
753*	URBANA	N. B. C.	20	16 : 3.2	17 : 3.8	18 : 30.2	17 : 31.0
755*	URBANA	LABCO 1955a	20	20 : 9.6	— —	17 : 44.4	— —
755*	URBANA	WISCONSIN	20	18 : 8.4	19 : 10.0	17 : 48.1	17 : 48.1
758*	URBANA	LABCO 1952a	20	14 : 41.1	15 : 36.6	3 : 57.3	18 : 131.4
758*	URBANA	LABCO 1952a	20	2 : 12.7	14 : 80.9	1 : 62.0	14 : 98.7
758*	URBANA	LABCO 1955a	20	17 : 5.0	17 : 5.6	15 : 27.0	16 : 32.2
758*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	18 : 11.5	19 : 10.8	13 : 47.8	20 : 37.7
758*	P. I. L.	G. B. I. 1955b	20	17 : 6.4	20 : 5.7	15 : 37.6	15 : 39.2
759*	URBANA	LABCO 1952a	30	7 : 22.8	28 : 42.4	4 : 42.4	26 : 97.0
759*	P. I. L.	LABCO 1952a	30	1 : 21.0	24 : 52.5	1 : 107.0	30 : 80.1
759*	P. I. L.	LABCO 1955a	30	23 : 8.0	28 : 6.6	10 : 47.7	28 : 25.9
759*	URBANA	LABCO 1955a	30	26 : 8.3	28 : 7.3	21 : 29.9	30 : 23.6
764*	P. I. L.	LABCO 1949	20	5 : 32.8	19 : 13.0	10 : 57.9	20 : 32.4
764*	P. I. L.	LABCO 1952a	20	5 : 14.6	16 : 51.0	1 : 29.5	14 : 122.9
764*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	11 : 5.4	20 : 5.7	6 : 27.3	20 : 20.0
764*	P. I. L.	WISCONSIN	20	9 : 47.6	19 : 29.2	12 : 81.2	20 : 66.3
766*	URBANA	LABCO 1949	20	14 : 8.7	20 : 8.0	17 : 40.9	15 : 27.9
766*	URBANA	LABCO 1955a	20	15 : 2.9	16 : 3.2	15 : 6.8	16 : 4.2
767*	URBANA	LABCO 1952a	20	1 : 11.7	— —	1 : 74.2	— —
767*	URBANA	ALPHA Protein	20	12 : 33.5	19 : 34.2	9 : 54.1	19 : 57.1
770*	URBANA	LABCO 1952a	20	— —	— —	1 : 95.5	19 : 48.9
770*	P. I. L.	LABCO 1952a	20	— —	— —	1 : 84.8	17 : 57.9
770*	URBANA	LABCO 1955a	20	— —	— —	19 : 8.5	18 : 15.2
770*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	— —	— —	7 : 15.1	19 : 16.8
770*	URBANA	LABCO 1955a	20	17 : 5.1	20 : 5.2	16 : 10.3	13 : 12.8
770*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	17 : 6.4	17 : 6.2	9 : 11.0	10 : 11.1
770*	G	LABCO 1955a	20	13 : 10.7	17 : 9.3	7 : 9.4	13 : 17.2
770*	URBANA	LABCO 1955a	20	18 : 6.4	18 : 7.6	13 : 36.8	20 : 32.4
770*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	13 : 10.1	18 : 7.8	7 : 57.4	20 : 31.6
770*	G	LABCO 1955a	20	14 : 7.7	16 : 6.9	7 : 81.3	16 : 38.8
770*	URBANA	ROCHE 1956	20	19 : 13.8	18 : 10.1	20 : 4.4	18 : 9.2
770*	P. I. L.	ROCHE 1956	20	18 : 7.1	19 : 13.2	14 : 10.5	19 : 26.2
770*	G	ROCHE 1956	20	17 : 6.7	19 : 13.7	14 : 15.2	13 : 9.3
780*	URBANA	LABCO 1949	20	20 : 14.2	19 : 14.1	18 : 31.2	20 : 37.6
780*	P. I. L.	LABCO 1949	20	9 : 24.6	20 : 22.8	11 : 44.3	20 : 26.6
780*	G	LABCO 1949	20	11 : 18.8	16 : 21.5	6 : 109.1	17 : 38.7
780*	URBANA	LABCO 1955a	20	17 : 6.3	16 : 7.9	19 : 30.5	20 : 28.0
780*	P. I. L.	LABCO 1955a	20	17 : 7.5	17 : 7.3	12 : 49.2	20 : 39.2
780*	G	LABCO 1955a	20	15 : 10.9	16 : 10.3	8 : 61.9	19 : 41.0
780*	URBANA	WISCONSIN	20	18 : 21.9	19 : 14.4	19 : 33.6	20 : 60.8
780*	P. I. L.	WISCONSIN	20	17 : 28.3	20 : 43.8	12 : 61.8	17 : 53.7
780*	G	WISCONSIN	20	11 : 34.2	16 : 57.8	11 : 64.9	20 : 30.6

