

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E PRODUTIVA DO BICHO-DA-SEDA (*BOMBYX MORI* L.)  
ALIMENTADO COM FOLHAS DE AMOREIRA PULVERIZADAS  
COM EXTRATO DE *MIRABILIS JALAPA*

**A.J. Porto<sup>1</sup>, F. Okamoto<sup>1</sup>, A.A. Ikuno<sup>2</sup>, VC.A. Ferreira<sup>2</sup>, L.F.F. Margatho<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Oeste, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Gália, Rod. Eduardo Dias de Castro, km 15, CEP 17450 000, Gália, São Paulo, SP, Brasil.  
E-mail: updgalia@aptaregional.sp.gov.br

RESUMO

O presente estudo foi realizado na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Gália, Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Oeste, em 2004, com o objetivo de avaliar a biologia e produção do bicho-da-seda quando exposto ao extrato de *Mirabilis jalapa* (família: Nyctaginaceae). Esse trabalho foi baseado em estudos prévios, em condições de laboratório, que mostraram a ação do extrato aquoso de *Mirabilis jalapa*, na concentração de 10%, sobre o controle do vírus da poliedrose (NPVBm), conferindo 100% de proteção ao inseto. Em condições de criação comercial, o extrato foi empregado nas diferentes fases larvais do inseto. Tanto em condições de laboratório como em condições de criação comercial o extrato não causou alterações na biologia e produção do bicho-da-seda, quando comparado com grupos não tratados. Embora os insetos estivessem infectados com NPVBm, não foram observados sintomas de infecção, sugerindo que a população viral, apesar de presente, foi mantida em níveis reduzidos não afetando o desempenho produtivo. Não foi observada uma ação anticontaminante do extrato contra outros patógenos oportunistas, uma vez que foram boas as condições sanitárias de criação, ocorrendo poucas mortes, provavelmente relacionadas mais com fatores naturais do que com a ocorrência de doenças.

PALAVRAS-CHAVE: Anticcontaminantes, extratos vegetais, inibidores naturais, biomoléculas, bicho-da-seda, *Bombyx mori* L.

ABSTRACT

BIOLOGICAL AND PRODUCTIVITY EVALUATION OF SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) FED WITH MULBERRY LEAVES TREATED WITH *MIRABILIS JALAPA* EXTRACTS. The present study was conducted at the Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Gália, Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Oeste, in 2004 with the aim to evaluate the biology and production of silkworms when exposed to *Mirabilis jalapa* extracts (Family: Nyctaginaceae). This work was based on previous studies in laboratory conditions that showed that the aqueous extract of *Mirabilis jalapa* at 10% of concentration provided a 100% of protection for the insect against infection by polyhedrose virus (BmNPV). In commercial rearing conditions, the extract was used in different larval stages. Both in laboratory conditions as well as in commercial rearing the extract did not cause decrease effects in the biology and production of silkworms when compared with nontreated groups. Although the insects were infected by BmNPV, there were not observed symptoms of the infection, suggesting that the viral population, although present, was maintained at reduced levels, not causing a decrease of productivity performance. There was not observed an anticontaminant action of the extract against other opportunist pathogens since the rearing sanitary conditions were good, there occurring a few deaths probably related more with natural factors than to the occurrence of diseases.

KEY WORDS: Anticcontaminant, vegetal extracts, natural inhibitors, biomolecules, silkworm, *Bombyx mori* L.

<sup>2</sup>Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Oeste, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bauru, Bauru, SP, Brasil.

## INTRODUÇÃO

Na criação de insetos, seja ela em áreas restritas de um laboratório ou em produções comerciais, existe grande necessidade de pesquisas voltadas ao estudo de produtos anticontaminantes, destinados ao controle de leveduras, fungos, bactérias, vírus e protozoários, sendo de extrema importância para o sucesso da atividade, tanto a geração como a disponibilização desse conhecimento. Uma vez que em criações massais a dispersão de microrganismos é bastante facilitada, chegando a dizimar populações, uma das formas de diminuir esse risco é manter em níveis reduzidos a população de microrganismos causadores de doenças (PARRA, 2001).

