

Folhas de amoreira tratadas com vitamina e esterol e seus efeitos em parâmetros biológicos de *Bombyx mori* L.

Sergio Antonio De Bortoli¹, Roque Takahashi¹, José Ednilson Miranda², Luciane Sandrini Dias³,
Caroline Placidi De Bortoli⁴, Sergio Leandro Placidi De Bortoli^{*4}

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil

²Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, Brasil

³Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

⁴Faculdade São Luiz, Jaboticabal, SP, Brasil

*Autor correspondente, e-mail: bortoli@fcav.unesp.br

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito dos aditivos foliares Decanoato de nandrolona, Ácido ascórbico, Palmitato de retinol e Acetato de retinol, em diferentes concentrações, sobre alguns parâmetros biológicos do bicho da seda, *Bombyx mori*. Verificou-se que o ácido ascórbico e a nandrolona, ambos a 0,5%, proporcionam os melhores valores para o desenvolvimento corpóreo das lagartas de *B. mori*, valores estes que não correspondem a incrementos significativos na produção de seda; 1,0% palmitato de retinol afeta negativamente o desenvolvimento corpóreo das lagartas de *B. mori*.

Palavras-chave: bicho da seda, esteroide anabolizante, vitamina C, vitamina A, desenvolvimento larval, produção de seda

Effects of mulberry leaves treated with vitamin and esterol affect biological parameters of *Bombyx mori* L.

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of adding different concentrations of the leaf additives nandrolone decanoate, ascorbic acid, retinol palmitate and retinol acetate on biological parameters of *Bombyx mori* larvae. The results showed that nandrolone and ascorbic acid, both at 0.5%, provide the best value for the development of the larvae of *B. mori*, values which do not correspond to significant increases in cocoon and silk production; 1.0% of retinol palmitate show negative effect to larvae development.

Keywords: silkworm, anabolic steroid, vitamin C, vitamin A, larvae development, silk production

A quantidade e qualidade do alimento ingerido na fase larval afetam várias características biológicas dos insetos (Parra, 2009), além disso, em *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), o consumo, digestão e assimilação de alimento afetam também a produção de casulos (Naik & Delvi, 1987). Os nutrientes das folhas da amoreira, entre eles as vitaminas e os esteróis, satisfazem o mínimo necessário para o desenvolvimento do inseto, com seus teores podendo variar com as condições ambientais, uso de fertilizantes, variedades de amoreira e diferentes práticas agrícolas (Ito, 1978).

Bombyx mori requer, qualitativa e quantitativamente, diversos nutrientes, entre eles, açúcares, aminoácidos, proteínas, vitaminas, minerais e esteróis, sendo que, o ácido ascórbico (vitamina C) apresenta muitas funções no organismo animal, atuando como: antioxidante, protetor de DNA, de membranas lipídicas e de proteínas contra danos oxidativos (Kanafi et al., 2007). Sua atividade oxidativa diminui a quantidade de oxigênio reativo e a pressão oxidativa, resultando em aumento na absorção de nutrientes no intestino (Felton & Summers, 1993). A vitamina C tem efeito fagoestimulante em insetos (Dobzhenok, 1974), no aumento do peso larval, no comprimento dos fios de seda e na produção de casulos. Capellozza et al. (2005) relataram que a falta de ácido ascórbico afeta negativamente o crescimento e produção de casulos, enquanto Chauhan & Singh (1992) citaram que a vitamina tem, como característica, aumentar a capacidade de postura do inseto.

As vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K, para a alimentação de lagartas de *B. mori* tem sido pouco investigadas (Kanafi et al., 2007). A vitamina E, o α -tocoferol, tem efeito positivo na produção de ovos e no crescimento das lagartas (Ito, 1978), não provocando alteração significativa no consumo do inseto (Mosallanejad et al., 2002).

Quanto aos esteróis, embora tenha sido relatado por vários autores que o β -Sitosterol seja crucial ao desenvolvimento de *B. mori*, pouco se tem investigado sobre a ação de esteróis nos insetos. A necessidade de esterol para as lagartas de *B. mori* foi estudada por Ito & Arai