⁽¹⁾ Résultat aberrant : les données portées au tableau se décomposent comme suit : premier tube de l'essai : 7 survivants pesant en moyenne 97.0 mg. ; deuxième tube : 8 survivants pesant en moyenne 11.8 mg. Les résultats du second tube furent normaux. Ceux du premier tube restent inexplicables.

de la même souche. Il est cependant évident que les différences mineures dans la technique expérimentale marquées des signes * et * n'ont aucune incidence observable sur les résultats.

Dans un certain nombre d'essais, les résultats sont comparables à ce que nous obtenions autrefois : mortalité importante, supérieure à 50 %, et croissance pondérale très médiocre aboutissant à des poids inférieurs à 10-15 mg. Dans un grand nombre d'autres essais, le comportement des larves fut différent de ce que nous obtenions autrefois : taux de survie après 10-12 semaines relativement élevé, croissance pondérale amenant les larves à des poids moyens de l'ordre de 20-30 mg., parfois davantage.

On pourrait être tenté de conclure qu'une carence en carnitine s'est manifestée dans les premiers cas, tandis qu'elle ne s'est pas, ou peu manifestée dans les autres. Il faut cependant apporter une correction à cette interprétation. Plusieurs histogrammes de la figure 1 (par exemple les n^{os} 476 et 500) montrent que la différence entre les taux de survie après la 6^e et après la 12^e semaine est nulle, ou à peu près nulle. Dans ces cas, la mortalité se produisit en réalité avant le stade critique où se manifestent normalement les signes de carence en carnitine. Il s'agissait indubitablement de lots de larves comportant un pourcentage élevé de sujets malingres, probablement malades, qui n'auraient pas mieux résisté dans un régime plus favorable (cf. LECLERCQ, 1956). Pour qu'un taux de survie peu élevé constaté après la 10^e semaine atteste une déficience certaine en carnitine, il faut donc qu'il contraste avec un taux de survie beaucoup plus élevé constaté dans les conditions où le même régime a été additionné de carnitine.

2. *Examinons l'influence de l'addition de carnitine aux régimes lémoins* (deuxième colonne d'histogrammes de la fig. 2 et deuxième colonne de résultats du tableau I).

Dans de nombreux cas, l'addition de carnitine seule n'a pas eu ou guère d'influence. Dans d'autres, son effet est au plus probable. Dans quelques-uns, on note un effet marqué sur le taux de survie, mais pas d'effet évident sur la croissance pondérale. Seuls les cas suivants attestent un effet très marqué sur le taux de survie et sur la croissance pondérale :

498 *	souche :	URBANA	caséine :	G. B. I. 1954
500	»	G	»	G. B. I. 1954
510	»	G	»	G. B. I. 1955a
505	»	G	»	ROCHE 1955
758' *	»	P. I. L.	»	LABCO 1952a
759'	»	URBANA	»	LABCO 1952a
759'	»	P. I. L.	»	LABCO 1952a
764' *	»	P. I. L.	»	LABCO 1952a

Dans aucun cas, un effet certain ou probable n'a été constaté lorsque la race F fut utilisée, ni lorsque les caséines LABCO 1953, 1954, ROCHE 1956 et SCHUCHARDT furent employées. Les caséines LABCO 1955 permirent un effet modéré lorsque la souche utilisée fut P. I. L., mais ne permirent aucun effet certain lorsque la souche URBANA fut utilisée.