Em sericultura, o controle de doenças estabelecidas é uma tarefa difícil e praticamente inviável economicamente, portanto, a adoção de medidas preventivas é condição primordial, enfatizada em várias publicações (OKINO, 1982; FONSECA & FONSECA, 1988; TINOCO *et al.*, 2000). Esta preocupação é justificada pelas características próprias da atividade, que contribuem para a incidência de contaminações e que dificultam o controle de entomopatógenos no ambiente. Entre essas características destaca-se a grande concentração de lagartas em ambiente fechado, o ciclo biológico curto que limita o tempo de combate à doença, o contato direto com funcionários, as condições de temperatura e umidade relativamente mais elevadas, o pouco controle sobre a contaminação dos ramos de amoreira trazidos do campo, a grande produção de resíduos orgânicos nas sirgarias, a rusticidade das sirgarias que dificulta uma completa desinfecção e a característica própria da atividade de aglomerar grande número de sirgarias em uma única região.

A pouca disponibilidade de desinfetantes e outros produtos que não sejam tóxicos às lagartas é outro fator a ser considerado. Os desinfetantes químicos de uso em Sericultura apresentam restrições, em virtude do risco de intoxicação das lagartas, limitando bastante as opções de produtos disponíveis no mercado. Deve-se considerar ainda que um mesmo produto, quando utilizado sistematicamente, por longo período, pode apresentar ineficácia no combate a determinados grupos de entomopatógenos, pelo surgimento de resistência a um ou mais princípios ativos ou ainda por aumento da susceptibilidade do inseto a infecções (SURRENDA & SURRENDA, 1999). Portanto é necessário, nas atividades onde haja uso constante de anticontaminantes, o rodízio periódico do princípio ativo.

Estudos têm sido conduzidos com o objetivo de avaliar a eficiência de diversos produtos, de forma a ampliar as opções para controle de doenças na sericultura (ABREU *et al.*, 1961; ABREU *et al.*, 1962; JAWALE & TAYADE, 1987; BAIG *et al.*, 1988; BYRAREDDY *et al.*, 1991; PORTO & OKAMOTO, 2000). Novas alternativas vêm sen-

do descobertas e testadas, destacando-se principalmente os extratos vegetais, que apresentam inibidores naturais para determinados microrganismos. NORONHA *et al.* (1996) estudaram inibidores de infecção viral extraídos de folhas de 11 espécies vegetais, da ordem Caryophyllales, testados em plantas hospedeiras com reação local e/ou sistêmica a diferentes vírus.

Conforme BOLOGNESI *et al.* (2002), o extrato de *Mirabilis jalapa* tem uma proteína com potente ação antiviral sobre o ribossomo. Esta planta, da família Nyctaginaceae é rica em compostos ativos incluindo triterpenos, proteínas, flavonóides, alcalóides e esteróides, com destaque para o grupo protéico chamado *mirabilis antiviral proteins* (MAPs), o qual tem mostrado específica ação antiviral e antifúngica (TROPICAL PLANT DATABASE, 2004).

Considerando que lagartas de *Bombyx mori* L. geralmente rejeitam folhas de amoreira quando há presença de odores ou contaminantes e que grande parte das intoxicações ocorrem por via oral, neste trabalho foi feito um estudo piloto, em condições de laboratório, para avaliar a efetividade de extrato de *M. jalapa* contra nucleopoliedrovírus (NPVBm), em insetos infectados experimentalmente. Os resultados obtidos serviram como referência para avaliação, em condições de campo, da biologia e produção do bicho-da-seda quando essas biomoléculas são utilizadas no controle de determinados agentes patogênicos e na proteção da lagarta.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

As lagartas utilizadas tanto para os experimentos em laboratório como nos experimentos de campo foram obtidas de um lote de híbridos comerciais, proveniente do Convênio SAA/Prefeitura Municipal de Gália, SP.

O vírus usado para infecção experimental foi obtido pela UPD de Bauru, Pólo Centro-Oeste, São Paulo, e identificado como MNPV por microscopia eletrônica.

O extrato aquoso de folhas de *M. jalapa* (família: Nyctaginaceae) foi preparado no homogeneizador Sorvall a 4.000 rpm/5min e empregado nas concentrações de 5, 10 e 20%.

