

INFLUÊNCIA DE COMPRIMENTOS DE ONDA DA LUZ VISÍVEL NO COMPORTAMENTO DO INSETO *Tenebrio molitor* (Coleoptera)

K. Gomide* **, R. A. Bassani** e J. W. M. Bassani* **

*Departamento de Engenharia Biomédica/FEEC e **Centro de Engenharia Biomédica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

e-mail: ka.gomide@gmail.com

Resumo: Buscando refúgio, o inseto *Tenebrio molitor*, não se desloca aleatoriamente e se dirige preferencialmente para longe da luz branca (Br). A literatura mostra que a retina deste animal responde a luz vermelha (Vr) e verde (Vd), com intensidade de resposta muito maior para a última. Testou-se a hipótese que Vd seja mais repulsiva para a espécie. Grupos de 5 animais foram liberados em um compartimento de partida A iluminado com Br. Dois compartimentos, com orientação variável e iluminados internamente com Br, estavam disponíveis para refúgio. O número de animais em cada compartimento foi contado após 10 min. Análise vetorial indicou que os animais se movem preferencialmente para oeste (74,5 % geraram o vetor resultante). Para comparar os comprimentos de onda de luz, dois compartimentos iluminados com Vd e Vr e com orientação alternada (compartimento Vd ora orientados para leste, ora para oeste) foram utilizados. Grupos de 10 animais foram colocados em cada compartimento, e, após 5 min, contou-se o número de animais nos compartimentos. Análise de variância bifatorial revelou que, independentemente da orientação dos compartimentos, menos animais preferiram o compartimento com luz Vd (Vd-leste = $1,65 \pm 0,39$; Vd-oeste = $1,4 \pm 0,26$) do que o compartimento com luz Vr (Vr-leste = $8,55 \pm 0,28$; Vr-oeste = $8,35 \pm 0,39$; $p < 0,001$). Concluímos que a repulsão dos animais exercida pela luz Br se deve, pelo menos em parte, ao componente Vd.

Palavras-chave: *Tenebrio molitor*, desenvolvimento de método, comportamento.

Abstract: Seeking refuge, the insect *Tenebrio molitor* does not move randomly, but moves away from the white light (Br). Previous studies show that the retina of these animals responds more strongly to the green light (Vd) than to the red light (Vr). Our hypothesis was that Vd is repulsive to this insect. Groups of five animals were released at a start compartment A. Two compartments with variable orientation were available for refuge. All compartments were illuminated with Br. The number of animals in each compartment was counted 10 min after their release. Vector analysis indicated that animals move preferentially to west (74.5% of the animals generated a non-zero vector). Next, we assessed preference between two interconnected compartments, one illuminated with Vd, the other with Vr. The Vd side

was positioned toward east and west in alternated trials. Groups of 10 animals were released into each compartment and 5 min later, the number of animals in each compartment was counted. Two way analysis of variance showed that, independently of the compartment orientation, fewer animals chose the Vd compartment (Vd-east = 1.65 ± 0.39 ; Vd-west = 1.4 ± 0.26 out of 10 animals) than the Vr compartment (Vr-east = 8.55 ± 0.28 ; Vr-west = 8.35 ± 0.39) ($p < 0.001$). We conclude that animals move away from the Br, at least in part because of repulsion to Vd.

Keywords: *Tenebrio molitor*, method, behavior.

Introdução

O controle de infestações de estoques de alimentos é um problema complexo e ainda não resolvido, e é importante desenvolver métodos que não coloquem em risco o ambiente ou os consumidores do alimento, ou que promovam a extinção da espécie. O inseto *Tenebrio molitor*, Linnaeus, 1758, infesta locais de armazenamento de grãos [1, 2], com consequências desastrosas sob o ponto de vista econômico [3].

Em experimentos preliminares, confirmamos dados da literatura [4], mostrando que o *T. molitor* busca refúgio em locais escuros, fugindo da luz (Figura 1).

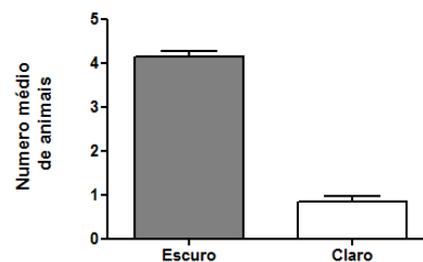


Figura 1: Número de animais que se deslocaram para compartimentos iluminados (claro) ou não (escuro), 10 min após serem colocados num compartimento de partida iluminado [5].