(1967) variando o tipo de esterol e combinando o nutriente com óleo de soja, objetivando aumentar a ingestão. A adição de esterol tem efeito positivo no crescimento, sendo β -sitosterol e estigmasterol mais efetivos que colesterol, provavelmente devido ao efeito inibidor de ingestão exercido pelo colesterol.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos aditivos foliares decanoato de nandrolona, ácido ascórbico, palmitato de retinol e acetato de retinol, sobre alguns parâmetros biológicos de *B. mori*, e para tanto foram realizados dois ensaios com lagartas de *B. mori* (após 3º ínstar), sendo no primeiro, alimentadas com discos foliares contendo os tratamentos (controle; decanoato de nandrolona a 0,5%; decanoato de nandrolona a 1,0%; ácido ascórbico (vit. C) a 0,5%; ácido ascórbico (vit. C) a 1,0%; palmitato de retinol (vit. A) a 0,5%; palmitato de retinol (vit. A) a 1,0%; acetato de retinol (vit. A) a 0,5%; acetato de retinol (vit. A) a 1,0%. No segundo empregou-se controle; decanoato de nandrolona a 0,5%; ácido ascórbico a 0,5%; palmitado de retinol a 0,5%; e acetato de retinol a 1,0%. Foi utilizado o delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC), composto por 9 tratamentos e 5 repetições no primeiro ensaio e 5 tratamentos e 5 repetições no segundo, com um total de 30 lagartas por repetição acondicionadas em recipientes plástico com tampa, medindo 30 cm x 15 cm, com as lagartas alimentadas 5 vezes ao dia.

Foram avaliados: comprimento das lagartas; o diâmetro do tórax (mesotórax) e o diâmetro do abdome. As medições foram realizadas no primeiro e último dia do 5º ínstar. O peso foi determinado no início e no final do 5º ínstar (lagartas) e 10 dias após o início do encasulamento (casulo). Também avaliou-se (ensaio 2) o peso do casulo e o teor líquido de seda, sendo que na avaliação do peso da glândula sericígena foram utilizadas 15 lagartas (3 por repetição).

Ao final do 5º ínstar foram colocados os bosques de plástico tipo "taturana", sobre cada parcela, para que as lagartas pudessem subir para o processo de confecção dos casulos, efetuando-se a colheita e a contagem individual

por parcela (8 dias após colocados os bosques). Para a determinação do peso dos casulos foram coletados, ao acaso, 30 casulos de cada parcela. O Teor de seda líquida foi determinado com 30 casulos, de acordo com Takahashi et al. (2001), o mesmo ocorrendo com a porcentagem de seda líquida.

As análises foram realizadas no programa Estat; quando houve efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

O aditivo foliar promoveu aumento

significativo do ganho de peso com a utilização de nandrolona 0,5%, ácido ascórbico 0,5% e acetato de retinol 1,0%, enquanto o acetato de retinol 0,5% provocou redução significativa no parâmetro em análise, abaixo do encontrado para o controle (Tabela 1). Estes resultados corroboram, quanto ao ácido ascórbico, com os relatados por Gomma et al. (1977) e Miranda et al. (1998), também com *B. mori*. Por outro lado, Etebari et al (2004) obtiveram resultados negativos para peso larval quando forneceram aos insetos folhas tratadas com vitamina C a 3%.

Tabela 1. Parâmetros morfológicos de lagartas de 5º instar de *Bombyx mori* alimentadas com folhas de amoreira, após 3º instar, contendo diferentes aditivos (N=30).

Tratamentos	Ganho de peso (g)	Comprimento do corpo (cm)	Diâmetro do tórax (cm)	Diâmetro do abdome (cm)
Controle	2,96 de	8,84 ab	1,11 bc	0,91 abc
Nandrolona - 0,5%	3,54 ab	9,16 a	1,18 ab	0,94 a
Nandrolona - 1,0%	3,29 abcd	8,96 a	1,20 a	0,93 ab
Ácido ascórbico - 0,5%	3,62 a	9,31 a	1,17 ab	0,88 abc
Ácido ascórbico - 1,0%	3,23 bcde	8,81 ab	1,16 ab	0,87 bc
Palmitato de retinol - 0,5%	3,17 cde	8,92 a	1,04 cd	0,85 cd
Palmitato de retinol - 1,0%	1,99 f	7,94 c	0,98 d	0,79 d
Acetato de retinol - 0,5%	2,93 e	8,21 bc	1,13 ab	0,89 abc
Acetato de retinol - 1,0%	3,32 abc	9,04 a	1,13 ab	0,89 abc
F	45,19 **	9,69 **	17,46 **	8,86 **
C.V.(%)	5,11	3,63	3,31	3,89
DMS (Tukey)	0,33	0,66	0,08	0,0718

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (quando comparadas dentro da coluna), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A taxa de crescimento larval também foi estudada por Ito (1978), concluindo que o aumento no peso corpóreo em *B. mori* ocorre em função da qualidade do alimento ingerido, sendo um dos fatores de estimulação a vitamina C. Com isso, acredita-se também que o ácido ascórbico seja, nesse caso, um estimulante para a alimentação, como citado por Dobzhenok (1974), Singh & Reddy (1988) e El-Karakasy (1990), uma vez que com folhas tratadas com ácido ascórbico (0,5% e 1,0%) a sobra de alimento foi visualmente menor. Quanto à nandrolona, pode-se inferir, analogamente à sua atuação em animais superiores, onde o produto é utilizado como fagoestimulante e para aumentar a massa muscular, podendo provocar, com isso, um aumento na massa corpórea da lagarta (Noda et al., 1994; Jerome et al., 1997; Spinosa et al., 2002).