### Infecção experimental de lagartas de *B. mori* em condições de laboratório

Lagartas de *B. mori* (60 indivíduos/instar) em diferentes fases larvais (L3-L5), foram mantidas em caixas, sob temperatura controlada, empregando o manejo adotado para uma criação comercial. Os insetos foram infectados experimentalmente pela administração de 5 g de folhas de amoreira nas quais foi aplicado  $10^{-6}$  OBs/

1 mL (corpos de oclusão), purificados conforme descrito em IKUNO *et al.* (2004), e a seguir foram pulverizados 2 vezes por dia, pelo período de 11 dias consecutivos, com o extrato aquoso de *M. jalapa* nas concentrações de 5, 10 e 20 %. Em um grupo, o extrato foi pulverizado diretamente sobre as lagartas e em outro, sobre as folhas de amoreira utilizadas para a alimentação. Insetos controles foram somente infectados e não receberam o extrato de *M. jalapa*, ou receberam o extrato de *M. jalapa* nas diferentes concentrações, porém não foram infectados. Os insetos foram acompanhados quanto à mortalidade, aparecimento dos sintomas da infecção, formação de casulos e evolução do peso.

No final do 5º instar, amostras de lagartas de cada grupo estudado foram coletadas e acondicionadas em recipientes plásticos a -10º C. A hemolinfa (300 µL/larva) dos insetos, nos diferentes grupos foi coletada ao acaso, em diferentes momentos do experimento para acompanhamento da presença do vírus na população.

#### **Extração e amplificação por PCR de DNA de MNPV de lagartas experimentalmente infectadas**

Para amplificação do genoma viral, os vírions encontrados nos insetos infectados, nas diferentes fases larvais foram liberados por tratamento alcalino de uma biomassa de 40 mg/indivíduo. O DNA foi extraído por incubação com SDS 1% e proteinase K (10 mg/mL), seguida por purificação com Wizard® Plus Minipreps DNA Purification System kit. A reação de PCR e os *primers* empregados foram feitos conforme descrito por IKUNO *et al.* (2004). Um fragmento de 522 pb, correspondente ao produto do genoma viral amplificado, foi observado nos insetos infectados e a especificidade do produto amplificado foi avaliada pela enzima de restrição *Alu I* e por seqüência de nucleotídeos, conforme descrito por IKUNO *et al.* (2004).

#### **Avaliação biológica e produtiva do bicho-da-seda alimentado com folhas de amoreira pulverizadas com *M. jalapa* em escala de produção**

O experimento foi conduzido na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Gália do Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Oeste, durante o mês de fevereiro de 2004, utilizando lagartas obtidas de um lote de híbridos comerciais.

As lagartas foram mantidas em caixas de criação (80 x 70 x 3 cm) devidamente forradas com papel jornal e alimentadas com ramos de amoreira, recebendo os manejos normais de uma criação comercial.

Com o objetivo de fazer uma ampla avaliação do produto, abrangendo todas as fases da criação das lagartas, procedeu-se uma distribuição dos tratamentos de forma a se obter todas as combinações possí-

veis, seguindo os procedimentos de criação adotados pelo Convênio SAA/Prefeitura Municipal de Gália, onde as lagartas do 1º ao 2º instar são mantidas em instalação com ambiente climatizado, denominado "chocadeira" e a partir do 3º instar são distribuídas aos produtores onde são criadas em "sirgarias" até o final da fase larval. Assim, foram separados lotes com 100 lagartas que receberam os seguintes tratamentos:

1. extrato na fase de chocadeira, não recebendo nenhum produto na fase de sirgaria - (E/P);
2. extrato na chocadeira e na sirgaria - (E/E);
3. sem qualquer produto na fase de chocadeira, mas na fase de sirgaria receberam o extrato - (P/E);
4. água na fase de chocadeira, não recebendo nenhum produto na fase de sirgaria - (H/P);
5. água na chocadeira e na sirgaria - (H/H);
6. sem qualquer produto na fase de chocadeira, mas na fase de sirgaria receberam água - (P/H);
7. sem qualquer produto durante o período larval - (P/P);
8. extrato na fase de chocadeira e água na fase de sirgaria - (E/H);
9. água na fase de chocadeira e extrato na fase de sirgaria - (H/E).

