

Reçu le 16 juin 1958.

NUTRITION PROTIDIQUE  
CHEZ *TENEBRIO MOLITOR* L.

III. — REMPLACEMENT DE LA CASÉINE  
PAR UN MÉLANGE DE 10 OU 9 ACIDES AMINÉS

PAR

Jean LECLERCQ <sup>(1)</sup> et Lucien HUOT <sup>(2)</sup>

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

Nous avons déterminé les conditions qui garantissent une alimentation protidique optimale et sans excès chez les larves de *Tenebrio molitor* de race G, pesant environ 60-70 mg. Nous savons aussi comment se comportent les mêmes larves quand on les prive de toute source d'acides aminés (HUOT et LECLERCQ 1958a, b). L'étape suivante de nos investigations devait consister à remplacer la caséine purifiée de l'alimentation optimale par un mélange d'acides aminés.

On ne pouvait éviter l'arbitraire dans le choix d'un premier mélange d'acides aminés. Nous avons préféré un mélange comportant les 10 acides aminés essentiels pour le Rat, dans les proportions utilisées habituellement par les spécialistes de la nutrition du Rat, c'est-à-dire un mélange répondant aux prescriptions de BENTON, HARPER, SPIVEY et ELVEHJEM (1956). Une différence était toutefois apportée dans le cas de la *l*-leucine, pour cet acide aminé nous avons utilisé un taux de 1 %.

Dans le domaine de la nutrition comparée, le Rat est en effet l'espèce-référence par excellence, et les recherches sur la nutrition protidique de cet animal s'imposent comme modèle et suggèrent la voie à suivre pour développer des études comme celle-ci.

---

<sup>(1)</sup> Associé du *Fonds National de la Recherche Scientifique (Belgique)*.

<sup>(2)</sup> Titulaire d'une Bourse postdoctorale du *Conseil National de Recherches du Canada* et boursier du *Conseil des Recherches agricoles de la Province de Québec*.

### Dispositions expérimentales

Les essais ont été réalisés dans les mêmes conditions que précédemment (HUOT et LECLERCQ, 1958 *a, b*) : larves de race G, pesant de 60 à 70 mg, mises au jeûne pendant 10 jours avant leur transfert dans les milieux expérimentaux ; alimentation identique à la fraction protidique près, etc. Nous avons déterminé les modifications du poids moyen des larves et du poids de nourriture disponible après une semaine et après 8 semaines de réalimentation.

Deux conditions témoins ont été prévues : aucune source d'acides aminés ; une source optimale d'acides aminés, soit 6.5 % de caséine purifiée Hoffmann-Laroche.

Dans une troisième condition, le milieu nutritif comporta un mélange de 10 acides aminés, à raison de 6.5 %, remplaçant la caséine. Ce mélange a été préparé et finement pulvérisé, en adoptant les proportions utilisées par BENTON, HARPER, SPIVEY et ELVEHJEM (1956), (exception pour la *l*-leucine) dans leurs expériences avec le rat, soit :

0.10 %	dl-tryptophane	(1)	0.70 %	dl-thréonine	(3)
0.20 %	l-histidine	(1)	0.98 %	dl-phénylalanine	(1)
0.27 %	l-arginine	(3)	1.00 %	l-leucine	(4)
0.30 %	dl-méthionine	(2)	1.20 %	dl-isoleucine	(3)
0.54 %	l-lysine	(1)	1.20 %	dl-valine	(3)

Dix autres conditions ont été réalisées en préparant autant de mélanges chacun étant privé d'un acide aminé différent, l'acide aminé omis étant remplacé par du glucose.

### Résultats

Aucune larve n'est morte pendant les huit premières semaines de réalimentation. On aurait voulu étudier le comportement des larves au-delà de ce délai, mais la signification des résultats finit par devenir douteuse car, après huit semaines, quelques larves disparaissent, victimes du cannibalisme ; d'autre part, on pourrait craindre que certains milieux nutritifs ne finissent par s'avarier. Signalons seulement que les larves placées dans les milieux comportant 6.5 % de caséine ont fourni des nymphes dans les délais normaux tandis que les larves soumises à toutes

(1) *F. Hoffman-LaRoche Co. Bâle (Suisse).*

(2) *Winthrop products, Inc. New York (U. S. A.).*

(3) *Nutritional Biochemicals Corporation. Cleveland, Ohio (U. S. A.).*

(4) *Pfanstiehl Chemical Co. Illinois (U. S. A.).*

les autres conditions survivent pendant de longues semaines et n'atteignent jamais l'état nymphal.

