

VPLYV RODIČOVSKÉHO VEKU NA ZNÁŠKU MÚČIARA OBYČAJNÉHO *TENEBRIO MOLITOR* LINNAEUS 1758 (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)

Barbara Mangová¹ & Milan Kozánek²

¹Institute of Zoology, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, SK-84104, Bratislava, Slovakia
[mangova.barbara@gmail.com]

²Scientica, s.r.o., Hybešova 33, SK-83106, Bratislava, Slovakia [milan@scientica.sk]

KEY WORDS

Edible insect
Egg production
Incubation
Mass-rearing
Parental age
Tenebrio molitor

ABSTRACT

The effective period of egg production is one of the important factors to set up effective model for mass rearing of this species for feed and food purposes. The main objective was to define the relationship between parental age and egg production. Under laboratory conditions, females of this species produced in average 854.68 ± 207.45 (min.- 565.2; max.- 1257.6) eggs per female during its lifetime and in average 6.27 ± 0.48 (min. - 5.27 \pm 4.03; max. - 8.07 \pm 4.60 eggs) per female per day at constant temperature 28°C. The production of the eggs significantly decreased with female age ($p < 0.0001$). Up to 80 days age, the decrease of egg production did not exceed 50 % and the average production was 8.63 ± 1.32 eggs per female per day. Following our results, this period can be considered as the effective time of egg production. Larvae showed incubation periods of 5 to 10 days (average time was 7.42 ± 0.07 days). During 7- 8 days 91.44% of larvae were hatched.

ÚVOD

Entomofágia – spôsob získavania živín dôležitých pre človeka pri minimálnej investícii a zaťažovaní životného prostredia sa v poslednej dobe dostáva do povedomia i tak konzervatívnych krajín ako sú štáty Európy. Zatiaľ čo celosvetovo sa konzumuje okolo 1900 druhov hmyzu (van Huis et al. 2013) (Afrika, Stredná a Južná Amerika, Ázia či Austrália), v Európe je to len zlomok. Hmyz je možné legálne konzumovať vo Veľkej Británii, Francúzsku, Holandsku a od roku 2015 už i v Belgicku (Flanderstoday 2014), kde agentúra pre bezpečnosť potravín (Belgium's federal food safety agency) schválila zoznam 10 druhov hmyzu určených pre ľudskú spotrebu. Ide o druhy: *Acheta domesticus* Linnaeus, 1758, *Locusta migratoria migratorioides* (Reiche and Fairmaire 1849), *Zophobas atratus* f. *morio* (Fabricius, 1778), *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758, *Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797, *Galleria*

mellonella (Linnaeus, 1758), *Schistocerca gregaria* Forsskål, 1775, *Grylodes sigillatus* (Walker 1869), *Achroia grisella* (Fabricius, 1794), *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (www.afsca.be). Od roku 2015 sa snaží legalizovať konzumáciu týchto druhov hmyzu i Švajčiarsko.

Pri veľkochove hmyzu, ako na kŕmne účely tak i na účely ľudského konzumu je dôležité poznať bionómiu chovného druhu hmyzu. Naším modelovým druhom bol *T. molitor*. Hlavným cieľom našej práce bolo doplnenie a zosumarizovanie dostupných informácií týkajúcich sa veľkosti znášky v závislosti od veku jedincov rodičovskej kľetky. Dôvodom je určenie efektívnej doby kladenia ako jedného z hlavných parametrov pri tvorbe produkčného modelu pre masový chov jedlého a kŕmneho hmyzu. Čo sa týka bionómie tohto druhu, existujú publikácie týkajúce sa nielen dopadu rôznych faktorov ako teploty, potravy (Fraenkel 1950, Li et al.



Mangová B, Kozánek M, 2017. The impact of parental age on egg-laying - effective time of laying eggs *Tenebrio molitor* Linnaeus 1758 (Coleoptera, Tenebrionidae). Folia faunistica Slovaca 22: 57–62.

[in Slovak, with English abstract]

Received 16 November 2016

~ Accepted 23 January 2017

~ Published 31 July 2017



2016) či veku rodičovských jedincov (Fiore 1960, Ludwig & Fiore 1960, Morales-Ramos et al. 2012, Tracey 1958) na dĺžku a kvalitu vývinu, ale zamerané i na samotný vývin (Arendsen Hein 1923). Tieto sa však týkajú najmä larválneho štádia (Park et al. 2014), ktoré je za účelom konzumácie využívané najčastejšie.

