

# MISE AU POINT D'UNE MICRO-TERMI- TIÈRE DE LABORATOIRE DESTINÉE À PRODUIRE UN MATÉRIEL BIOLOGI- QUE DE QUALITÉ POUR RECHERCHER ET CONTRÔLER DES PRODUITS DE PRÉSERVATION DU BOIS

par M. ARGOUD, J. MOCOTTE, R. STERNALSKI

## SUMMARY

### DEFINITION OF A BENCH SCALE MICROTERMITARY AS A BIOLOGICAL MATERIAL FOR RESEARCH AND CONTROL OF WOOD PRESERVATIVES

*It is now possible to realize and maintain breedings of colonies of termites (*Reticulitermes Santonensis*) which are easy to control and handle, without parasites (acaridae, insects) and with an improved productivity. The total minimum volume of the termitary is around half a litre, that is less than 1% of the current volume of natural colonies or even laboratory breedings. A research team from RHONE-POULENC-XYLOCHIMIE met that aim by removing wood by a cellulosic nutritional defined base, mixed with the indispensable inorganic salts and some vitamins. The moisture content, the temperature, the ratios weight of food/biomass and volume of housing/biomass are controllable.*

*The biological material obtained is of high quality and easy to handle, which is not the case of classical huge breedings using timber mixed with a compost, a technique usually carried out in specialized laboratories. The interest of such a technique is the miniaturization of a termitary to get a distribution of population similar to that of a classical and naturally installed colony. Starting from that micro-termitary, it is possible to extend the volume of housing, which allows to point out that from now the main problems of intrapopulation and extrapolation of such social breedings are solved.*

## RESUMEN

### PUESTA A PUNTO DE UNA MICRO-COMEJENERA DE LABORATORIO DESTINADA A LA PRODUCCION DE UN MATERIAL BIOLÓGICO DE CUALIDAD PARA AVERIGUAR Y COMPROBAR PRODUCTOS PARA LA PRESERVACION DE LA MADERA

*Es ahora posible de realizar y mantener crias de colonias de comejenes (*Reticulitermes Santonensis*) facilmente comprobables y de manipulacion facil, indemnes de parasitos (Acaridos, Insectos) y con una productividad aumentada.*

*El volumen global minimo se situa cerca de 0,5 litro, es decir menos de 1% del volumen habitual ocupado en la naturaleza, ciertamente en las crias de laboratorio.*

*Un equipo de investigadores de RHONE-POULENC XYLOCHIMIE ha alcanzado este objetivo sustituyendo la madera por una base alimenticia celulosica definida, asociada a los sales minerales indispensables y a algunas vitaminas.*

*La higrometria, la temperatura, las relaciones peso de alimento/biomasa y volumen de zona de habitat/biomasa son comprobables.*

*El reactivo biologico obtenido es de cualidad y facilmente previsible, lo que no es el caso en las crias gruesas que utilizan bloques de madera enterrados dentro un abono compuesto, tecnica empleada actualmente en los laboratorios especializados.*

*El interes de esta tecnica radica en la miniaturizacion de una comejenera para dar acceso a una poblacion representativa de una comejenera clasica, y naturalmente instalada.*

*A partir de esta micro-comejenera, es posible de agrandar el medio de cria, lo que permite de asegurar que son ahora solucionados, en sus grandes lineas, los problemas de intrapopulacion y de extrapolacion de semejantes conjuntos sociales.*

## INTRODUCTION

Pour apprécier l'activité antitermite d'un produit chimique ou d'une composition, il est nécessaire d'utiliser des insectes sains et indemnes de parasites.

La technique actuelle consiste à élever les insectes dans des blocs de bois enfouis dans un compost agricole. Le volume de ces élevages est important, se situant généralement entre 0,5 et 1 m<sup>3</sup>.

Ces termitières bien qu'employées depuis une vingtaine d'années présentent un certain nombre d'inconvénients :

- difficulté d'humidifier l'ensemble d'une manière homogène ;
- impossibilité de suivre l'implantation des termites ;
- impossibilité de connaître l'importance de la population après un temps donné ;
- difficultés de contrôler la présence de parasites et contaminations diverses dans les blocs de bois ;
- difficultés de récupérer les insectes dans les blocs de bois ;
- encombrement des cuves d'élevage.