A retina do olho composto do *T. molitor* é sensível a comprimentos de onda na faixa de luz visível para humanos, com pico próximo do comprimento de onda da luz verde [4]. No presente trabalho, investigou-se se o animal apresenta comportamento compatível com

discriminação de comprimentos de onda no espectro visível. A hipótese testada foi que o comprimento de onda de luz que elicia a maior resposta da retina ($\sim 520\text{nm}$, [4]) é aversivo a este inseto.

Materiais e métodos

Todos os experimentos foram realizados entre 12:00 e 14:00 h em ambiente laboratorial com temperatura $\sim 25^\circ\text{C}$. Embora a legislação brasileira não requeira que experimentos com invertebrados sejam analisados por um comitê de ética, foram aplicados os critérios para minimizar o número de animais, bem como dor ou sofrimento.

Animais – Besouros adultos (10-30 dias) de ambos os sexos da espécie *T. molitor* foram mantidos em colônias no Centro de Engenharia Biomédica da UNICAMP em temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$), sob foto-período de 12 horas, alimentados com cenoura, batata, e farinha de trigo e de milho, e não foram manipulados antes dos experimentos. Diferentes populações de insetos foram utilizadas para cada experimento (total: 1140 animais).

Protocolo experimental – Dez animais foram liberados em um compartimento de partida (A; Figura 2a) iluminado com luz branca. Dois compartimentos (B1 e B2; Figura 2a) estavam disponíveis para refúgio, e eram iluminados ou não em seu interior com LEDs de luz branca (Br).

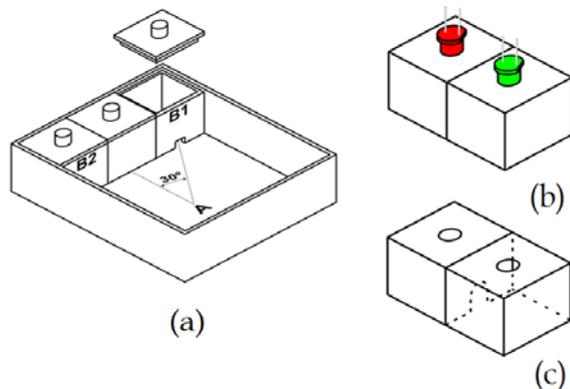


Figura 2: (a) Compartimentos experimentais utilizados; (b) compartimentos utilizados para teste de discriminação de comprimentos de onda de luz (ex., Vd vs. Vr); (c) vista interna do compartimento de refúgio.

Após 10 min de observação desde que os animais foram colocados no compartimento de partida, contou-se o número de animais em cada compartimento. O experimento foi repetido com 16 grupos (5 animais/grupo). Esperava-se que, na ausência de iluminação nos compartimentos B1 e B2 (experimento controle), o deslocamento dos animais fosse aleatório. Observou-se porém, que eles se deslocavam preferencialmente para um dos compartimentos. Neste ponto, foi levantada a hipótese de que os animais pudessem detectar o campo magnético da terra e escolher alguma direção preferencial.

Para testar esta hipótese, o campo experimental foi posicionado em 8 direções, de acordo com a leitura de uma bússola. Para se estabelecer a direção preferencial de deslocamento, o número de animais em cada compartimento A (de partida), B1 e B2 (de refúgio) foi obtido e associado ao módulo de um vetor com direção A-B1 ou A-B2, e ângulo de 30° com relação ao ponto de partida dos animais. A seguir, determinava-se o vetor resultante para aquela posição do campo experimental. Ao final de experimentos realizados nas 8 direções (16 grupos em cada direção), utilizou-se a composição de todos os vetores para a obtenção do vetor resultante final, cuja direção foi considerada como a direção preferencial de deslocamento dos animais.

Nos experimentos para discriminação de comprimentos de onda eletromagnética, dois compartimentos foram dispostos frontalmente (Figura 2b,c), e 10 animais foram colocados em cada compartimento. Cada compartimento recebeu um tipo de iluminação (Vd ou Vr) e contou-se o número de animais em cada compartimento após 5 min de observação. Neste caso, os experimentos foram realizados tanto com o compartimento iluminado com Vd voltado para leste, quanto na orientação oposta (Vd oeste e Vr leste) em ensaios alternados, para procurar neutralizar o viés introduzido pelo deslocamento em uma direção preferencial.

Os valores de corrente para os LEDs foram ajustados para potências equivalentes: $\sim 1,9\text{ V}$ para o LED vermelho e $\sim 2,8\text{ V}$ para os LEDs verde e branco, de acordo com informação dos fornecedores. Uma câmera tipo *webcam* foi instalada para monitorar o movimento dos animais e documentar os experimentos.