Le tableau I présente les résultats relatifs aux modifications du poids moyen des larves après une et après huit semaines. Le tableau II présente les résultats correspondants, relatifs à la quantité de nourriture utilisée en moyenne par larve.

TABLEAU I. — *Modifications du poids chez des larves de Tenebrio molitor de race G, recevant une alimentation artificielle dans laquelle la protéine est remplacée par un mélange de 9 ou 10 acides aminés*

Source d'acides aminés	Nombre de larves	Poids moyens exprimés en % du poids initial		Poids gagné ou perdu entre la 2 <sup>e</sup> et la 8 <sup>e</sup> semaine $c = \pm \frac{b-a}{a} \times 100$	
		après la 1 <sup>re</sup> semaine de réalimentation <i>a</i>	après la 8 <sup>e</sup> semaine de réalimentation <i>b</i>		
Optimale : caséine . . . . .	90	146.7 %	283.8 %	+97.7 %	
Nulle . . . . .	60	123.1	129.8	+ 5.4	
A : mélange de 10 acides aminés . . . . .	45	124.3	136.5	+ 9.8	
.....					
A {	sans l-histidine . . . . .	15	120.7	127.0	+ 5.3
	sans l-arginine . . . . .	15	121.1	126.2	+ 4.2
	sans l-lysine . . . . .	15	112.7	114.2	+ 1.4
	sans dl-méthionine . . . . .	15	118.3	118.9	+ 0.4
	sans dl-isoleucine . . . . .	15	125.3	122.0	— 2.6
	sans dl-tryptophane . . . . .	15	119.9	116.8	— 2.6
	sans l-leucine . . . . .	15	111.3	107.7	— 3.2
	sans dl-valine . . . . .	15	117.9	106.25	— 9.9
	sans dl-thréonine . . . . .	15	112.4	99.0	—11.5
sans dl-phénylalanine . . . . .	15	118.9	104.0	—12.5	



1. — *Modifications du poids des larves (tableau I)*

Pendant la première semaine, les larves affamées ont regagné du poids (11.3 à 46.7 %) dans toutes les conditions. Le mélange de 10 acides aminés s'est avéré beaucoup moins favorable que la caséine, et à peine plus favorable que la privation totale de protides. Le mélange *sans isoleucine* fut aussi favorable, sinon meilleur, que le mélange de 10 acides aminés. L'omission des autres acides aminés a entraîné des récupérations de poids nettement moins bonnes que celles qui furent enregistrées sans protides. On peut classer comme suit, les 10 acides aminés, du plus nécessaire au moins nécessaire :

**Classement a** : *leucine, thréonine, lysine* > *valine, méthionine, phénylalanine* > *tryptophane, histidine, arginine* > *isoleucine*

Après huit semaines de réalimentation, l'insuffisance du mélange de 10 acides aminés reste manifeste et condamne les larves à une croissance très médiocre. Mais ce mélange a fini par s'affirmer nettement plus favorable que la privation totale de protides ; il est insuffisant mais on ne peut le déclarer toxique.

Il n'en va pas de même des mélanges de 9 acides aminés. Tous conduisent à des poids moyens inférieurs à ce qu'on obtient sans protide du tout. Les dix acides aminés considérés sont donc tous indispensables et ils le sont tous solidairement, puisqu'il vaut mieux les omettre tous qu'en omettre un seul.

Les dix acides aminés ne sont pas essentiels au même degré ou de façon également immédiate. L'isoleucine ne paraissait pas essentielle pendant la phase de récupération de la première semaine, elle le devient manifestement par la suite. En prenant pour critère, la situation à la fin de la huitième semaine, on peut classer les acides aminés dans l'ordre suivant, du plus indispensable au moins indispensable :

**Classement b** : *thréonine* > *phénylalanine, valine, leucine* > *lysine, tryptophane, méthionine* > *isoleucine, arginine, histidine.*

Ce classement diffère sur plusieurs points du classement *a*, obtenu à l'échéance de la première semaine. On remarquera surtout que la valine, la phénylalanine et la thréonine ont fini

par se révéler d'une importance plus critique que la leucine et la lysine, ce qu'on ne pouvait prévoir en considérant le classement *a*.