Ce sont toutes ces raisons qui ont déterminé l'étude de micro-termitières entièrement contrôlées en humidité, température, nourriture, biomasse.

Il est nécessaire de disposer d'une pièce obscure conditionnée à 27 °C ± 1 °C et 80 % ± 2 % d'humidité relative. Les récipients d'élevage transparents inertes peuvent être constitués de différentes matières, mais le verre est préférable car les insectes ne le percent pas. A titre d'exemple, une feuille de 1 mm de polyéthylène est traversée en quelques jours. La forme des récipients importe peu ; les cristallisoirs circulaires en verre pyrex sont pratiques, leurs contenances s'échelonnent de 0,5 l à 5 l et ils se trouvent sur le marché.

Il est conseillé de disposer ces récipients dans des bacs d'une matière quelconque qui pourront contenir de l'eau sur 2 ou 3 cm de hauteur pour piéger les parasites. La nourriture comprend une source carbonnée, des sels minéraux et des vitamines. L'objectif est d'apporter une alimentation adaptée à l'insecte et à sa flore intestinale cellulolytique.

La source carbonnée est apportée par de la cellulose de coton purifiée (voir analyse en Annexe). Elle peut

se présenter, à titre d'exemple, sous forme de 11 disques de 9 cm de diamètre et d'une épaisseur de 15/100 mm dans le cas des micro-termitières de 0,5 l (Ø 100 mm).

La source azotée et les autres éléments indispensables à la synthèse des protéines sont énumérés en Annexe. Le rapport carbone/azote est encore à l'étude (entre 100 et 1 000).

Le sable utilisé est de la qualité dite de Fontainebleau dont 97 % des particules sont constituées par des grains de silice cristallisée de taille comprise entre 75 et 300 µ. Ce sable est lavé à l'eau, puis séché en étuve à 100 °C. Les termites l'utilisent, en effet, pour la confection de leurs galeries.

La souche de termites étudiée est *Reticulitermes Santonensis* de Feytaud, provenant de la région de La Rochelle.

Lors de l'établissement de la première micro-termitière, il est conseillé de trier un à un les insectes sous loupe binoculaire, afin d'éliminer les individus parasités par des acariens. Les papiers sont imprégnés avec la solution nutritive, séchés à l'air ou en étuve, puis éventuellement stérilisés. Ils sont alors empilés dans les récipients sur le tiers de la hauteur de ces derniers et recouverts de sable (\*).

L'humidification a lieu la première fois avec la solution de vitamines, et ultérieurement avec de l'eau distillée seule. La quantité d'eau, le premier jour, est de 1 ml pour une microtermitière de 0,5 l, et de 10 ml pour celle de 5 l. Ces volumes d'eau sont volontairement faibles au démarrage pour ne pas gêner l'implantation des insectes.

Les termites sont alors introduits, ce même jour, à raison de 200 ouvriers, 20 nymphes bien développées et 5 soldats. La termitière est alors recouverte par une plaque transparente maintenue par un ruban adhésif, mais non étanche, pour éviter le développement de moisissures sur les papiers. On rajoute une quantité d'eau, légèrement inférieure à la quantité initiale, journalièrement pendant 4 à 5 jours. Ensuite, l'apport d'eau n'est que périodique, car l'humidité optimale se maintient du fait du stockage en cellule conditionnée.

L'apparition des couples royaux a lieu le 12/13<sup>e</sup> jour dans les conditions définies ci-dessus.

## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Bien que cette technique d'élevage ait déjà une année d'expérimentation, il est encore nécessaire d'étudier l'alimentation et la sensibilité des termites dans le temps vis-à-vis de diverses substances chimiques. Le rapport carbone/azote est à définir avec

précision en apportant l'azote nécessaire et sous une forme adaptée. En effet, la vitalité des sporocytopha-

(\*) (5 ml de sable entre chaque feuille soit 50 ml par microtermitière de 1/2 l)



Photo Ozanne.