Análise estatística – Os dados estão apresentados como média e erro padrão. Para comparação, utilizou-se teste *t* de *Student* ou análise de variância bifatorial.

Resultados

Na Figura 3 está ilustrado o resultado da análise vetorial. Num total de 640 animais, 477 geraram vetores não nulos, ou seja, 74.5% dos insetos geraram o vetor resultante, que indicou que os animais se dirigiam preferencialmente para o oeste.

Estes resultados, que mostram que os insetos se movimentam em uma direção preferencial, apontam a necessidade de se levar em conta a direção do deslocamento do animal no teste dos comprimentos de onda da luz, para evitar interferências indesejadas. Por esta razão, os testes foram realizados com os compartimentos B1 e B2 iluminados com luz Vd e Vr em duas combinações, ao invés de se fixar a cor da iluminação em cada compartimento. Nesta condição, a análise bifatorial revelou, que independentemente da orientação do compartimento, os animais preferiram o compartimento iluminado com luz Vr àquele iluminado com luz Vd ($p < 0,001$; Figura 4).

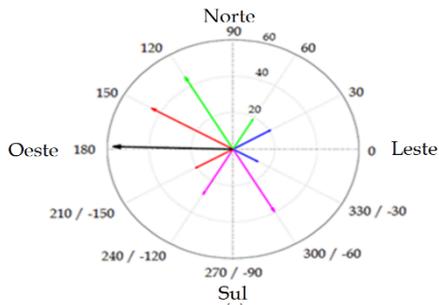


Figura 3: Interpretação vetorial dos resultados obtidos para 8 posicionamentos dos compartimentos experimentais. O vetor resultante, orientado para oeste, está indicado em preto.

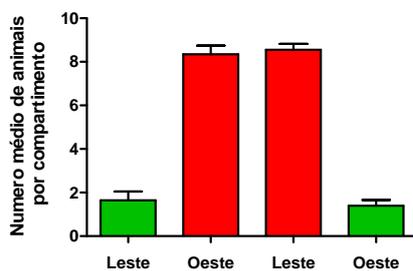


Figura 4: Preferência por compartimentos iluminados com luz Vr e Vd, posicionados em diferentes orientações.

Discussão

A busca por métodos físicos de proteção de alimentos é importante, tendo em vista os riscos para o consumidor decorrentes de tratamentos químicos para controles de pragas. O *T. molitor*, coleóptero que frequentemente infesta estoques de grãos [2, 6], é uma espécie que tem recebido atenção dos pesquisadores.

Dado que o comprimento de onda correspondente ao pico de sensibilidade da retina deste inseto do animal corresponde à faixa da luz Vd [4, 7], e que o animal foge da luz branca (composta), levantamos a hipótese que este comportamento estaria relacionado ao efeito aversivo do componente Vd. Para teste desta hipótese, analisamos a distribuição dos animais em compartimentos iluminados com diferentes cores, para os quais os animais eram permitidos migrar durante um período de observação. A premissa foi que esta distribuição refletiria preferência ou aversão dos animais por algum dos tipos de iluminação.

Ao fazer experimentos preliminares na ausência de iluminação, nos surpreendemos ao observar que a movimentação dos animais não era aleatória. Testamos, então, a orientação dos compartimentos como um possível fator de interferência nos resultados, e nossa análise indicou que os animais migram preferencialmente para a direção oeste. Este fator foi devidamente levado em conta nos experimentos subsequentes.

Nossa observação de que o *T. molitor* pode se orientar por meio de campos magnéticos está de acordo com relatos de que outros animais podem detectar estes

campos (por ex., vertebrados possuem magnetoreceptores contendo magnetita [8, 9]), muitas vezes utilizando esta informação sensorial para orientação espacial. Em publicação recente, Sheimann e Kreshchenko [10] mostraram que besouros *T. molitor*, ao serem liberados no campo experimental, demonstravam uma pequena desorientação antes de iniciar a busca pelo objetivo que poderia ser fugir da luz ou ir ao encontro de alimento. Este período de desorientação era maior se os animais fossem irradiados com um campo eletromagnético fraco ($100\mu\text{W}/\text{cm}^2$, 36 GHz), o que demonstra sua sensibilidade a esses campos.