MATERIÁL A METÓDY

Desať chovných skupín v zložení 5 samíc a 10 samcov rovnakého veku (čerstvo vyliahnuté panenské jedince) bolo chovaných v Petriho miskách ($\varnothing = 190$ mm) vyložených filtračným papierom pri teplote 28°C. Ako krmivo boli použité ovsené vločky, krmivo pre psov a čerstvá mrkva ako zdroj tekutín. Petriho miska ($\varnothing = 8,5$ mm) naplnená preosiatym riečnym pieskom (\varnothing častíc < 1 mm) bola použitá ako kladisko. Pre neobmedzený prístup jedincov ku kladisku boli do chovnej nádoby vložené kartónové odstrižky. Denne bola pomocou sita (\varnothing ôk 1 mm) odoberaná a hodnotená znáška. Tá bola následne premiestnená na inkubáciu do čistých Petriho misiek ($\varnothing = 8,5$ mm) s navlhčeným filtračným papierom. Celkovo bolo získaných 42,734 vajíčok. Znáška bola prepočítaná ako počet vajíčok na samicu za deň – *ovum / female / die* (o/f/d). Obdobie kladenia bolo pre lepšiu orientáciu rozdelené do 10 dňových intervalov. Údaje boli zanesené do matrice a analyzované v programe PAST (Paleontological Statistics Software) (Hammer et al. 2001). Pomocou PCA analýzy (Principal Component Analysis) a zhlukovej analýzy (Hierarchical Cluster Analysis) bolo vyhodnotené kladenie vo vzťahu ku dňu kladenia (k veku adultov) ako i vyjadrenie závislosti liahnutia lariev od doby inkubácie. T-test bol použitý na zistenie signifikantnosti rozdielov a) pre znášku s pribúdajúcim vekom dospelcov (každá

chovná skupina zvlášť), b) pre liahnivosť v konkrétnych dňoch (každá chovná skupina zvlášť). ANOVA a F-test boli použité pre zistenie preukaznosti rozdielu medzi skupinami navzájom. Bola vyhodnotená doba od vyliahnutia dospelých jedincov do prvého párenia a do prvej znášky, priemerná znáška na nádobu počas celej doby kladenia – *ovum / caveam* (o/c), priemerná znáška na samicu za deň – *ovum / female / die* (o/f/d) a priemerná znáška na samicu počas života *ovum / female / vitae* (o/f/v).

VÝSLEDKY

Prvé párenie prebehlo $3,30 \pm 0,46$ dňa a prvá znáška $4,40 \pm 0,49$ dňa od exklózie. Priemerná znáška na chovnú nádobu počas celej doby kladenia bola $4\ 273,40 \pm 1037,25$ o/c (min. – 2 826,00 o/c – 6.sk, max. – 6 288,00 o/c – 7.sk), na samicu za deň $6,27 \pm 0,48$ o/f/d (min. – 5,27 \pm 4,03 o/f/d – 2.sk., max. – 8,07 \pm 4,60 o/f/d – 7.sk.) a na samicu počas života $854,68 \pm 207,45$ o/f/v (min.- 565,2 o/f/v – 6.sk, max.- 1 257,60 o/f/v – 7.sk.). Podrobné údaje sú v nižšie uvedenej tabuľke (Tab.1).

Dĺžka ováriálneho štádia sa pohybovala v rozmedzí 5–10 dní (5. deň – 0,55 \pm 0,44 %, 6. deň – 4,78 \pm 2,10 %, 7. deň – 50,17 \pm 3,33 %, 8. deň – 41,28 \pm 3,43 %, 9. deň – 3,09 \pm 1,46 %, 10. deň – 0,13 \pm 0,08 % priemerne), pričom percentuálne hodnoty dosiahnuté v jednotlivých dňoch vykazovali vysoko preukazný rozdiel (ANOVA – F = 943,90, p = 3,10 E-51, F test – F = 605,40, df = 21,28, p = 3,48 E-22). Priemerná doba trvania tohto štádia bola $7,42 \pm 0,07$ dňa. Podrobné údaje sú uvedené v tabuľke (Tab.1). Všetky skupiny na základe PCA analýzy kladne korelovali so 7. a 8. dňom (Obr. 1), v priebehu ktorých sa vyliahlo priemerne 91,44 % lariev.