*Rapport des volumes : Micro-termitière/élevage classique de laboratoire : 1/2 l. — 500 l. — 1/1 000.*

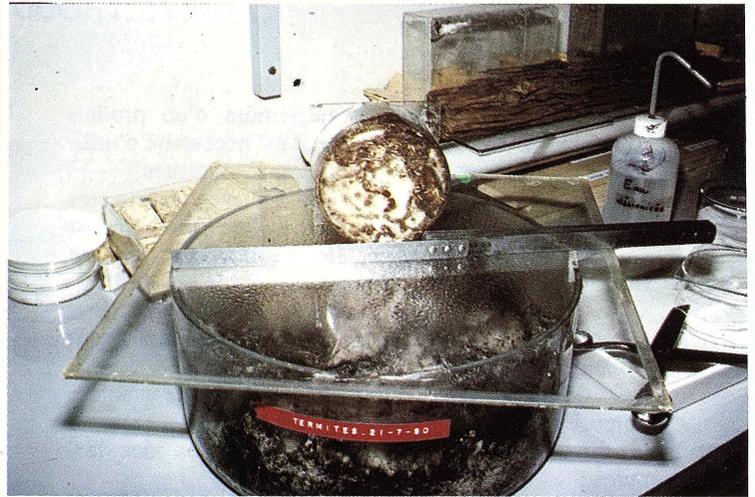


Photo Ozanne.

*Micro-termitière.*

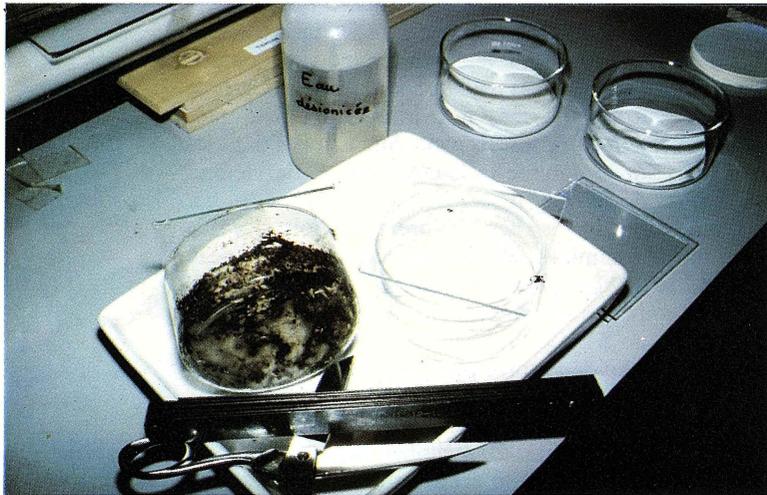


Photo Ozanne.

*Matériel nécessaire : cristalliseur de 100 mm de diamètre, plaque de verre, support cellulosique, eau, solution nutritive.*