3. *Examinons l'influence de l'addition de levure insoluble aux régimes lémoins* (troisième colonne d'histogrammes de la fig. 2 et troisième colonne de résultats du tableau I).

Dans presque tous les cas, cette addition provoqua une forte augmentation du poids moyen. Mais dans de nombreux cas, elle provoqua aussi une forte mortalité atteignant parfois 100 %, les exemples les plus remarquables étant :

494	souche :	URBANA	caséine :	G. B. I. 1954
497*	»	URBANA	»	LABCO 1954
497	»	F	»	LABCO 1954
497	»	G	»	LABCO 1954
504, 510	»	G	»	G. B. I. 1955a
505	»	G	»	ROCHE 1955
748' *, 758' *, 759', 767', 770'	»	URBANA	»	LABCO 1952a
748'	»	URBANA	»	LABCO 1952b
758', 759', 764' *, 770'	»	P. I. L.	»	LABCO 1952a
764' *, 770', 775', 779'	»	P. I. L.	»	LABCO 1955a
775'	»	G	»	LABCO 1955a
780'	»	G	»	LABCO 1949
779', 780'	»	G	»	LABCO 1955a

On notera que cette diminution caractéristique du taux de survie ne s'est pas produite avec la caséine SCHUCHARDT (race G), ni avec la caséine WISCONSIN (URBANA, P. I. L. et G), ni avec la caséine N. B. C. (URBANA), ni dans la plupart des cas où la souche URBANA fut placée dans des régimes à base de caséines LABCO 1949, 1953 et 1955.

Le fait que des poids moyens relativement élevés s'observent dans les régimes additionnés de levure insoluble même dans beaucoup de cas où ces régimes entraînent une forte mortalité, peut s'expliquer aisément. On peut admettre que les sujets

d'expérience commencent à croître normalement, les plus fragiles s'éliminant d'abord, puis les autres dépérissant par carence en carnitine à partir de la 6^e semaine environ. Les cadavres récoltés dans ces milieux présentent en effet tous les signes caractéristiques de la carence en carnitine. L'observation pour certains cas de ce qui se passe après la douzième semaine a montré que dans les milieux additionnés de levure insoluble mais privés de carnitine :

ou bien les survivants à la 10-12^e semaine furent nombreux, et alors la plupart d'entre eux atteignent le stade nymphal (cas typique : caséine SCHUCHARDT),

ou bien les survivants à la 10-12^e semaine furent peu nombreux (moins de 50 %), et alors tous meurent tôt ou tard entre la 12^e et la 25^e semaine, aucun n'atteignant le stade nymphal (cas typiques : fig. 2, etc.).

4. *Examinons enfin l'influence de l'addition combinée de levure insoluble et de carnitine aux régimes témoins* (quatrième colonne d'histogrammes de la fig. 2 et quatrième colonne de résultats du tableau I).

Dans presque tous les cas, c'est dans cette quatrième condition que le taux de survie et le poids moyen ont été les plus élevés. Dans la plupart des cas, survie et poids moyen furent comparables à ce qu'on peut observer en élevant *Tenebrio molitor* dans des farines de céréales de bonne qualité (cf. LECLERCQ, 1956). Dans tous les régimes qui provoquèrent la mort rapide des larves lorsque la levure insoluble fut seule ajoutée, l'addition complémentaire de carnitine eut un effet positif très marqué sur la survie et la croissance pondérale. Et dans tous les essais qui furent poursuivis suffisamment loin (essais réalisés à Liège), la plupart des larves produisirent une nymphe dans des délais normaux.

On remarque une grande variabilité dans les poids moyens relevés d'une condition à l'autre (minimum : 4.2 mg., maximum : 131.4 mg.). Il est impossible de mettre cette variabilité en rapport avec la souche ou la caséine utilisées. On soulignera cependant que le poids moyen fut peu élevé ou très bas dans tous les essais où les caséines LABCO 1955a et ROCHE 1956 furent employées. Il fut au contraire élevé ou maximum dans tous les essais où la caséine LABCO 1952a fut employée.