Tabuľka 1. Základné parametre chovnej nádoby.

Cav – 1.sk – 10.sk – označenie chovnej nádoby (skupiny rodičovských jedincov), **cd.** – prvý deň kopulácie, **kd.** – prvý deň kladenia, **eg.** – priemerný počet vajíčok na samicu za deň \pm odchýlka (o/f/d), **do.** – priemerná doba ováriálneho vývinu (dni), **oc.** – počet vajíčok na chovnú nádobu (o/c), **ov.** – priemerný počet vajíčok na samicu počas života (o/f/v), **t_o**, **p_o** – t a p hodnota signifikantnosti rozdielu v znáške (T-test).

Cav	1.sk	2.sk	3.sk	4.sk	5.sk	6.sk	7.sk	8.sk	9.sk	10.sk
cd.	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
kd.	5	5	5	4	5	4	4	4	4	4
eg.	6,38 $\pm 4,33$	5,27 $\pm 4,03$	5,34 $\pm 4,62$	5,61 $\pm 4,31$	7,50 $\pm 4,96$	6,52 $\pm 3,21$	8,07 $\pm 4,60$	6,62 $\pm 3,72$	6,09 $\pm 3,89$	6,31 $\pm 3,91$
do.	7,32	7,41	7,39	7,53	7,35	7,53	7,35	7,41	7,45	7,45
oc.	4688	4203	3631	3513	5939	2826	6288	4236	3794	3616
ov.	937,6	840,6	726,2	702,6	1187,8	565,2	1257,6	847,2	758,8	723,2
t_o	6,3323	5,6427	5,1868	6,0021	6,5426	6,5186	8,1750	8,1930	6,5625	8,1977
p_o	1,3448 E-05	3,6701 E-05	0,0001	6,1966 E-05	6,7774 E-06	0,0001	6,5894 E-07	4,0645 E-07	2,6802 E-05	5,1755 E-06

Bol zaznamenaný signifikantný rozdiel (po $< 0,01$) v znáškach všetkých skupín počas pribúdajúceho veku dospelcov (Tab. 1). Priemerná znáška klesala (Obr. 2), pričom najvyššia priemerná znáška ($11,02 \pm 1,58$ o/f/d) bola zaznamenaná počas prvých 10 dní a najnižšia počas posledných dní (161. -170. deň - $0,06 \pm 0,13$ o/f/d). Rozdiel medzi znáškami jednotlivých skupín nevykazoval preukazný rozdiel (ANOVA - $F = 1,959$, $p = 0,047$; F test - $F = 1,589$, $df = 65,120$, $p = 0,137$). Už od 11. dňa bolo možné pozorovať pokles v znáške (17,71 %). Táto do 80. dňa neprekročila 50 % (Tab. 2).

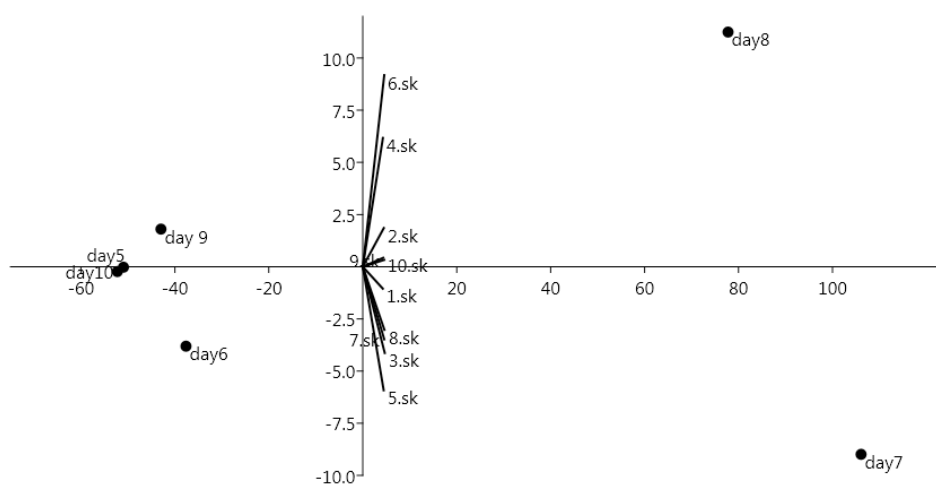
Pri použití PCA analýzy vykazovali všetky skupiny kladnú koreláciu so znáškou do 80. dňa veku adultov. Interval 81. - 90. dňa sa javil ako indiferentný (Obr. 3). Limit 80 dní možno považovať za hranicu efektívnej znášky, do tohto dňa bola priemerná znáška $8,63 \pm 1,32$ o/f/d. Negatívna korelácia skupín a vyššieho veku dospelcov poukazuje na trend znižujúcej sa znášky so zvyšujúcim sa vekom adultov. Podgraf MST v tomto prípade uľahčil kolmú projekciu intervalov na X os a vzájomné porovnanie intervalov medzi sebou. Rovnako z neho možno vyvodit' najvyššiu priemernú znášku v prvých desiatich dňoch ($11,02 \pm 1,58$ o/f/d), s postupným znižovaním až do 40. dňa znášky a so zvýšením medzi 41. a 60. dňom znášky ($9,32 \pm 1,11 - 9,24$