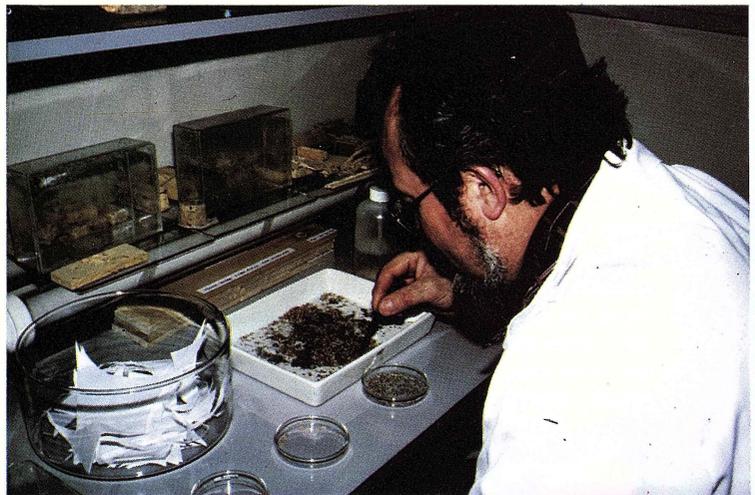


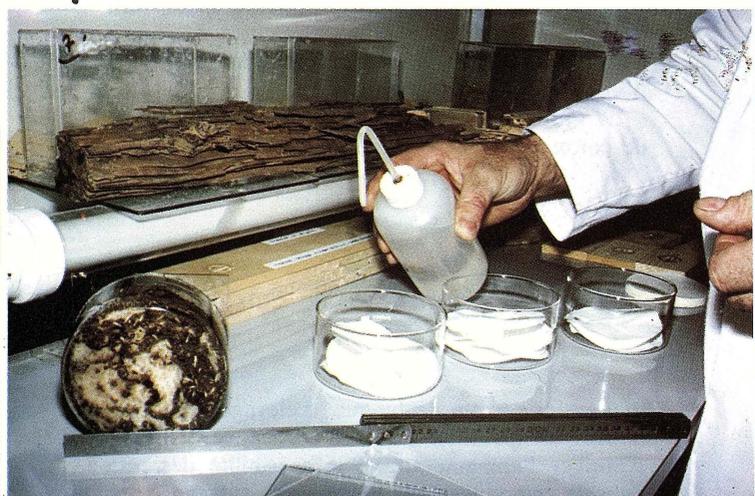
Photo Ozanne.

*Sélection d'un échantillon de population.*



Photo Ozanne.

*Préparation de 3 micro-termitières.*



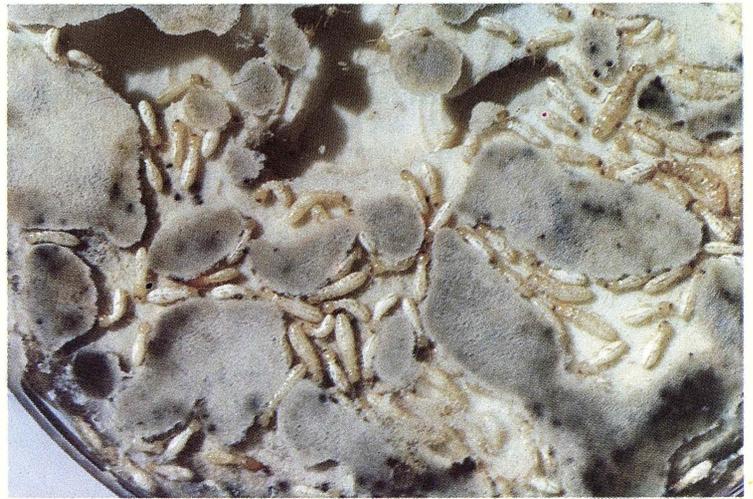
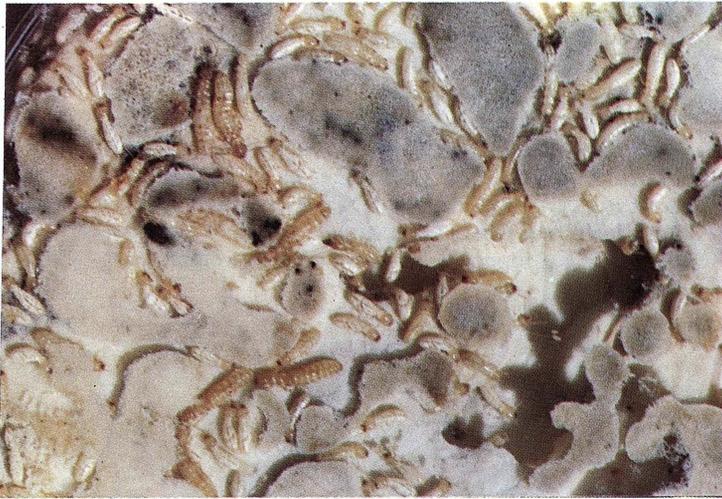


Photo Ozanne.

*Descriptif d'une micro-termitière — Détail des cheminements.*

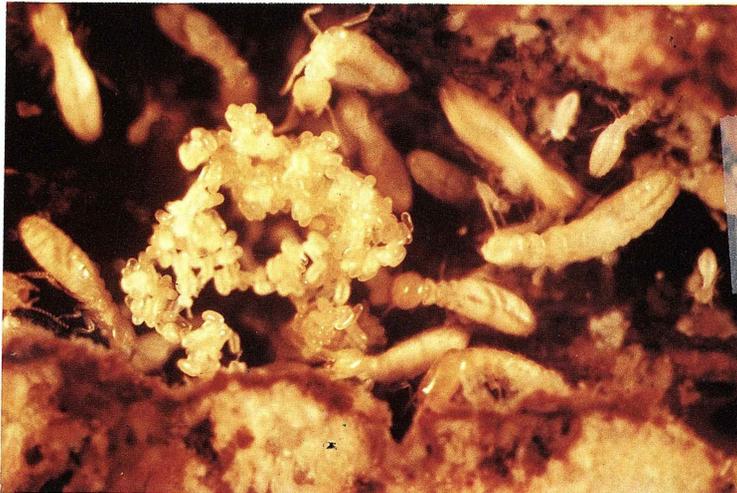


Photo Ozanne.