Le classement *b*, pour objectif qu'il soit, a le tort de totaliser les effets de deux périodes de réalimentation pendant lesquelles les larves se comportent différemment. Nous avons donc tenu à présenter séparément le comportement des larves entre la fin de la première et la fin de la huitième semaine, période pendant laquelle elles ne sont plus affamées et ne souffrent plus de carences glucidiques, vitaminiques, etc. Pour cela, nous avons calculé les modifications de poids en considérant le poids *a* (après la première semaine) comme poids initial = 100 %. Les résultats de ces calculs sont présentés dans la dernière colonne du tableau I. On y apprend que le mélange de 10 acides aminés permet une croissance pondérale qui ne représente que 10 % de la croissance optimale permise par la caséine, tandis que l'absence de tout protide n'assure que 55 % de la croissance résultant de la présence de 10 acides aminés.

Tous les mélanges de 9 acides aminés (à l'exception possible de celui qui manque d'histidine) conduisent à des résultats moins favorables que l'absence de tout protide. On peut donc confirmer encore le caractère essentiel des 10 acides aminés. Mais en prenant pour critère ce mode d'expression des résultats, on aboutit à un troisième classement qu'on peut tenir pour plus définitif puisqu'il exprime l'ordre d'essentialité dans des conditions où on a, à la fois, éliminé le facteur passé alimentaire antérieur aux essais et réduit l'incidence de la faim non protidique. Voici ce troisième classement, de l'acide aminé le plus indispensable à l'acide aminé le moins nécessaire :

**Classement c** : *phénylalanine, thréonine, valine* > *leucine, tryptophane, isoleucine* > *méthionine* > *lysine* > *arginine, histidine*.

Il faut remarquer que l'histidine et les deux acides di-aminés sont les seuls qu'on peut omettre sans bloquer toute croissance et que l'omission de la méthionine arrête la croissance sans faire perdre du poids. L'omission des six autres acides aminés rend les mélanges vraiment toxiques et fait maigrir les sujets d'expérience.

2. — *Quantité de nourriture utilisée* (tableau II)

Il est évidemment impossible d'expliquer actuellement les classements obtenus ci-dessus puisque nous ignorons tout des processus de la biosynthèse des protéines chez la larve de *Tenebrio*. On devait cependant se demander si certains résultats ne mettent pas simplement en cause des phénomènes d'appétence et d'inappétence. Les modifications des poids de chaque milieu nutritif nous ont fait connaître, avec une précision suffisante, la quantité de nourriture utilisée par les larves. Ceci n'est pas une mesure directe de l'appétit mais on peut admettre, en

TABLEAU II. — *Quantité de nourriture utilisée par les larves de Tenebrio molitor de race G, recevant une alimentation artificielle dans laquelle la protéine est remplacée par un mélange de 9 ou 10 acides aminés*

Source d'acides aminés	Quantité de nourriture utilisée (en mg., par larve)			
	pendant les 8 premières semaines	par jour, pour les périodes suivantes :		
		Première semaine	2 <sup>e</sup> -8 <sup>e</sup> semaines	
Optimale : caséine .....	281 mg.	9.0 mg.	4.4 mg.	
Nulle .....	142	6.2	2.0	
A : mélange de 10 acides aminés ...	148	6.1	2.1	
.....				
A {	sans isoleucine .....	137	6.3	1.9
	sans histidine .....	118	5.6	1.7
	sans méthionine .....	113	5.2	1.6
	sans leucine .....	109	3.9	1.6
	sans tryptophane .....	113	5.7	1.5
	sans arginine .....	112	5.5	1.5
	sans valine .....	110	5.1	1.5
	sans phénylalanine .....	106	5.6	1.4
	sans lysine .....	95	4.0	1.4
sans thréonine .....	66	4.0	0.8	



première approximation, que toute modification importante de l'appétence des larves aurait une répercussion observable sur la quantité de nourriture utilisée. Et, de toutes façons, il était intéressant de comparer les quantités de nourriture utilisées pour compléter son jugement sur l'importance relative des acides aminés. Les résultats du tableau II autorisent les commentaires suivants :

Quand on supprime la caséine ou la remplace par le mélange de 10 acides aminés, la quantité de nourriture utilisée est réduite d'un tiers pendant la première semaine des essais ; elle est réduite de moitié si on considère les semaines suivantes ou la durée totale des essais. Il n'y a pas de différence significative entre les résultats du milieu sans protides et ceux du milieu comportant 10 acides aminés.