$\pm 1,83$ o/f/d). Následne znáška prudšie klesá (interval 61–70) ($7,12 \pm 2,00$ o/f/d) a udržiava si až do konca znášky klesajúci trend (Tab.2, Obr.3). Možno vyčítať vyrovnanú znášku medzi 11. a 60. dňom (priemerne $8,87 \pm 3,46$ o/f/d) s poklesom v intervale 31–40 ($7,91 \pm 1,67$ o/f/d) (Obr. 3).

Klastrová (zhluková) analýza rozdelila intervaly vo vzdialenosti - 20,00 do dvoch základných klastrov od 1 do 100 dní (na úrovni - 11,07) a od 101 dní vyššie (na úrovni - 7,47). Pričom znáška medzi 1. a 60. dňom vytvorila samostatný klaster (s výnimkou intervalu 31–40, kde bol i v predošlej analýze zaznamenaný pokles) vo vzdialenosti - 6,67. Do 60. dňa bola znáška $9,23 \pm 0,93$ o/f/d. Podľa tejto analýzy možno posunúť dobu efektívnej znášky až na 100 dní (Obr. 4). V tomto období sa priemerná znáška samičky za deň pohybuje okolo 7,58 o/f/d.

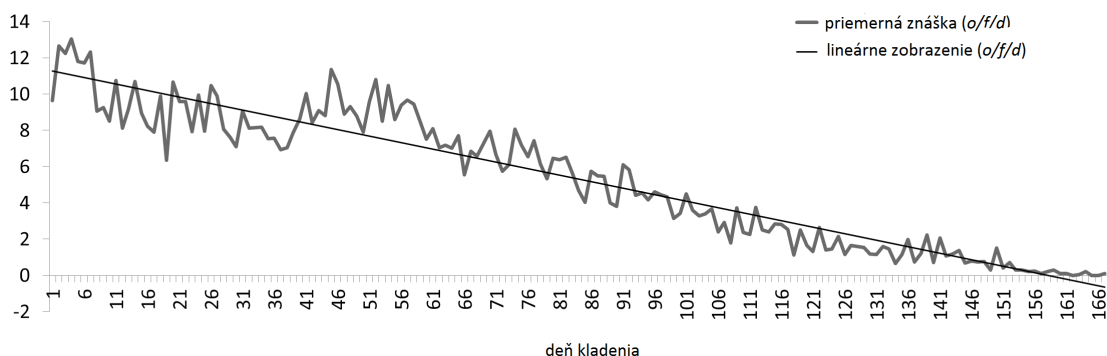
DISKUSIA

Larvy *T. molitor* celosvetovo využívajú chovatelia ako potravu pre zvieratá chované v zajatí (zoologické záhrady, hobby chov) (Jones et al. 1972, Bernard & Allen 1997, Finke 2002), ale v poslednej dobe sa ukazuje ako veľmi výhodné využit' ich i na kŕmne účely vo veľkochove rýb či hydiny (Ramos-Elorduy et al. 2002, Sánchez-Murosa et al. 2014, 2016).