Nenhum dos tratamentos superou a testemunha quanto ao crescimento da lagarta, com destaque negativo para palmitato de

retinol (1,0%) (Tabela 1), enquanto que para o crescimento do tórax e do abdome (Tabela 1), os aditivos comportaram-se diferentemente, sendo a nandrolona e o ácido ascórbico, ambos a 1,0% e 0,5%, aqueles que se destacaram positivamente, enquanto o palmitato de retinol 1,0% promoveu o menor crescimento do inseto em ambos os parâmetros.

Os resultados da Tabela 2 mostram que tanto o peso médio de casulos, quanto o teor líquido de seda e a taxa de encapsulamento, não foram significativamente afetados pelos produtos e doses, sendo eles semelhantes aos valores do controle, com exceção ao palmitato de retinol (1,0%) que provocou redução significativa (taxa de encapsulamento). Estes resultados são discordantes dos encontrados por Babu et al. (1992) que verificaram o efeito positivo da adição de ácido ascórbico nas folhas, na concentração de 1,5%, quanto ao peso de casulos e comprimento dos fios de seda produzida.

Tabela 2. Peso médio de casulos (g), teor líquido de seda (%) e taxa de encapsulamento (%) de *Bombyx mori* com lagartas alimentadas com folhas de amoreira, após 3º ínstar, contendo diferentes aditivos (N=30).

Tratamentos	Peso médio de casulos	Teor líquido de seda	Taxa de encapsulamento
Controle	1,12 a	15,07 ab	54,8 a
Nandrolona - 0,5%	1,12 a	15,38 ab	54,0 a
Nandrolona - 1,0%	0,90 a	14,36 b	52,4 a
Ácido ascórbico - 0,5%	1,14 a	15,86 ab	58,0 a
Ácido ascórbico - 1,0%	1,10 a	15,97 a	58,0 a
Palmitato de retinol - 0,5%	1,07 a	15,89 ab	53,6 a
Palmitato de retinol - 1,0%	0,95 a	16,08 a	26,8 b
Acetato de retinol - 0,5%	1,01 a	15,39 ab	46,4 a
Acetato de retinol - 1,0%	1,05 a	16,44 a	42,8 a
F	1,28 ^{ns}	3,34 ^{**}	9,01 ^{**}
C.V.(%)	15,61	4,90	14,89
DMS (Tukey)	0,34	1,60	15,43

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (quando comparadas dentro da coluna), pelo teste de Tukey (p<0,05).

De modo geral destaca-se a nandrolona (0,5%) e o ácido ascórbico (0,5%) quanto aos parâmetros corpóreos da lagarta, o que não se reproduziu em benefício nos parâmetros de produção de seda. Por outro lado, o palmitato de retinol (1,0%) destacou-se negativamente, tanto para os parâmetros corpóreos das lagartas quanto aos de produção de seda.

No ensaio 2, o peso médio de casulo e o teor líquido de seda (Tabela 3) mostraram resultados semelhantes entre os tratamentos. Em relação ao peso médio da glândula sericígena também não houve diferença significativa entre aditivos e controle, indicando a não influência neste parâmetro de produção do inseto.

Tabela 3. Peso médio de casulo (g), teor líquido de seda (%) e peso médio da glândula sericígena (g) de *Bombyx mori* com lagartas alimentadas, após 3º ínstar, com folhas de amoreira contendo diferentes aditivos (N=30; N₁=15).

Tratamentos	Peso médio de casulo	Teor líquido de seda	Peso médio da glândula sericígena ¹
Controle	0,97 a	17,19 ab	0,80 a
Nandrolona-0,5%	0,96 a	16,13 b	0,92 a
Ácido ascórbico-0,5%	0,93 a	16,02 b	0,89 a
Palmitato de retinol-0,5%	0,96 a	18,16 a	0,77 a
Acetato de retinol-1,0%	0,96 a	17,70 a	0,91 a
F	0,30 ^{ns}	6,94 ^{**}	3,42 ^{ns}
C.V.(%)	6,86	5,16	15,61
DMS (Tukey)	0,11	1,49	0,15

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (quando comparadas dentro da coluna), pelo teste de Tukey (p<0,05).

