

<https://doi.org/10.25221/kurentzov.33.9>

<https://elibrary.ru/erjpvz>

<http://zoobank.org/References/9AABBF8A-AF3F-40F9-9EB4-5F3E18BD0D82>

ИСКУССТВЕННАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ ДИЕТА ДЛЯ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *ZOPHOBAS ATRATUS* (FABRICIUS, 1775)
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

А.В. Куприн^{1*}, В.С. Веремченко², М.Т. Ханды^{1,2}, Е.М. Булах¹

¹ Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток

² Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

*Корреспондирующий автор, E-mail: kuprins@mail.ru

Приводятся первые данные о возможностях массового разведения личинок чернотелки *Zophobas atratus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Tenebrionidae) на искусственной питательной диете (ИПД) на основе опилок ильма японского и мицелия гриба *Pleurotus citrinopileatus* Singer. Показано, что продолжительность развития жука на данной среде составляет в среднем 7 месяцев. Применение новой ИПД позволит проводить исследования биологии развития ксилофагов с разным типом питания в лабораторных условиях, под влиянием биотических и абиотических факторов среды.

Zophobas atratus (Fabricius, 1775) – представитель большого семейства жуков-чернотелок (Tenebrionidae), насчитывающего в настоящее время около 20 тыс. видов, личинки многих видов питаются растительными остатками, некоторые личинки являются вредителями сельскохозяйственных культур (Tschinkel, Willson, 1971; Marcuzzi, 1984). В природе *Z. atratus* встречается в Тропических регионах Центральной и Южной Америки, личинки трофически связаны с крупными древесными остатками лиственных пород деревьев, имеется указание на питание экскрементами летучих мышей (Tschinkel, 1984). В настоящее время вид завезен во многие регионы Европы и Азии, личинки жука используются для кормления животных в инсектариях и зоопарках (Yuan et al., 2012; Fursov, Cherney, 2018).

Сведения о массовом разведении жука на различных кормовых субстратах приведены в табл. 1. Для культивирования личинок обычно используют пшеничные отруби с добавлением различных фруктовых и прочих растительных остатков, некоторые исследователи применяли отходы пищевого производства для получения белковой биомассы личинок при применении в качестве дополнительного источника протеинов в рационе сельскохозяйственных животных (Hagstrum, Subramanyam, 2009; Kieronczyk et al., 2018).

Цель настоящей работы – подобрать рацион (диету) для личинок *Zophobas atratus*, максимально соответствующую трофическим предпочтениям в природе, для культивирования модельного вида сапро-ксилофага и изучения его развития под влиянием различных биотических и абиотических факторов в лабораторных условиях.

Таблица 1

Экспериментальные данные по массовому разведению личинок
Zophobas atratus в лабораторных условиях

№ п/п	Используемая диета, особенности содержания	Автор
1	Основной компонент – пшеничные отруби с добавлением различных зерновых культур, например овес.	Quenedey et al., 1995; Tschinkel, 1993; Aribi et al., 1997; Maciel-Vergara et al., 2018
2	К основной диете, основанной на пшеничных отрубях, добавляют дополнительные крахмалсодержащие продукты, для восполнения влаги (кожура фруктов, морковь и т.д.). При отсутствии достаточного количества влаги личинки проявляют каннибальное поведение.	Ichikawa, Kurauchi 2009; Van Broekhoven et al., 2015; Maciel-Vergara et al., 2018
3	Отходы пивного производства.	Van Broekhoven, 2015; Van Broekhoven et al., 2015
4	Растительные остатки с добавлением навоза крупного рогатого скота), лошадей и куриного помета. При использовании навоза отмечено замедление роста и развития личинок.	Harsanyi et al., 2020
5	Основная диета, температура от 25 до 28 °С, относительная влажность 60–70%. Дополнительно исследовано влияние плотности личинок на накопление биомассы.	Tschinkel, 1981; Ichikawa, Kurauchi, 2009; Zaelor, Kitthawee, 2018; VandenBrooks et al., 2020

Результаты и обсуждение

Маточная культура. Маточная культура была получена в зоологическом магазине (г. Владивосток, Приморский край), достоверных данных о происхождении имаго предоставлено не было. Приобретенных 10 пар имаго содержали в лабораторных условиях в пластиковых садках, объемом 5 литров, на дно садка было добавлено 5 см опилок ильма японского, листового отпада (для поддержания влаги) и внесены крупные ветви с корой 4 стадии разложения для того, чтобы дать возможность жукам создать убежища и производить откладку яиц.

Для дополнительного питания имаго использовали различные варианты фруктового пюре, свежие фрукты, редко овощи. Два-три раза в неделю маточник опрыскивали фильтрованной или дистиллированной водой для поддержания влажности от 60–75%.

Отложенные яйца переносили в садки с диетой, описание которой приведено ниже.