O extrato aquoso de *M. jalapa* foi administrado na concentração de 10%, por pulverização das folhas de amoreira usadas na alimentação. Em análise prévia, constatou-se que o volume necessário para umidecer um m<sup>2</sup> de cama de criação foi de 268 mL de solução. Considerando que a área de uma caixa de criação é de 0,560 m<sup>2</sup>, chegou-se a um volume de 150 mL. A solução foi aplicada em volumes crescentes, de acordo com o desenvolvimento das lagartas, conforme segue: 30 mL/dia/caixa no 1º instar, 60 mL/dia/caixa no 2º instar, 90 mL/dia/caixa no 3º instar, 120 mL/dia/caixa no 4º instar e 150 mL/dia/caixa no 5º instar. Os volumes, tanto de água quanto de extrato, foram divididos em duas pulverizações diárias, no primeiro e último trato, aplicadas diretamente na caixa de criação após o fornecimento do alimento, utilizando pulverizador manual, tipo bomba de aplicação de inseticida doméstico, com capacidade de 500 mL.

O ganho de peso das lagartas (GP) foi monitorado em todo o período larval, determinando-se valores médios unitários para GP/instar e para GP total, dado em gramas. No início do 1º instar foram coletadas e pesadas seis amostras com 100 lagartas, sendo determinado um valor médio para peso inicial, que foi utilizado como base para cálculo em todos os tratamentos.

Os pesos finais, para cada instar, foram determinados pela pesagem das lagartas logo após as ecdises. No 5º instar o peso final foi determinado pela pesagem das lagartas antes da confecção dos casulos.

No final do 5º instar foi realizada uma avaliação visual das condições das lagartas, com posterior contagem para determinação da porcentagem média de

mortalidade (MO), considerando viáveis apenas aquelas que apresentassem boas condições corporais e sanitárias.

Amostras de lagartas no final do 5º instar foram coletadas, conforme os tratamentos, acondicionadas em recipientes plásticos e expostas à temperatura de -10° C (freezer). Após inativação estas foram dissecadas, sendo suas glândulas sericígenas, duas glândulas por lagarta, retiradas e pesadas, determinando-se o peso médio das glândulas/lagarta (GS), em gramas.

De cada tratamento retirou-se amostras de casulos para as seguintes determinações: Peso médio do casulo (PC), obtido pela pesagem de 10 casulos sem defeito, por parcela, com posterior cálculo do peso médio unitário em gramas; Peso médio da casca sérica (PCS), obtido a partir dos casulos utilizados na determinação anterior, onde após o corte e retirada da crisálida e espólio, as cascas foram pesadas, determinando-se o peso médio unitário em gramas; peso médio da crisálida (PCr), obtido pela pesagem das crisálidas e posterior cálculo do peso médio unitário em gramas, teor de seda líquido (TS), obtido pela fórmula: % de seda bruta = peso de 30 cascas séricas/peso de 30 casulos x 100, descontando 24% (porção não fiável) do resultado e Número de casulos por kg (NC/KG), determinado pela contagem no número de casulos em amostras com peso determinado e posterior transformação em quilograma.

As condições de temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas durante o período experimental, sendo as informações coletadas no momento da aplicação dos produtos (primeiro e último trato do dia). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por tratamento. Os dados referentes às variáveis GP, MO, PCr, GS, PC e PCS, foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o modelo experimental desenvolvido em laboratório com o propósito de acompanhar a capacidade do extrato de *M. jalapa* de controlar a evolução da infecção pelo nucleopoliédrovírus (NPVBm), nas diferentes fases larvais (L3aL5) do bicho-da-seda, estão resumidos na Tabela 1. Neste modelo, sete dias após a infecção o genoma viral foi detectado por PCR nas lagartas infectadas, independentemente da existência de sinais de infecção e da idade do animal. O genoma viral foi encontrado nos insetos infectados, coletados ao acaso e em todas as fases larvais.

Observou-se que o extrato, na concentração de 5%, quando administrado por 11 dias sobre as lagartas infectadas, permitiu uma sobrevida da população de 90%, com aparecimento dos sintomas da doença e a ocorrência de mortes no 4º e 7º dias após o início da infecção. A pulverização do extrato nessa mesma concentração, sobre as folhas de amoreira usadas na alimentação, elevou a sobrevida dos insetos para 95%, com ocorrência de mortes no 4º e 6º dias após o início da infecção.