L'omission de l'isoleucine n'a pas d'effet la première semaine mais il semble y avoir un effet ultérieur, de valeur statistique discutable. L'omission des 9 autres acides aminés provoque une diminution marquée de l'utilisation de nourriture. Les différences sont moins grandes avec ce critère qu'avec les modifications de poids. Elles permettent de classer les acides aminés de trois façons différentes, du plus inhibiteur au moins inhibiteur :

**Classement a'** (situation pendant la première semaine) :  
*leucine, thréonine, lysine* > *valine, méthionine, arginine,*  
*phénylalanine, histidine, tryptophane* > *isoleucine.*

**Classement b'** (pendant les huit semaines) : *thréonine* > *lysine*  
 > *phénylalanine, leucine, valine, arginine, tryptophane,*  
*méthionine* > *histidine* > *isoleucine.*

**Classement c'** (de la fin de la 1<sup>re</sup> à la fin de la 8<sup>e</sup> semaines) :  
*thréonine* > *lysine, phénylalanine* > *valine, tryptophane,*  
*arginine, leucine, méthionine* > *histidine* > *isoleucine.*

Ces classements ne sont évidemment pas indiscutables dans leurs détails. Si on les compare à leurs correspondants *a*, *b* et *c*, établis en fonction des poids, on ne manque pas de remarquer une certaine concordance. Par exemple, la thréonine et la phénylalanine se classent parmi les plus critiques pour le critère poids comme pour le critère utilisation de la nourriture, tandis

que l'histidine se classe parmi les moins critiques pour les deux critères. Mais la concordance est loin d'être parfaite et on doit souligner tout particulièrement les divergences suivantes :

L'*isoleucine* est l'acide aminé qu'on peut omettre avec le moins de dommages suivant le critère utilisation de nourriture, c'est vrai aussi si on considère les changements du poids de la première semaine, mais ce n'est plus le cas, loin s'en faut, si on considère l'évolution ultérieure des poids.

L'*arginine* occupe une position moyenne (sixième) dans tous les classements basés sur la nourriture utilisée mais elle occupe une position terminale (neuvième) dans tous les classements basés sur les changements de poids.

La *lysine* passe de la troisième position à la cinquième et à la huitième quand on passe du classement *a*, aux classements *b* et *c*. Elle est aussi en troisième position dans *a'* mais reste en deuxième position dans les classements ultérieurs *b'* et *c'*.

Dans ces cas au moins, le caractère critique des acides aminés n'est donc pas simplement fonction de l'appétence des larves pour les milieux qui les contiennent ou ne les contiennent pas. Tout se passe comme si le mélange privé d'isoleucine était plus appétissant que favorable à la croissance, tandis que les mélanges privés d'arginine ou de lysine seraient plus favorables à la croissance qu'appétissants.

### Discussion

On devait s'attendre à l'insuffisance du mélange de 10 acides aminés. Même chez le Rat, les mélanges bien proportionnés d'acides aminés essentiels restent toujours d'une valeur nutritive inférieure à celles des protéines complètes (*Nutrition Rev.* 16, 1958, 111). Il en va de même chez les divers insectes étudiés à ce propos (*Tribolium confusum*, FRAENKEL et PRINTY, 1954; *Blattella germanica*, HOUSE, 1949; *Phormia regina*, HODGSON, CHELDELIN et NEWBURGH, 1956).

On pouvait aussi supposer que les 10 acides aminés essentiels du Rat seraient indispensables au ver de farine. Tous sont essentiels pour *Tribolium confusum* (LEMONDE et BERNARD, 1951); *Pseudosarcophaga affinis*, HOUSE, 1954; *Apis mellifica*,



DE GROOT, 1952 ; *Chilo simplex*, ISHII et HIRANO, 1955 ; *Phormia regina*, MCGINNIS, NEWBURGH et CHELDELIN, 1955 ; *Calliphora erythrocephala*, SEDEE, 1954 ; *Musca domestica vicina*, CHANG et WANG, 1958 et enfin *Drosophila melanogaster* les requiert aussi tous et a en plus besoin de glycine (HINTON, NOYES et ELLIS, 1951).