Em um estudo prévio [11], animais desta mesma espécie, colocados num campo experimental circular, foram treinados a se dirigir a uma fonte de luz (comprimento de onda ≤ 500 nm), cuja orientação coincidia com aquela de um campo magnético aplicado. No entanto, quando apenas o sinal luminoso era apresentado, sem aplicação do campo, havia desvios na trajetória de até 90° . É possível que tais desvios pudessem ser causados pela influência do campo eletromagnético da terra, favorecendo uma direção preferencial de deslocamento, como demonstrado no presente trabalho. Esta possibilidade poderá ser melhor esclarecida em estudos futuros.

Observamos uma aparente aversão dos animais pela luz Vd: a maior parte dos animais permaneceu no compartimento iluminado com luz Vr ou moveu-se do compartimento iluminado luz Vd para aquele iluminado com luz Vr, mesmo quando o deslocamento foi em sentido contrário àquele preferencial (i. e., de oeste para leste). Não seria possível com os presentes dados afirmar que os animais não tenham alguma preferência pela luz Vr, mas deve-se notar que os animais fogem da luz Br que inclui a luz na faixa Vr. Como a resposta da retina à estimulação com luz Vr é muito pequena comparada àquela com Vd [7], se poderia supor que, no caso do experimento contrastando os dois comprimentos de onda de luz, a Vr tenha sido “interpretada” como mais próxima da ausência de cor (equivalente ao escuro).

É ainda prematuro afirmar que os dados apresentados poderiam ser usados para proteção de alimentos. No entanto, os presentes resultados fornecem subsídios para se explorar a iluminação verde como possível manobra para afugentar esta espécie de inseto.

Conclusão

Os presentes resultados indicam a possibilidade de utilização do *Tenebrio molitor* como um modelo animal para estudo dos chamados sensores magnéticos, ou magnetoreceptores, tendo em vista a capacidade dos animais de se moverem para oeste, mesmo quando se analisa distâncias muito pequenas. A hipótese inicial deste estudo (i.e., que a faixa de luz Vd evoca uma resposta aversiva em *T. molitor*) foi confirmada, uma vez que demonstramos que o animal foge de locais iluminados com luz Br e seu componente Vd.

Agradecimentos

À equipe da Área e de Pesquisa e Desenvolvimento do CEB/UNICAMP pelo suporte técnico e ao CNPq (bolsa PIBIC de KG, Grant Bolsa PQ-JWMB-302996/2011-7).

Referências

- [1] Matias G, Sosa ME, Donadel OJ, Giordano OS, Tonn CE. Effects of some sesquiterpenes on the stored-product insect *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Rev. Soc. Entomol. Argent. 2003; 62(3-4):17-26.
- [2] Vargas CHB, Almeida AA. Influência da temperatura no desenvolvimento de *Gnathocerus cornutus* (Coleoptera, Tenebrionidae). Acta Biológica Paranaense. 1992; 21: 149-159.
- [3] Santos AK, Faroni LRA, Guedes RNC, Santos JPS, Rozado AF. Nível de dano econômico de *Sitophilus zeamais* (M.) em trigo armazenado. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 2002; 6: 273-279.
- [4] Yinon U. The visual mechanisms of *Tenebrio molitor*: some aspects of the spectral response. Journal of Experimental Biology. 1970; 53: 221-229.
- [5] Gomide K, Bassani RA, Bassani JWM. Influência de comprimentos de onda da luz visível no comportamento do inseto *T. molitor*. XX Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP. 2012. Available from: <http://www.prp.rei.unicamp.br/pibic/congressos/xxc-ongresso/cdrom/pibic/cadernosderesumos/LivroIC.pdf>.
- [6] Wanto MM, Fisher ML. Sexual behaviour of *Tenebrio molitor* LINNAEUS, 1785 (Insecta, Coleoptera). Revista Brasileira de Zoociências. 2005; 7:143-164.
- [7] Kugel M. The time course of the eletroretinogram of compound eyes in insects and its dependence on special recording conditions. Journal of Experimental Biology. 1977; 71:1-6.
- [8] Diebel CE, Proksch R, Green CR, Neilson P, Walker MM. Magnetite defines a vertebrate magnetoreceptor. Nature. 2000. p. 229-302.
- [9] Lohmann KJ. Magnetic-field perception. Nature. 2010; 464:1140-1142.
- [10] Sheiman M, Kreshchenko, ND. Effects of weak eletromagnetic irradiation on various types of behavior in the menworm *Tenebrio molitor*. Neuroscience and behavioral physiology. 2010; 40 (8) : 863-868.
- [11] Vácha M, Drštková D, Půžová T. Tenebrio beetles use magnetic inclination compass. Journal of Comparative Physiology A. 2008; 194:853-859.