Interprétation des résultats

1. Un examen synoptique des résultats permet de classer comme suit les différentes caséines utilisées :

a) *L'addition de carnitine ou de levure insoluble n'a produit aucun effet bien net.* Les milieux nutritifs se sont avérés insuffisants et n'ont pas ou guère été améliorés par l'addition des facteurs étudiés. Ces échantillons de caséines furent donc peu satisfaisants pour l'une ou l'autre raison qui nous reste inconnue.

caséine ROCHE 1956 (avec souche URBANA et race G),
caséine LABCO 1955a dans quelques cas (avec souches URBANA et P. I. L. et race G).

b) *Le seul effet bien marqué fut une forte augmentation du poids moyen dans les milieux additionnés de levure insoluble.*

caséines LABCO 1949, LABCO 1953, LABCO 1954 (un cas), G. B. I. 1955b,
N. B. C. et WISCONSIN (avec souche URBANA),
caséine SCHUCHARDT (avec race G).

Avec ces caséines, la survie des larves fut élevée dans les milieux non additionnés de carnitine. On peut supposer que ces caséines apportèrent des doses optimales de carnitine dans les conditions particulières de chacun des essais considérés. La caséine SCHUCHARDT fournit un cas extrême : c'est avec elle que les milieux témoins se sont avérés les plus favorables. Cette caséine contient certainement outre d'importantes quantités de carnitine, le facteur insoluble de la levure en doses adéquates pour permettre une croissance modérée, bien que non encore optimale.

c) Les larves survivent et croissent lentement sans addition de carnitine (comme en b) et l'addition de carnitine seule n'a aucun effet. *Mais l'addition de levure insoluble provoque une augmentation initiale du poids moyen suivie d'une forte augmentation de la mortalité avec signes d'une carence en carnitine ; cette carence est guérie si on ajoute de la carnitine.*

caséine LABCO 1954 (pour souche URBANA : un cas ; races F et G),
caséine LABCO 1955a (pour souche P. I. L. parfois, et, race G),
« Alpha Protein » (pour souche URBANA).

Ces caséines sont évidemment déficientes en carnitine et en facteur insoluble mais contiennent de la carnitine en quantités minimales suffisantes pour permettre la survie et quelquefois une croissance ralentie dans les régimes non additionnés de levure insoluble.

d) L'addition de carnitine seule améliore déjà la survie, quelquefois aussi la croissance pondérale. L'addition de levure insoluble seule provoque comme en c) une augmentation initiale du poids moyen suivie d'une forte augmentation de la mortalité avec signes d'une carence en carnitine ; cette carence est guérie ici aussi si on ajoute de la carnitine.

caséines LABCO 1952a, b (avec souches URBANA et P. I. L.), caséine LABCO 1949 (avec souche P. I. L. et race G) résultats cependant moins nets qu'avec les préparations 1952, caséine LABCO 1955a (avec souche P. I. L.) mais il y a des exceptions et cette caséine s'est aussi classée en a, caséine G. B. I. 1954 (avec souche URBANA), caséines G. B. I. 1955a et ROCHE 1955 (avec race G), caséine WISCONSIN (avec souche P. I. L. et race G) mais cette caséine s'est classée en b pour la souche URBANA.

Ces caséines sont donc les mieux purifiées aux points de vue considérés et les plus adéquates pour préparer des essais à des fins expérimentales avec les Ténébrionides.

2. Un examen portant sur la sensibilité particulière des souches et races utilisées et prenant surtout en considération les expériences où plusieurs souches furent étudiées comparativement dans le même régime, fait admettre que la souche URBANA et la race F sont moins sensibles aux carences que la souche P. I. L., laquelle est sans doute aussi un peu moins sensible que la race G. Cette question sera réexaminée plus loin.

Comportement des larves de plusieurs souches en fonction de l'état physiologique des parents, dans un régime témoin à base de caséine LABCO 1952c

(Essais réalisés à Liège par J. LECLERCQ)

Nous avons souligné la grande variabilité des résultats obtenus même dans les essais où un régime identique est offert à des larves d'une même race. On sait déjà que des lots de larves récoltés à des époques différentes peuvent différer par leur sensibilité à la carence en carnitine (LECLERCQ, 1955). Des essais ont donc été entrepris pour répondre aux questions suivantes :

a) Les différentes races et souches utilisées diffèrent-elles d'une façon constante par leur comportement dans un régime

cependant identique préparé avec une caséine certainement dépourvue de carnitine ?