*Fond d'une micro-termitière examinée par transparence (× 2,3).*



Photo Ozanne.

*Fond d'une micro-termitière examinée par transparence (× 2,3).*

ges, cellulibrio, protozoaires est capitale au niveau de la synthèse des cellulases. C'est la raison pour laquelle la solution d'imprégnation a été choisie dans cette optique en s'inspirant des travaux de l'Institut Pasteur de Paris (MM. POCHON et JARJIEUX).

Le rapport carbone/azote a d'autre part été choisi pour se rapprocher de celui du bois. Nous avons choisi de l'azote minéral plus directement assimilable que les protéines, ce qui explique le choix d'un rapport minimum de 1 000. Il sera peut-être, néanmoins, nécessaire, par la suite, d'apporter des protéines afin d'éviter

des phénomènes de toxicité dans les zones plus anaérobies où la formation de nitrites est à craindre.

Chaque micro-termitière peut être utilisée en fin de consommation de la cellulose, mais ce choix n'est pas souhaitable, car le volume n'est plus suffisant pour cacher la colonie. Il est donc préférable de la recharger en feuilles de cellulose imprégnées au fur et à mesure des besoins. A titre d'exemple, 1 à 2 feuilles au bout de 3 à 4 semaines. Il sera nécessaire de définir la biomasse maximale par rapport à la nourriture et au volume de la termitière.

#### ANNEXE

*Cellulose* : à titre d'exemple  
Papiers filtres sans cendres - Durieux (PROLABO)  
Qualité III bleue  
Uniquement cellulose de coton  
Cendres : 0,01 % du papier

Composition des cendres en % :

Silice	25,75	Magnésie	11,36
Almine	8,20	Anhydride	
Acide titanique	1,00	sulfurique	6,50
Oxyde ferrique	5,30	Cuivre	0,80
Chaux	22,00	Soude	6,70

*Milieu nutritif pour l'imprégnation des papiers :*

Solutions de base

*Solution-mère saline (de Winogradsky) :*

Solution à pH 7-7,5

Stérilisée pendant 20 minutes à 110 °C.

PO <sub>4</sub> HKz	5 g
SO <sub>4</sub> Mg	2,5 g
CINa	2,5 g
(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> Fe <sub>2</sub>	0,05 g
Eau distillée	1.000 ml

« Techniques d'analyse en microbiologie du sol », par J. POCHON et P. TARDIEUX de l'Institut Pasteur.

*Composition du milieu d'imprégnation :*

Solution-mère saline de Winogradsky	50 ml
Solution d'oligo-éléments	1 ml
Nitrate d'ammonium NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ou une autre source azotée	0,5 g

Eau distillée q. s. p. 1.000 ml

Stérilisé pendant 20 minutes à 110 °C.

Ajouter alors 5 ml de la solution de vitamines.

*Solution de vitamines :*

Chlorhydrate de pyridoxine (vitamine B 6)	1 mg
Chlorhydrate de thiamine (vitamine B 1)	0,5 mg
Riboflavine (vitamine B 2)	0,5 mg
Acide nicotinique	0,5 mg
Biotine (vitamine II)	0,2 mg
Acide follique	0,2 mg
Cyanocobalamine (vitamine B 12)	0,05 mg
Acide pantothénique aminobenzoïque	0,5 mg
Acide pantothénique	0,5 mg
Eau distillée	1.000 ml

*A ne pas stériliser*

*Solution d'oligo-éléments :*

Stérilisée pendant 20 minutes à 110 °C.

Molybdate de potassium	0,05 g
Borate de sodium	0,05 g
*Perchlorure de fer	1 goutte
Nitrate de cobalt	0,05 g
Sulfate de cadmium	0,05 g
Sulfate de cuivre	0,05 g
Sulfate de zinc	0,05 g
Sulfate de manganèse	0,05 g
Eau distillée	1.000 ml

« Traité de microbiologie des sols », Applications agronomiques, par J. POCHON et H. de BARJAC de l'Institut Pasteur.