Comparando com os resultados obtidos com os insetos do grupo controle, que foram infectados porém que não receberam o extrato, a pulverização das folhas com o extrato de *M. jalapa*, na concentração de 10%, impediu tanto a evolução da infecção viral como o aparecimento dos sintomas, e garantiu a sobrevivência de todos os insetos. O extrato, na concentração de 10%, quando aplicado diretamente sobre o inseto, causou na população um percentual de mortes de 8,3%. Os insetos não se alimentaram quando foi empregado o extrato de *M. jalapa* na concentração de 20%. Os insetos do grupo controle, que receberam somente o vírus e não foram tratados com o extrato, morreram em 7 dias após o início da infecção.

Os experimentos foram realizados em duas ocasiões diferentes.

Tabela 1 - Efeito do extrato aquoso de *Mirabilis jalapa* na proteção de *Bombyx mori* L., infectados por NPVBm nas fases larvais L3 a L5.

Concentração do extrato %	Aplicação sobre	nº de insetos mortos/total de insetos		
		4º dia p.i	6º dia p.i.	7º dia p.i.
5	lagartas	3/60 (5%)*	—	6/60 (10%)
	folhas	2/60 (3,3%)	3/60 (5%)	—
10	lagartas	3/60 (5%)	5/60 (8,3%)	—
	folhas	0/60	0/60	0/60
Controle (água)	lagartas	60/60	60/60	60/60
	folhas	60/60	60/60	60/60

p.i. dia pós-início da infecção

\*% de insetos mortos na população

Tabela 2 - Médias da temperatura e umidade relativa do ar na chocadeira e sirgaria, durante o período larval.

Fases da criação	Ínstar	Temperatura (média diária: °C)	Umidade Relativa do Ar (média diária: %)
Chocadeira	primeiro	26,33	94,00
	segundo	25,08	83,46
	média geral	25,71	88,73
Sirgaria	terceiro	23,72	86,80
	quarto	24,24	87,17
	quinto	22,13	93,88
	média geral	23,36	89,28

Tabela 3 - Valores médios unitários para ganho de peso (GP) de lagartas do bicho-da-seda, por ínstar e total, para peso de crisálida (PCr) e porcentagem de mortalidade (MO), conforme os tratamentos, com os respectivos coeficientes de variação.

Tratamentos (chocad./sirgaria)	GP (gramas)						PCr gramas)	MO (%)
	1º ínstar	2º ínstar	3º ínstar	4º ínstar	5º ínstar	total		
E/P	0,00158 a*	0,02578 bc	0,14712 ab	0,5793 a	3,2013 b	3,9555 a	1,5520 a	1,50 a
E/H	0,00160 a	0,02606 bc	0,15563 a	0,6353 a	3,5583 a	4,3773 a	1,6238 a	7,50 a
E/E	0,00158 a	0,02641 b	0,15276 a	0,6238 a	3,5625 a	4,3675 a	1,5330 a	3,00 a
H/P	0,00176 a	0,02341 c	0,15556 a	0,5972 a	3,2895 ab	4,1450 a	1,5735 a	3,75 a
H/E	0,00163 a	0,02339 c	0,15242 b	0,5955 a	3,4988 ab	4,2720 a	1,5223 a	5,00 a
H/H	0,00157 a	0,02418 bc	0,14790 ab	0,5855 a	3,4750 ab	4,2348 a	1,5853 a	2,00 a
P/E	0,00161 a	0,03268	0,14775 ab	0,6138 a	3,5318 ab	4,3283 a	1,5835 a	4,00 a
P/H	0,00173 a	0,02606 a	0,14058 b	0,5760 a	3,4695 ab	4,2200 a	1,5300 a	5,25 a
P/P	0,00167 a	0,03148	0,14582 ab	0,5685 a	3,3600 ab	4,1085 a	1,4598 a	1,25 a
média geral	0,00163	0,02722	0,14950	0,5972	3,4385	4,2232	1,5514	3,69
CV (%)	6,81	4,44	3,35	4,81	4,28	4,42	5,50	5,15

E = extrato, P = padrão, H = água

\*Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Nas condições de laboratório, foi alcançado 100% de proteção das lagartas do bicho-da-seda contra a infecção do NPVBm, empregando a pulverização do extrato de *M. jalapa* na concentração de 10%.