b) L'état physiologique des parents affecte-t-il le comporte-

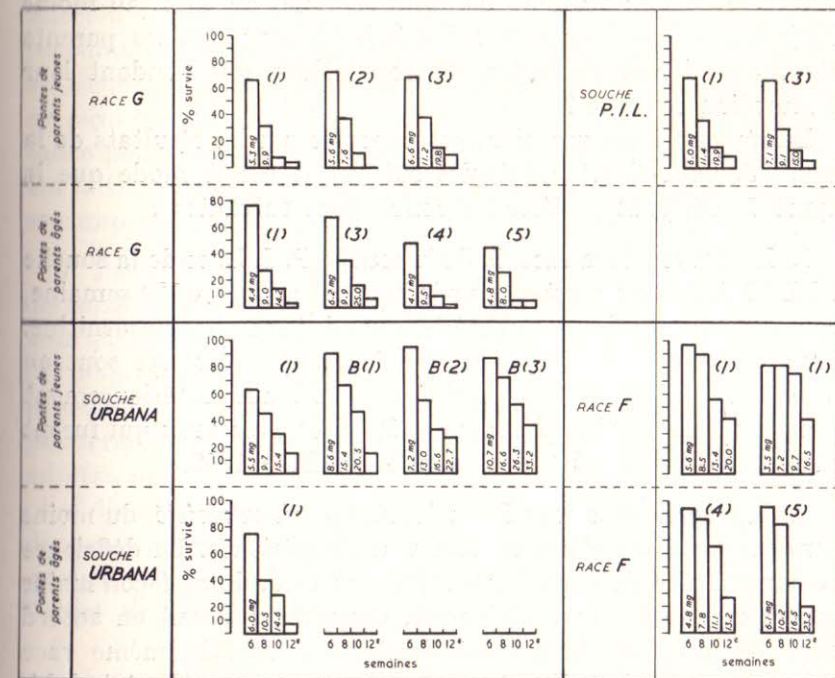


FIG. 3. — Survie (en %) et croissance pondérale de larves de quatre souches élevées dans un régime témoin à base de caséine LABCO 1952c.

- 1) Larves mises en élevage le jour de leur éclosion. (Parents jeunes \pm 10 jours).
- 2) Comme (1) mais œufs pondus par des adultes âgés de 20 jours.
- 3) Larves mises en élevage 2 à 4 jours après leur éclosion : déjà pigmentées.
- 4) Comme (1) mais les parents reçurent à boire pendant leur vie adulte.
- 5) Comme (3) mais les parents reçurent à boire pendant leur vie adulte.

Le régime larvaire des parents consista en farine de froment non blutée, sauf dans les trois essais marqués du signe : **B** où le régime larvaire des parents consista en farine de froment + 10 % de levure sèche de brasserie.

Le nombre de sujets mis en expérience dans chaque cas fut de :

- 30 larves pour P. I. L. (3).
- 40 » » G (5) et URBANA B (3).
- 45 » » URBANA A (1) âgés, URBANA B (2) et F (5).
- 50 » » G (1) jeunes.
- 55 » » F (1).
- 60 » » G (2), G (3) jeunes, G (3) âgés, G (4), URBANA A (1) jeunes et URBANA B (1).
- 90 » » G (1) âgés et P. I. L. (1).
- 105 » » F (4).

ment de la progéniture ? En l'occurrence, est-il indifférent ou non que les parents aient été nourris (quand ils étaient larves) de farine seule ou de farine additionnée de levure (régime optimal ?) Est-il indifférent que les parents soient relativement jeunes (moins de 20 jours de vie imaginale) ou âgés (au moins 30 jours de vie imaginale) ? Est-il indifférent que les parents aient eu ou non l'occasion d'assouvir leur soif pendant leur maturation sexuelle ?

La réponse à ces questions est apportée par les résultats de la figure 3. Celle-ci est construite suivant le même mode que la figure 1. On peut en tirer les conclusions suivantes :

1. Les larves de la race G, de la souche P. I. L. et de la souche URBANA A sont mortes pour la plupart avant la 12^e semaine, en présentant les signes caractéristiques de la carence en carnitine. Leur croissance pondérale fut médiocre. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux qui furent obtenus antérieurement avec la même caséine (LECLEUCQ, 1954) et avec ceux qui furent obtenus ci-dessus avec des caséines LABCO 1952.