Obrázok 1. Korelácia liahnutia lariev v jednotlivých skupinách s konkrétnym dňom liahnutia.

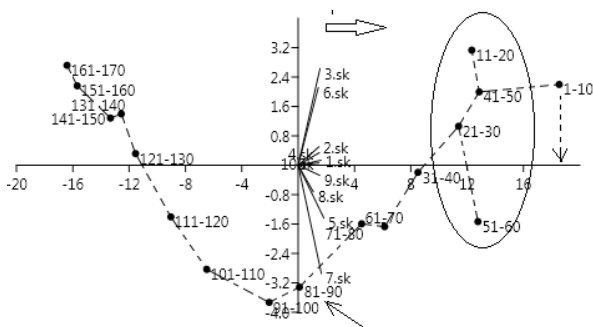
Biplot (PCA analýza), 1.sk - 10.sk - označenie chovných skupín, day5 - day10 - deň liahnutia lariev.



Obrázok 2. Závislosť veľkosti znášky (o/f/d) od veku adultov (odo dňa znášky).

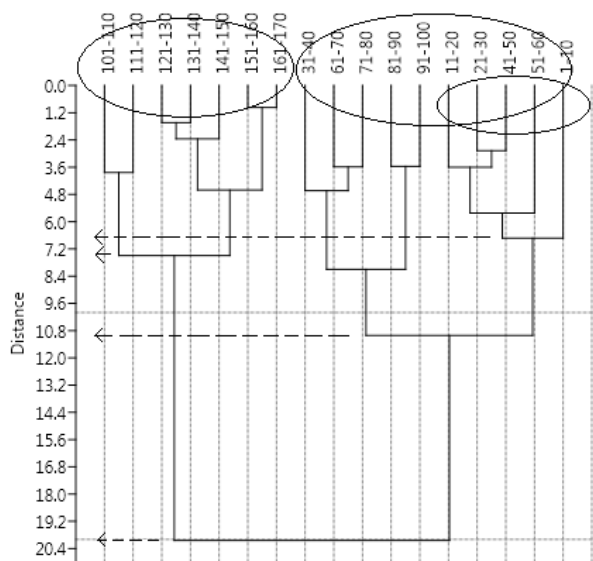
Navyše je tento hmyz vo viacerých krajinách využívaný ako súčasť (doplnok) potravy človeka vďaka svojim vysokým nutričným hodnotám, nízkym nárokom na chov (van Huis 2016, Shockley & Dosssey 2014) a nízkej miere environmentálneho zaťaženia prostredia v dôsledku jeho chovu v porovnaní s bežne chovanými hospodárskymi zvieratami (Oonincx et al. 2010, Wang et al. 2012). Pri masovej produkcii jedlého hmyzu je potrebné vytvoriť produkčný model, na základe ktorého je možné založiť čo najefektívnejší chov (vysoká kvalita a kvantita produkcie, nízka investícia a zachovaný blahobyt chovných jedincov). Základom pre tento model je poznanie bionómie chovného druhu hmyzu v človekom umelo vytvorených podmienkach.

Pri založení rodičovskej kliečky s čerstvo vyliahnutými dospelcami možno zaznamenať znášku po $4,40 \pm 0,49$ dňoch. Worden & Parker (2001)



Obrázok 3. Závislosť veľkosti znášky od veku adultov (odo dňa znášky).

Biplot (PCA analýza s MST - Minimum Spanning Tree), **1.sk – 10.sk** – označenie chovných skupín, **1-10...161-170** – interval kladenja (dni).



Obrázok 4. Efektivita znášky na základe inervalových zhlukov.

Klastrová analýza (Hierarchical Cluster Analysis) s využitím UPGMA algoritmu a Euklidovskej vzdialenosti, vytvorená na základe závislosti znášky od veku adultov. **1-10...161-170** – interval kladenja (dni).