Não foi observada variação significativa no peso dos insetos submetidos aos diferentes tratamentos, quando comparado com o peso dos insetos dos grupos controle.

Esses resultados serviram como referência para uma avaliação, em condições de campo, do desempenho biológico e produtivo do bicho-da-seda quando exposto ao extrato.

Durante o período experimental, tanto na fase de criação na chocadeira como na fase de sirgaria, as condições de temperatura e umidade relativa do ar foram acompanhadas, sendo as informações coletadas no momento da aplicação dos produtos (primeiro e último trato do dia). As médias, discriminadas con-

forme a fase da criação e o ínstar, estão apresentadas na Tabela 2.

Os resultados obtidos, empregando diferentes condições de tratamento e em diferentes fases da criação, estão resumidos na Tabela 3.

Através dos valores de ganho de peso (GP), é possível se fazer uma prévia avaliação do estado corporal das lagartas, condição esta fundamental, pois é na fase larval dos insetos de ciclo holometabólico onde ocorre todo o armazenamento energético para as demais fases do seu desenvolvimento.

Pela análise do GP das lagartas, nos dois primeiros ínstares ("chocadeira"), pode-se verificar que apenas no segundo ínstar ocorreu variação. As lagartas que não receberam nenhum tipo de tratamento na fase de chocadeira (P/P), apresentaram um GP superior. Por outro lado, aquelas que receberam água (H/H), em geral apresentaram menor GP.

Tabela 4 - Valores médios unitários para peso da glândula sericígena (GS), peso de casulo (PC) e peso de casca sérica (PCS) do bicho-da-seda, conforme os tratamentos, com os respectivos coeficientes de variação.

Tratamentos (chocadeira/sirgaria)	GS (gramas)	PC (gramas)	PCS (gramas)
E/P	1,0572 ab*	1,9202 a	0,3702 a
E/H	1,1595 ab	2,0102 a	0,3865 a
E/E	1,0218 b	1,9117 a	0,3787 a
H/P	1,1332 ab	1,9482 a	0,3747 a
H/E	1,2525 a	1,9010 a	0,3787 a
H/H	1,1445 ab	1,9600 a	0,3747 a
P/E	1,1443 ab	1,9690 a	0,3855 a
P/H	1,2282 ab	1,9010 a	0,3710 a
P/P	1,1495 ab	1,8242 a	0,3645 a
Média geral	1,1434	1,9273	0,37611
CV (%)	9,73	4,93	3,94

\*Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

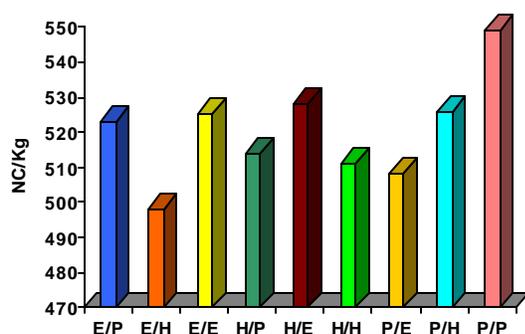


Fig. 1 - Número médio de casulos em 1 kg de amostra (NC/Kg), conforme as diferentes combinações dos tratamentos (E- extrato, P-padrão, H-água).

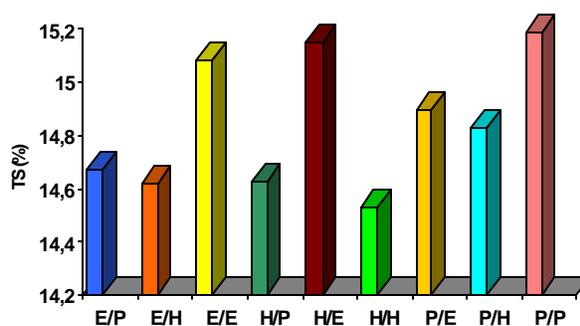


Fig. 2 - Valores médios de teor de seda líquido (TS), dado em porcentagem, conforme as diferentes combinações dos tratamentos (E-extrato, P-padrão, H-água).