2. *Les larves de la race F ont beaucoup mieux résisté*, du moins pendant les 8 premières semaines de l'expérience. La déficience en carnitine ne s'est manifestée que plus tard, d'une façon moins générale et moins caractéristique. Ces résultats sont en accord avec ce qui fut obtenu antérieurement avec la même race (LECLERCQ, 1954, 1955) et montrent que la race F est indubitablement moins sensible que les autres dans les conditions expérimentées.

3. *L'âge des parents n'a pas influencé de façon significative le comportement de la progéniture*. On aurait pu craindre qu'il le fit en considérant les résultats de LUDWIG et BARSÁ (1955) démontrant une différence dans l'équipement enzymatique des œufs pondus par des *Tenebrio molitor* jeunes et vieux.

4. Le fait que les larves mises en expérience venaient tout juste d'éclore et n'étaient pas encore pigmentées (conditions 1, 2, 4) n'implique aucune différence significative si on compare avec les résultats correspondants des larves mises en expériences alors qu'elles étaient écloses depuis 2-4 jours, s'étaient pigmentées et avaient effectué leur première mue (conditions 3, 5). En

d'autres termes, *une différence de l'ordre de 3-4 jours dans l'âge des sujets d'expérience ne rend pas les résultats incomparables*.

5. La comparaison des résultats obtenus avec les souches URBANA suggère que le régime larvaire des parents peut affecter le comportement de leur progéniture. *Les larves dont les parents reçurent, comme régime larvaire, de la farine additionnée de levure résistèrent bien mieux que les autres dont les parents ne reçurent que de la farine*. Elles présentèrent aussi une croissance pondérale améliorée et peu de cas de carence en carnitine. En fait, les sujets issus de parents favorisés d'un régime optimal se comportèrent presque comme les sujets de la race résistante F.

6. Par contre, *le fait d'avoir approvisionné les adultes en eau de boisson pendant leur maturation sexuelle* (conditions 4 et 5 ; voir surtout résultats de G), *n'améliore pas le comportement de la progéniture*. Celle-ci semble résister plus mal, développer rapidement les signes de la carence en carnitine, et sa croissance pondérale reste médiocre. On sait depuis longtemps que les adultes de *Tenebrio molitor* vivent plus longtemps et pondent plus d'œufs lorsqu'ils reçoivent à boire. Il semblerait que l'eau de boisson favorise la production d'œufs au détriment de la qualité de ceux-ci, mais cette question mériterait de faire l'objet de nouvelles recherches.

Préparation de nouveaux échantillons de levure insoluble

(Essais avec la race G réalisés à Liège par J. LECLERCQ)

La « levure insoluble » utilisée jusqu'ici provenait d'un échantillon préparé par FRAENKEL en 1948 à partir de levure de brasserie anglaise. Deux levures de provenance belge ont été extraites à l'eau bouillante afin de savoir si ces nouvelles préparations auraient la même action que la préparation de 1948. Trois échantillons ont été préparés :

a) Levure de la Brasserie Piedbœuf (Jupille, Liège) utilisée fraîche et extraite 5 fois à l'eau bouillante, chaque extraction durant une heure.

b) Levure de la Brasserie Piedbœuf du même échantillon, extraite 12 fois à l'eau bouillante.

c) Levure de brasserie du commerce, achetée en poudre sèche, extraite 10 fois à l'eau bouillante.

Les trois préparations ont fourni le même effet caractéristique découvert ci-dessus avec la préparation de levure anglaise (tableau II).

TABLEAU II. — *Survie et poids moyen de larves de la race G placées dans des régimes à base de caséine G. B. I. 1955a, additionnés ou non de carnitine, de levure insoluble ou de ces deux produits à la fois.*

(Dans chaque cas : 45 larves)