Искусственная питательная диета (ИПД). Для приготовления искусственной диеты был использован мицелий гриба *Pleurotus citrinopileatus* Singer, хранящийся в Биоресурсной коллекции ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Для опилочной среды использовали измельченную древесину ильма японского, относительной влажность от 60 до 70 %. Смоченные опилки обрабатывали в автоклаве при температуре 121 °С в течение 2 ч при давлении пара 1 атм. Обработанный субстрат переносили в стерильные контейнеры вносили остальные компоненты диеты (табл. 2). Подготовленные контейнеры со всеми компонентами питательной диеты, культивировали в темноте, в климатическом инкубаторе (фирмы Sanyo, MIR-154, Япония) при температуре 25 °С и влажности не ниже 70%, около 20 дней, по методике, разработанной нами для *Callipogon relictus* (Yi et al., 2017).

Таблица 2
Состав компонентов ИПД для культивирования *Zophobas atratus*
в лабораторных условиях

№ п/п	Наименование компонента	Содержание компонентов в 500 г среды, г.
1	Опилки ильма долинного	120,00
2	Мицелий <i>Pleurotus citrinopileatus</i>	25,00
3	Кормовые дрожжи	10,00
4	Аскорбиновая кислота	4,50
5	Сахароза	20,00
6	Агар	6,20
7	Дистиллированная вода	314,30

Подготовленный субстрат переносили в стерильные садки (Ferplast Geo Large, КНР) размером 30x20x20,3 см и помещали личинок 1 возраста группами до 100 экземпляров. Поверхность субстрата 2–3 раза в неделю опрыскивалась дистиллированной водой.

Для получения данных по индивидуальному развитию личинок, изменению массы тела и потребления кормового субстрата проводили эксперимент с индивидуальным содержанием личинок 1 возраста на ИПД в стерильных контейнерах, объемом 100 мл (n=10). Некоторые биометрические данные и продолжительность развития личинок разных возрастов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Некоторые биометрические показатели и продолжительность развития жука *Zophobas atratus*, культивируемого на ИПД

№ п/п	Стадия развития	Длина, мм	Масса, г	Продолжительность развития, дни (Ср.±SE)
1	Яйцо	1,2–1,5	0,1–0,9	6,4±0,52
2	Личинки (L1–L4)	2,2–2,7	1,5–3,5	L1 – 10,8±0,92 L2 – 14,8±0,79 L3 – 12,2±1,14 L4 – 13,6±1,51
3	Личинки (L5–L12)	48,0–52,0	10,0–23,0	L5 – 15,9±0,57 L6 – 15,1±0,57 L7 – 12,6±1,07 L8 – 14,5±0,71 L9 – 12,6±0,97 L10 – 11,4±0,52 L11 – 18,5±0,97 L12 – 23,8±1,14
4	Куколка	29,0–45,0	5,6–14,0	9,7±0,48
5	Имаго	30,0–34,4	-	-

По нашим данным, продолжительность развития жука от яйца до имаго на ИПД составляет в среднем 200 дней, отрождение личинок из яиц происходит, как правило, на 6–7-е сутки после откладки, личинки имеют 12 возрастов. Продолжительность развития согласуются с данными, полученными ранее (табл. 1), однако, в работе С. Кима с соавторами (Kim et al., 2015) имеется указание на наличие 18 возрастов у личинок, при этом отмечено, что окукливание у некоторых особей начиналось после линьки в 13-й возраст (около 3% исследованных случаев). Мы предполагаем, что индивидуальное содержание личинок может приводить к сокращению числа возрастов и сроков развития у жуков сапро-ксилофагов, похожие закономерности были отмечены у *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Barnes, Siva-Jothy, 2000) и некоторых других видов жесткокрылых (Yi et al., 2019).

Заключение

Экспериментальным путем получена искусственная питательная диета для массового культивирования личинок чернотелки *Z. atratus* в лабораторных условиях. В состав компонентов ИПД входят опилки ильма японского, мицелий вешенки *Pleurotus citrinopileatus*, кормовые дрожжи, аскорбиновая кислота, сахароза, агар и дистиллированная вода. Исследован процесс развития жука на ИПД от стадии яйца до имаго, установлено, что при постоянной температуре и влажности процесс развития занимает около 7 месяцев.

В настоящее время поиск оптимальных условий для массового разведения (производства) насекомых имеет важный прикладной и фундаментальный аспекты и направлен на решение задач, связанных с получением новых источников протеинов для кормов и пищевых добавок как сельскохозяйственных животных, так и новых антибактериальных соединений для разработки лекарственных препаратов широкого спектра действия, а также для исследований адаптаций личинок ксилофагов с разным типом питания, под влиянием разных факторов среды. Информация об эффективном массовом, экономичном и устойчивом производстве *Z. atratus* ограничена, в отличие от других видов, таких как *T. molitor* Linnaeus, 1758 и *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758), промышленное производство которых направлено на получение не только белковой биомассы, но и ценных вторичных метаболитов различного назначения.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках государственного задания ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН № 121031000120-9.