Tabuľka 2. Závislosť veľkosti znášky (o/f/d) a jej úbytok (%) od veku adultov (odo dňa znášky).

interval – časový interval znášky (dni), **eg.** – priemerná znáška na samicu za deň (o/f/d), **ps.** – percentuálna strata znášky (%).

interval	eg.	ps.
1-10	11,02±1,58	-
11-20	9,07±1,46	-17,71
21-30	8,81±1,32	-20,05
31-40	7,91±1,67	-28,27
41-50	9,32±1,11	-15,48
51-60	9,24±1,83	-16,15
61-70	7,12±2,00	-35,43
71-80	6,56±2,19	-40,46
81-90	5,18±2,32	-53,01
91-100	4,50±2,42	-59,19
101-110	3,16±1,98	-71,30
111-120	2,44±1,76	-77,88
121-130	1,60±1,32	-85,46
131-140	1,28±1,18	-88,36
141-150	1,05±1,03	-90,51
151-160	0,29±0,33	-97,39
161-170	0,06±0,13	-99,42

sledovali vplyv jednorazového a opakovaného párenia samíc s jedným alebo viacerými samcami na produkciu potomstva. Samice páriace sa opakovane s viacerými samcami produkovali preukazne viac potomstva ako samice páriace sa opakovane s jedným samcom, poprípade páriace sa len jednokrát v nezávislosti na interakcii s viacerými samcami. V našich chovných podmienkach bol pomer ♀ : ♂ = 1 : 2, aby ani vo vyššom veku samíc, v prípade úhynu niektorých samcov, nebolo ich kladenie ovplyvnené nedostatkom samcov. Z uvedeného vyplýva, že nie je vhodné umelo znižovať počet samcov v chovnej skupine za účelom zníženia nákladov na chov.

Priemerná znáška na samicu za deň bola $6,27 \pm 0,48$ o/f/d (min. – $5,27 \pm 4,03$ o/f/d, max. – $8,07 \pm 4,60$ o/f/d) a na samicu počas života $854,68 \pm 207,45$ o/f/v (min. – $565,2$ o/f/v, max. – $1\,257,6$ o/f/v). Drnevich (2009) udáva viac ako 300 o/f/v. Znáška s pribúdajúcim vekom rodičov klesala. Najvyššia priemerná znáška ($11,02 \pm 1,58$ o/f/d) bola zaznamenaná počas prvých 10 dní a najnižšia počas posledných dní znášky (interval 161-170 – $0,06 \pm 0,13$ o/f/d). Už od 11. dňa bolo možné pozorovať stratu v znáške (17,71 %). Táto do 80. dňa neprekročila 50 %. Park et al. (2012) udávajú fekunditu $44,3 \pm 9,5$ až $51,3 \pm 12,9$ o/f počas prvých dvoch dní kladenja pri teplote 25 ± 5 °C a RH 65 ± 10 % v závislosti od druhu potravy. Ďalej uvádzajú, že počas prvých dvoch týždňov bolo znesených 51 % znášky, pričom

v nasledujúcich dňoch znáška klesala. Počet vajíčok sa zvyšoval (172,30; 191,20; 215,00) s narastajúcou váhou kukiel 0,12 g, 0,15 g, 0,18 g (tu neudáva časový interval kladenia ani počet samíc). Worden & Parker (2001) sledovali znášku len v prvých 19. dňoch kladenia a hodnotili ju na základe vyliahnutých lariev (larva / female / die – l/f/d, larva / female – l/f). Samice páriace sa jedenkrát s jedným samcom v intervale 0.–4. dňa vyprodukovali 11,72 l/f (2,93 l/f/d) v intervale 5.–9. dňa 14,84 l/f (3,71 l/f/d), v intervale 10.–14. dňa 7,03 l/f (1,76 l/f/d) a v intervale 15.–19. dňa 3,91 l/f (0,98 l/f/d). Samice páriace sa viackrát s jedným samcom v intervale 0.–4. dňa vyprodukovali 17,97 l/f (4,49 l/f/d), v intervale 5.–9. dňa 23,44 l/f (5,86 l/f/d), v intervale 10.–14. dňa 14,06 l/f (3,52 l/f/d) a v intervale 14.–19. dňa 7,81 l/f (1,95 l/f/d). Samice páriace sa viackrát s rôznymi samcami v intervale 0.–4. dňa vyprodukovali 24,22 l/f (6,05 l/f/d), v intervale 5.–9. dňa 30,86 l/f (7,71 l/f/d), v intervale 10.–14. dňa 17,58 l/f (4,39 l/f/d) a v intervale 14.–19. dňa 13,28 l/f (3,32 l/f/d). Vo všetkých prípadoch bola sledovaná klesajúca tendencia v znáške s pribúdajúcim vekom adultov. Tu treba rátať s vyššou znáškou z ohľadom na úspešnosť liahnutia, ktorá v tomto prípade nebola uvedená.