Semaines	Témoins (régime basal)	+ 6 μ g./g. carnitine	Echantillon de levure insoluble	+ 2 % levure insoluble	+ carnitine + levure insoluble
6 ^e	35 : 7.2	42 : 11.1	(a)	21 : 9.9	44 : 16.8
8 ^e	16 : 10.4	41 : 24.6		9 : 16.0	44 : 37.2
10 ^e	5 : 22.2	41 : 48.8		5 : 24.4	42 : 72.3
12 ^e	3 : 13.6	40 : 74.9		3 : 22.0	42 : 102.2
6 ^e			(b)	10 : 9.6	42 : 17.1
8 ^e				6 : 13.0	42 : 41.4
10 ^e				2 : 20.0	42 : 69.8
12 ^e				0 : —	42 : 98.1
6 ^e			(c)	19 : 8.2	43 : 25.5
8 ^e				3 : 10.0	43 : 58.9
10 ^e				0 : —	42 : 99.5
12 ^e				0 : —	42 : 125.8

CONCLUSIONS AND SUMMARY

The objective of the present work was to investigate why the larvae of *Tenebrio molitor* no longer developed signs of a carnitine deficiency to the same degree as in the experiments conducted between 1947 and 1953 which led to the discovery of carnitine as an essential factor for growth and survival of these insects. As the result of a joint investigation carried out at Liège (Belgium) and Urbana (U. S. A.) the following conditions were recognized as to influence the development of a carnitine deficiency :

1. *The quality of the casein in the diet appears to be of prime importance.* Of 16 different samples of « vitamin-free » casein, supplied by 6 different manufacturers, certain caseins gave results which suggested an optimal or suboptimal content of

carnitine, while others, especially those successfully used in the past, still gave rise to a clear-cut carnitine deficiency. Even in a product supplied by the same manufacturer the carnitine content changed from sample to sample. This was especially the case with Labco casein, which up to 1952 gave invariably rise to a carnitine deficiency, while a carnitine deficiency seldom developed on samples obtained at a later date.

2. *Different strains of Tenebrio molitor react differently to a deficiency of carnitine in the diet,* and this in spite of the fact that the different strains or races were derived from the same initial heterogeneous population maintained at the Pest Infestation Laboratory, Slough, England. The strain grown at Urbana has over the years become less susceptible to the absence of carnitine. Larvae of a race « G » (Liège) and a culture recently obtained from the Pest Infestation Laboratory, tended to show a greater susceptibility, while larvae of a race « F » (Liège) were the least affected.

3. *For optimal growth, the larvae required in addition to carnitine another important growth factor which is present in the water-insoluble fraction of yeast (2 % of the diet).* In the absence of this factor growth was invariably very slow, even in the presence of caseins which did not give rise to a carnitine deficiency. In many instances, a carnitine deficiency, expressed by a high death rate of the larvae, was greatly enhanced in the presence of this factor.

4. In a number of cases, even under apparently identical conditions, *the responses of the larvae to carnitine showed a great variability* which cannot at present be satisfactorily explained. There were indications that the quality of the food of the parent generation, while they were larvae, influenced the development of a carnitine deficiency in the next generation, also that the possibility of the parent females to drink water previous to egg laying gave rise to a carnitine deficiency. The age of the parents was of no effect. One of us has already produced evidence of differences in larvae obtained from the same population at different times (LECLERCQ, 1955) and even from

cultures maintained on natural diets under optimal and standardized conditions (LECLERCQ, 1956).

5. It is therefore important to develop further the genetical study of the susceptibility of the *Tenebrio molitor* larva to a deficiency of carnitine, and to work out methods of purification of casein by which a product can be obtained which is devoid of carnitine activity but nutritionally satisfactory in all other respects. Meanwhile it is still possible to induce a carnitine deficiency with unfailing certainty by the addition to the diet of the specific carnitine inhibitor, *l*-butyrobetaine (BHATTACHARYYA et al., 1955).

Remerciements

G. FRAENKEL est vivement reconnaissant à l'*Office of Naval Research, Washington*, d'avoir bien voulu prendre les dispositions qui rendirent possible la mise en train de ce travail en collaboration. Il a bénéficié de subventions de l'*Office of Naval Research* (N6-ori-07139), de l'*Office of the Surgeon General, Department of the U. S. Army* (MD-308) et de l'*U. S. Public Health Service* (E533).

J. LECLERCQ est reconnaissant au *Fonds National de la Recherche Scientifique*, pour l'octroi d'un « Crédit aux Chercheurs ».