Le premier résultat inattendu de notre étude est que l'omission de n'importe quel acide aminé essentiel affecte la croissance et l'utilisation de la nourriture plus que la privation totale d'acides aminés. Tout se passe comme si un mélange de 9 acides aminés provoquait un encombrement néfaste dans les processus métaboliques et acquérait ainsi une toxicité d'une nature différente de ce qu'on observe avec le mélange, pourtant lui aussi insuffisant, des 10 acides aminés.

Le second résultat inattendu est que les 10 acides aminés ne sont pas essentiels de façon aussi immédiate et de façon aussi critique. Certains sont presque superflus (histidine, arginine), d'autres sont d'abord inutiles puis deviennent critiques (isoleucine), d'autres ne peuvent manquer sans effets drastiques (thréonine, phénylalanine). On peut donc classer les acides aminés dans l'ordre de leur indispensabilité mais les classements obtenus diffèrent suivant le critère (récupération immédiate, croissance après récupération, quantité de nourriture utilisée, etc.). De plus, certains acides aminés influencent l'appétence et sans doute par là la consommation de nourriture et la croissance pondérale. Par contre, d'autres permettent des croissances qui ne sont pas en rapport avec leur incidence sur la quantité de nourriture utilisée.

Tous ces résultats montrent bien que les besoins en acides aminés essentiels n'obéissent pas à une simple loi de tout ou rien. Chaque carence a ses symptômes particuliers, et on en déduit facilement que dans chaque condition carencielle, les larves de *Tenebrio* expérimentent une pathologie métabolique particulière. En fait, cette diversité des pathologies carencielles chez *Tenebrio* apparaît surtout parce que cet animal reste en vie pendant longtemps, dans des conditions qui auraient fait mourir en peu de temps tout autre animal en phase de croissance active.

### Summary

Larvae of *Tenebrio molitor* (strain G, stage 60-70 mg.) were fed on artificial diets in which casein was replaced by mixtures of 10 or 9 aminoacids, similar to the standard mixtures adopted by investigators of the Rat nutrition.

As expected, the 10 aminoacids mixture was far from sufficient. It was however better than no source of aminoacids and supported a constant though slight increase of weight. On the other and, all the mixtures of 9 aminoacids became soon much worse than total privation of aminoacids. Thus the 10 aminoacids essential for the Rat and many other animals are also essential for *Tenebrio molitor* larvae and these suffer less from total lack of the 10 aminoacids than from the absence of any one of them.

The degree of essentiality of the 10 aminoacids can be estimated using different criteria such as weight recovery just after starvation, weight changes after the repletion period, quantity of food utilized during each period. There is a certain but not absolute relation between the classifications obtained using the various criteria.

### BIBLIOGRAPHIE

- BENTON, D. A., HARPER, A. E., SPIVEY, H. E. et ELVEHJEM, C. A. (1956). — *Arch. Biochem. Biophys.*, **60**, 147.
- CHANG, J. T. et WANG, M. Y. (1958). — *Nature*, **181**, 566.
- DE GROOT, A. P. (1952). — *Experientia*, **8**, 192.
- FRAENKEL, G. et PRINTY, G. E. (1954). — *Biol. Bull.*, **106**, 149.
- HINTON, T., NOYES, D. T. et ELLIS, J. (1951). — *Physiol. Zool.*, **24**, 335.
- HODGSON, E., CHELDELIN, V. H. et NEWBURGH, R. W. (1956). — *Canadian J. Zool.*, **34**, 527.
- HOUSE, H. L. (1949). — *Canadian Entomologist*, **81**, n° 5.
- HOUSE, H. L. (1954). — *Canadian J. Zool.*, **32**, 358.
- HUOT, L. et LECLERCQ, J. (1958, a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 270.
- HUOT, L. et LECLERCQ, J. (1958, b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 276.
- ISHII, S. et HIRANO, G. (1955). — *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Ser. C.*, **5**, 35.
- LEMONDE, A. et BERNARD, R. (1951). — *Canadian J. Zool.*, **29**, 80.
- MCGINNIS, A. J., NEWBURGH, R. W. et CHELDELIN, V. H. (1956). — *J. Nutrition*, **58**, 309.
- SEDEE, D. J. W. (1954). — *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.*, **3**, 262.