Zo štatistického hľadiska, všetky skupiny vykazovali kladnú koreláciu so znáškou do 80. dňa veku adultov. Pričom interval 81.–90. dňa sa javil ako indiferentný. Znáškové intervaly vytvorili klaster od 1 až do 100 dní. Limit 80 dní možno považovať za hranicu efektívnej znášky. V tomto období sa priemerná znáška samičky za deň pohybuje na úrovni $8,63 \pm 1,32$ o/f/d. Znáška bola vyrovnaná medzi 11. a 60. dňom (priemerne $8,87 \pm 3,46$ o/f/d), pričom bol vytvorený klaster intervalov so znáškou od 1.–60. dňa. Limit 60 dní možno považovať za hranicu najvyššej znášky ($9,23 \pm 0,93$ o/f/d).

Dĺžka ovariálneho štádia sa pohybovala v rozmedzí 5–10 dní (priemerne $7,42 \pm 0,07$ dní). Všetky skupiny kladne korelovali so 7. a 8. dňom v priebehu ktorých sa vyliahlo priemerne 91,44 % lariev. Park et al. (2014) uvádzajú inkubačnú dobu 7–8 dní (priemerne $7,47 \pm 0,74$ dňa) pri teplote 25 °C Drnewich (2009) 7 až 10 dní bez udania teploty. Makkar et al. (2014) 10–12 dní pri teplote 18–20 °C. Predĺženie inkubácie bolo v tomto prípade zapríčinené nízkou teplotou. Optimálna teplota pre vývin tohto druhu sa pohybuje v rozmedzí 25–30 °C (Arendsen Hein 1923, Ludwig 1956, Fiore 1960, Park et al. 2012, Morales ramos et al. 2015, Li et al. 2016).

Z vyššie uvedeného vyplýva, že vek rodičovských jedincov nepriamo úmerne vplýva na veľkosť znášky. V tomto smere uvedené výsledky korešpondujú s výsledkami všetkých autorov. Avšak konkrétne hodnoty týkajúce sa veľkosti znášky a doby, kedy bol zaznamenaný pokles v znáške sa často odlišujú. Toto je spôsobené odlišnou metodikou

chovu. Podmienky ako sú teplota, vlhkosť, potrava, počet jedincov v chovnej nádobe, usporiadanie chovnej nádoby (substrát kladiska, prístup ku kladisku), ale pravdepodobne i pomer pohlaví v chovnej nádobe majú veľký vplyv na produkciu potomstva. Do úvahy je potrebné brať i odlišnú metodiku zberu dát. Výsledky štúdie možno využiť pri veľkoprodukcii hmyzu. Sú dôležité najmä z ekonomického hľadiska. Pri dodržaní konkrétnych chovných podmienok je možné na ich základe stanoviť efektívnu životnosť rodičovských klieťok.

POĎAKOVANIE

Výskum bol financovaný projektom VEGA 2/0171/15: Hmyz ako alternatívny zdroj bielkovín.