ЛИТЕРАТУРА

- Aribi A., Quenedey A., Pitoizet N., Delbecque J.-P. 1997.** Ecdysteroid titres in a tenebrionid beetle, *Zophobas atratus*: effects of grouping and isolation. *Journal of Insect Physiology*, 43: 815–821.
- Barnes A.I., Siva-Jothy M.T. 2000.** Density-dependent prophylaxis in the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae): cuticular melanization is an indicator of investment in immunity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267: 177–182.
- Fursov V.N., Cherney L.S. 2018.** *Zophobas atratus* (Fabricius, 1775) - New genus and species of darkling beetles (Coleoptera, Tenebrionidae) for the fauna of Ukraine. *Ukrainian Entomological Journal*, 1: 10–24.
- Hagstrum D.W., Subramanyam B. 2009.** Stored-product insect resource. St. Paul, MN: AACC International Inc. 510 p.
- Harsanyi E., Juhasz C., Kovacs E., Huzsvai L., Pinter R., Fekete G., Varga Z.I., Aleksza L., Gyuricza C. 2020.** Evaluation of organic wastes as substrates for rearing *Zophobas morio*, *Tenebrio molitor*, and *Acheta domesticus* larvae as alternative feed supplements. *Insects*, 11: 604.

- Ichikawa T., Kurauchi T. 2009.** Larval cannibalism and pupal defense against cannibalism in two species of tenebrionid beetles. *Zoological Science*, 26: 525–529.
- Kieronczyk, B., M. Rawski, A. Jozefiak, J. Mazurkiewicz, S. Swiatkiewicz, M. Siwek, M. Bednarczyk, M. Szumacher-Strabel, A. Cieslak, A. Benzertiha, D. Jozefiak. 2018.** Effects of replacing soybean oil with selected insect fats on broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 240: 170–183.
- Kim S.Y., Kim H.G., Song S.H. Kim N.J. 2015.** Developmental characteristics of *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae in different instars. *International Journal of Industrial Entomology*, 30: 45–49.
- 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.
- Marcuzzi G. 1984.** A catalogue of Tenebrionid beetles (Coleoptera: Heteromera) of the West Indies. *Folia Entomologica Hungarica*, 45: 69–108.
- Quennedey A., Aribi N., Everaerts C., Delbecque J.-P. 1995.** Postembryonic development of *Zophobas atratus* Fab. (Coleoptera: Tenebrionidae) under crowded or isolated conditions and effects of juvenile hormone analogue applications. *Journal of Insect Physiology*, 41: 143–152.
- Tschinkel W.R. 1981.** Larval dispersal and cannibalism in a natural population of *Zophobus atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Animal Behavior*, 29: 990–996.
- Tschinkel W.R. 1984.** *Zophobas atratus* (Fab.) and *Z. rugipes* Kirsch are the same species. *Coleopterists Bulletin*, 38: 325–333.
- Tschinkel W.R. 1993.** Crowding, maternal age, age at pupation, and life history of *Zophobus atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 86: 278–297.
- Tschinkel W.R., Willson C.D. 1971.** Inhibition of pupation due to crowding in some tenebrionid beetles. *Journal of Experimental Zoology*, 176: 137–146.
- Van Broekhoven S. 2015.** Quality and safety aspects of mealworms as human food. Ph.D dissertation, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands. 120 pp.
- Van Broekhoven S., Oonincx D.G., van Huis A., van Loon J.J. 2015.** Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, 73: 1–10.
- VandenBrooks J.M., Ford C.F., Harrison J.F. 2020.** Responses to alteration of atmospheric oxygen and social environment suggest trade-offs among growth rate, life span, and stress susceptibility in giant mealworms (*Zophobas morio*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 93: 358–368.
- Yi D.A., Kuprin A.V., Bae Y.S. 2019.** Effects of temperature on instar number and larval development in the endangered longhorn beetle *Callipogon relictus* (Coleoptera: Cerambycidae) raised on artificial diet. *Canadian Entomologist*, 4: 537–544.
- Yi D.A., Kuprin A.V., Lee Y.H., Bae Y.S. 2017.** Newly developed fungal diet for artificial rearing of the endangered long-horned beetle *Callipogon relictus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Entomological Research*, 6: 373–379.
- Yuan J., Yinan Z., Ling M., Hui W., Liyu H., Jie H. 2012.** Identification of alive female and male adult of *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 48: 175–177.
- Zaelor J., Kitthawee S. 2018.** Growth response to population density in larval stage of darkling beetles (Coleoptera; Tenebrionidae) *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. *Agriculture and Natural Resources*, 52: 603–606.

ARTIFICIAL DIET FOR CULTIVATION OF *ZOPHOBAS ATRATUS*
(FABRICIUS, 1775) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) IN LABORATORY
CONDITIONS

A.V. Kuprin^{1*}, V.S. Veremenko², M.T. Khandy^{1,2}, E.M. Bulakh¹

¹ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern
Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia.

² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia.

*Corresponding author, E-mail: kyprins@mail.ru

The first data on the possibilities of mass rearing of the larvae of the darkling beetle *Zophobas atratus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Tenebrionidae) on an artificial diet (AD) based on sawdust of the Japanese elm and mycelium of the fungus *Pleurotus citrinopileatus* are given. It is shown that the duration of the development of the beetle on this diet is on average 7 months. The use of the new artificial diet will allow to study the developmental biology of xylophages with different types of nutrition in laboratory conditions, under the influence of biotic and abiotic factors.