BIBLIOGRAPHIE

- BHATTACHARYYA, P. K., FRIEDMAN, S. et FRAENKEL, G. (1955). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 424.
- CANNON, M. D., BOUTWELL, R. K. et ELVEHJEM, C. A. (1945). — *Science*, **102**, 529.
- CARTER, H. E., BHATTACHARYYA, P. K., WEIDMAN, K. R. et FRAENKEL, G. (1952a). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **35**, 241.
- CARTER, H. E., BHATTACHARYYA, P. K., WEIDMAN, K. R. et FRAENKEL, G. (1952b). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **38**, 405.
- COOPER, M. I. et FRAENKEL, G. (1952). — *Physiol. Zoöl.*, **25**, 20.
- FRAENKEL, G., BLEWETT, M. et COLES, M. (1948). — *Nature*, **161**, 981.
- FRAENKEL, G., BLEWETT, M. et COLES, M. (1950). — *Physiol. Zoöl.*, **23**, 92.
- FRAENKEL, G. (1951). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **34**, 457.
- FRAENKEL, G. (1953). — *Biol. Bull.*, **104**, 359.
- FRAENKEL, G. (1954). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **50**, 486.
- FRAENKEL, G. et PEH-I CHANG (1954). — *Physiol. Zoöl.*, **27**, 40.
- FRENCH, E. W. et FRAENKEL, G. (1954). — *Nature*, **173**, 173.
- LECLERCQ, J. (1950). — *Physiol. Compar. Oecol.*, **2**, 161.
- LECLERCQ, J. (1954). — *Arch. internat. Physiol.*, **62**, 101.
- LECLERCQ, J. (1955). — *Physiol. Compar. Oecol.*, **4**, 89.
- LECLERCQ, J. (1955). — *Voeding*, **16**, 785.
- LECLERCQ, J. (1956). — *Bull. Soc. R. Sci. Liège*, **25**, 296.
- LUDWIG, D. et BARSA, M. C. (1955). — *J. Gen. Physiol.*, **38**, 729.
- MAGIS, N. (1954). — *Arch. internat. Physiol.*, **62**, 505.

Institut royal des Sciences naturelles de Belgique Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen

BULLETIN

Tome XXXII, n° 16
Bruxelles, février 1956.

MEDEDELINGEN

Deel XXXII, n° 16
Brussel, februari 1956.

LE GENRE PIYUMA (PATE, 1944), CURIOSITE ZOOGEOGRAPHIQUE. (HYM. SPHECIDAE CRABRONINAE).

par Jean LECLERCQ (Liège).

Dans la Monographie des Crabroniens (J. LECLERCQ, 1954), cinq espèces ont été rangées dans le genre *Piyuma* (PATE, 1944) : une du Queensland, une de Bornéo, deux de Formose et une des îles Philippines. J'ai eu l'occasion d'examiner une nouvelle série de représentants de ce genre; on trouvera ci-après les informations nouvelles apportées par ces examens.

1. *Piyuma koxinga* PATE (1944).

Taihorinsho, Formose, ♂, 2 ♀♀ (H. SAUTER, Naturhistorisch Museum, Wien) (même provenance que le matériel typique décrit par V. S. L. PATE); Taihanroku, Formose, ♀, 8/18-IV-1908 (H. SAUTER, British Museum, Natural History). Inde : Lachiwala, Dehra Dun, United Provinces, ♀, 14-XII-1928, ♂, 15-II-1929, ♂, 18-II-1929, ♀, 20-II-1929, ♂, 21-II-1929, ♀, 25-II-1929, ♂, ♀, 26-II-1929, ♀, 27-II-1929, ♂, 28-II-1929, ♂, 1-III-1929, ex *Bauhinia vahlii* (J. C. M. GARDNER, Forest Research Institute, Dehra Dun). Plusieurs doubles des séries précitées ont été cédés à l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique. J'avais déjà renseigné cette espèce de Sumatra. Les exemplaires de l'Inde ne diffèrent de ceux de Formose que par un détail insignifiant : l'anneau jaune des tibias III est sensiblement plus large.

Il est très probable que les *Piyuma dentipleuris* CAMERON, 1908 (de Bornéo), *makilingi* WILLIAMS, 1928 (des Philippines) et *iwatai* YASUMATSU, 1942 (de Formose), soient identiques à *koxinga* PATE, 1944, ce qui ramènerait ce dernier nom au rang de synonyme. Toutefois les trois espèces décrites avant 1944 ne restent connues que par une descrip-