LITERATÚRA

- Arendsen Hein S, 1923. Larvenarten von der Gattung *Tenebrio* und ihre Kultur (Col.). *Entomologische Mitteilungen*, 12: 121–159.
- Bernard JB & Allen ME, 1997. Feeding captive insectivorous animals: nutritional aspects of insects as food. *Nutrition Advisory Group Handbook*, pp. 1–7.
- Drnevich J, 2009. „How Do Beetles Reproduce?“ ASU – Ask A Biologist. Available: <http://askabiologist.asu.edu/explore/how-do-beetles-reproduce> [accessed Jan 26, 2017].
- Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FAFC), 2016. Placing on the market of insects and insect-based foods intended for human consumption. Available: <http://www.afsca.be/foodstuffs/insects/> [accessed Jul 26, 2017].
- Finke MD, 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21 (3): 269–285.
- Fiore C, 1960. Effects of Temperature and Parental Age on the Life Cycle of the Dark Mealworm, *Tenebrio obscurus* Fabricius. *Journal of the New York Entomological Society*, 68 (1): 27–35.
- Flanderstoday, 2014. Insects approved for human consumption. Available: <http://www.flanderstoday.eu/living/insects-approved-human-consumption> [accessed Jul 26, 2017]
- Fraenkel G, 1950. The Nutrition of the Mealworm, *Tenebrio Molitor* L. (*Tenebrionidae*, *Coleoptera*). *Physiological Zoology*, 23 (2): 92–108.
- Hammer Ø, Harper DAT & Ryan PD, 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1): 1–9. Available: https://www.researchgate.net/publication/259640226_PAST_Paleontological_Statistics_Software_Package_for_Education_and_Data_Analysis [accessed Jan 26, 2017].
- Jones LD, Cooper RW & Harding RS, 1972. Composition of mealworm *Tenebrio molitor* larvae. *The Journal of Zoo Animal Medicine*, 3 (4): 34–41.
- Li L, Stasiak M, Li L, Xie B, Fu Y, Gidzinski D, Dixon M & Liu H, 2016. Rearing *Tenebrio molitor* in BLS: Dietary fiber affects larval growth, development, and respiration characteristics. *Acta Astronautica*, 118: 130–136.

- Ludwig D, 1956. Effects of temperature and parental age on the life cycle of the mealworm, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera, Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 49 (1): 12–15.
- Ludwig D & Fiore C, 1960. Further Studies on the Relationship between Parental Age and the Life Cycle of the Mealworm, *Tenebrio Molitor*. *Annals of the Entomological Society of America*, 53 (5): 595–600.
- Makkar HPS, Tran G, Heuzé V & Ankers P, 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197: 1–33.
- Morales-Ramos JA, Kay S, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI, & Tedders WL, 2015. Morphometric Analysis of Instar Variation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108 (2): 146–159.
- Morales-Ramos JA, Rojas MG, Kay S, Shapiro-Ilan DI, & Tedders WL, 2012. Impact of Adult Weight, Density, and Age on Reproduction of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomological Science*, 47 (3): 208–220.
- Oonincx DGAB, van Itterbeeck J, Heetkamp MJW, van den Brand H, van Loon JJA & van Huis A, 2010. An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *Plos One*, 5 (12): e14445, 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0014445.
- Park JB, Choi WH, Kim SH, Jin HJ, Han YS, Lee YS & Kim NJ, 2014. Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae) in different instars. *International Journal of Industrial Entomology*, 28 (1): 5–9.
- Park YK, Choi YCh, Lee YB, Lee SH, Lee JS & Ho KS, 2012. Fecundity, Life span, Developmental periods and Pupal weight of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Sericultural and Entomological Science*, 50 (2): 126–132.
- Ramos-Elorduy J, González EA, Hernández AR & Pino JM, 2002. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to Recycle Organic Wastes and as Feed for Broiler Chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95 (1): 214–220.
- Sánchez-Murosa MJ, Barrosoa FG & Manzano-Agugliaro F, 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65: 16–27.
- Sánchez-Murosa MJ, de Haro C, Sanz A, Trenzado CE, Villareces S & Barroso FG, 2016. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquaculture Nutrition*, 22: 943–955.
- Shockley M & Dossey AT, 2014. Insects for Human Consumption. In: Morales-Ramos JA, Rojas MG & Shapiro-Ilan DI (Eds.): *Mass Production of Beneficial Organisms Invertebrates and Entomopathogens*. Chapter 18, pp. 617–652.
- Tracey KM, 1958. Effects of parental age on the life cycle of the mealworm, *Tenebrio molitor* Linnaeus. *Annals of the Entomological Society of America*, 51: 429–432.
- van Huis A, 2016. Edible insects are the future? *Proceedings of the Nutrition Society*, 75 (3): 294–305.
- van Huis A, van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G & Vantomme P, 2013. *Edible insects - Future prospects for food and feed security*. FAO Forestry Paper, 171 pp.
- Wang HC, Liao HY & Chen HL 2012. *Tenebrio* small-scale ecological farming feasibility study. *Advanced Materials Research*, 356–360: 267–270.
- Worden BD & Parker PG, 2001. Polyandry in grain beetles, *Tenebrio molitor*, leads to greater reproductive success: material or genetic benefits? *Behavioral Ecology*, 12 (6): 761–767.