Referências

Babu, M., Swamy, M.T., Rao, P.K., Rao, M.S. 1992. Effect of ascorbic acid-enriched mulberry leaves on rearing of *Bombyx mori* L. *Indian Journal of Sericulture* 31: 111-114.

Capellozza, L., Capellozza, S., Saviane, S., Sbrenna, G. 2005. Artificial diet rearing system for silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae): effect of vitamin C deprivation on larval growth and cocoon production. *Applied Entomology and Zoology* 40: 405-412.

Chauhan, T.P.S., Singh, K. 1992. Studies on the effect of ascorbic acid (vitamin C) on the fecundity in the mulberry silkworm (*Bombyx mori*

L.). *Sericologia* 32: 567-577.

Dobzhenok, N.V. 1974. The effect of ascorbic acid on the physiological condition of the codling moth and its resistance to fungus and bacterial infection. *Zakhist Roslin* 19: 3-7.

El-karaksy, I.A., Idriss, M. 1990. Ascorbic acid enhances the silk yield of the mulberry silkworm *Bombyx mori* L. *Journal of Applied Entomology* 109: 81-86.

Etebari, K., Ebadi, R., Matindoost, L. 2004. Effect of feeding mulberry's enriched leaves with ascorbic acid on some biological, biochemical and economical characteristics of silkworm

- Bombyx mori* L. *International Journal of Industrial Entomology* 8: 81-87.
- Felton, G.W., Summers, C.B. 1993. Potencial role of ascorbic oxidase as a plant defense protein against insect herbivory. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1553-1593.
- Gomma, A.A., El-Shaaraway, M.F., Salam, Y.S., Rizk, M.A. 1977. Effect of dietary constituents on the biology of silkworm, *Bombyx mori* L. II. Vitamins. *Zeitschrift fur angewandte Zoologie* 64: 231-240.
- Ito, T. 1978. Postembryonic development of silkworm - Physiology. In: Tazima, Y. (ed.) *The silkworm: an important laboratory tool*. Kodansha Ltda, Tokio, Japão. p.40-47.
- Ito, T., Arai, N. 1967. Nutritive effects of alanine, cystine, serina and tyrosine on the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology* 13: p.1813-1824.
- Jerome, C.P., Power, R.A., Obasanjo, I.O., Register, T.C., Guidry, M., Carlson, C.S., Weaver, D.S. 1997. The androgenic anabolic steroid nandrolone decanoate prevents osteopenia and inhibits bone turnover in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Bone* 20: 355-364.
- Kanaf, R.R., Ebadi, R., Mirhosseini, S.Z., Seidavi, A.R., Zolfaghari, M., Etebari, K. 2007. A review on nutritive effect of mulberry leaves enrichment with vitamins on economic traits and biological parameters of silkworm *Bombyx mori* L. *Invertebrate Survival Journal* 4: 86-91.
- Miranda, J.E., Takahashi, R., Silva, A.F. da. 1998. Suplementação de ácido ascórbico de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Revista de Agricultura* 73: 258-264.
- Mosallanejad, H., Bagheri Zonus, E., Nouzari, J., Talebi, M. 2002. Effect of feeding the first to third instar larvae of silkworm (*Bombyx mori*) with mulberry leaves enriched with vitamin E on some reproductive characteristics. In: *15th Iranian Plant Protection Congress. Proceeding...* Kermanshah, Iran. p.167.
- Naik, R.P., Delvi, M.R. 1987. Food utilization in different races of silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Sericologia* 23: 391-397.
- Noda, K., Chang, H.P., Takahashi, I., Kinoshita, Z., Kawamoto, T. 1994. Effects of the anabolic steroids nandrolone phenylpropionate on craniofacial growth in rats. *Journal of Morphology* 220: 25-33.
- Parra, J.R.P. 2009. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: Panizzi, A.R., Parra, J.R.P. (eds.). *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas*. Embrapa, Brasília, Brasil. p.91-174.
- Singh, T.V.K., Reddy, G.P.V. 1988. Feeding behaviour of castor semilooper, *Achoea janata* Linn. to sterols, ascorbic acid and castor leaves. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 50: 530-532.
- Spinosa, H.S., Gorniak, S.L., Bernardi, M.M. 2002. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. 646p.
- Takahashi, R., Takahashi, K.M., Takahashi, L.S. 2001. *Sericicultura: uma promissora exploração agropecuária*. Editora Funep, Jaboticabal, Brasil. 126p.