Um fato a ser considerado é o menor valor da umidade relativa do ar (UR) no segundo ínstar (Tabela 2), que pode ter desencadeado uma resposta fisiológica das lagartas. Uma vez que, para lagartas do bicho-da-seda, nos primeiros ínstars (1º e 2º), é recomendado a utilização de folhas de amoreira com textura tenra e bom conteúdo de umidade (HANADA & WATANABE, 1986; PORTO, 2002) e uma UR na faixa de 85 a 90% (OKINO, 1982; FONSECA & FONSECA, 1988).

Em condições de alimentação inadequada é comum os insetos ajustarem o consumo e utilização do alimento de forma a obter um desenvolvimento satisfatório. Conforme EDWARDS & WRATTEN (1981), os insetos fitófagos passam grande parte do tempo alimentando-se, devido ao baixo teor de água normalmente encontrado nas folhas. De acordo com PARRA (1991), o consumo de um alimento por um inseto pode ser alterado pela quantidade de água no alimento ou propriedades físico-químicas da dieta. Embora no presente estudo não se tenha avaliado o consumo do alimento pelas lagartas, é possível supor que com a

UR mais baixa, possa ter ocorrido uma elevação no consumo, nos tratamentos onde não se aplicou nenhum produto líquido (padrão), como forma do inseto compensar a condição menos favorável de umidade. Esta situação pode ter resultado em um maior GP. Nos trabalhos de PAUL *et al.* (1992) e PORTO (2000), pode-se observar uma correlação positiva entre o consumo de folhas e o ganho de peso de lagartas do *B. mori*.

Quando as lagartas foram transferidas para a sirgaria, a UR se elevou com a progressão dos ínstars (Tabela 2), criando condições favoráveis para que estas recuperassem seu estado corporal. Em alguns estudos têm sido observada uma correlação positiva entre a elevação da umidade na folha da amoreira e o aumento do peso das lagartas do bicho-da-seda (PAUL *et al.*, 1992; CHALUVACHARI & BONGALE, 1995).

Analisando ainda a Tabela 3, mesmo que se possa observar uma discreta superioridade no GP, principalmente no terceiro e quinto ínstar, para as lagartas que receberam tratamento com extrato na fase de

chocadeira e que mantiveram um tratamento líquido (extrato ou água) na fase de sirgaria, não é possível afirmar que os resultados sejam devido a estes tratamentos, já que no geral, houve uma tendência de estabilização do GP, não havendo variação significativa no GP total das lagartas, em função dos tratamentos testados.

As diferentes combinações dos tratamentos, também não resultaram em variações significativas para as variáveis PCr e MO. Através da análise do PCr, tem-se uma noção se as condições sanitárias e de criação foram ideais para o desenvolvimento do bicho-da-seda. Nas criações para produção de matrizes, a sanidade e desempenho das mariposas depende da adequada reserva energética das crisálidas. A uniformidade do PCr indica que a aplicação do extrato de *M. jalapa* não teve efeito direto, favorável ou desfavorável, ao seu desenvolvimento. Os valores obtidos (média geral = 1,5514) estão em conformidade com alguns resultados apresentados na literatura. PORTO & OKAMOTO (2000), estudando o desempenho do bicho-da-seda, quando alimentados com dois cultivares de amoreira em diferentes sistemas de utilização, observaram valores de PCr que variaram de 1,527 a 1,744 g. PORTO *et al.* (2004), quando estudaram o efeito da idade de corte da planta e cultivares de amoreira, obtiveram valores de PCr entre 1,277 a 1,525 g.

A variável MO é uma importante ferramenta para avaliação biológica das lagartas, quando submetidas a novos produtos e, sob diferentes condições de criação. Os resultados obtidos (média geral = 3,69%) estão de acordo com o trabalho de RAO *et al.* (1990) que observaram valores na faixa de 2,8 a 5,8%, quando estudaram quatro raças do bicho-da-seda. Para HANADA & WATANABE (1986), no entanto, uma perda de 15% é comum em uma criação comercial do bicho-da-seda. Também PORTO & OKAMOTO (2003) e PORTO *et al.* (2004), obtiveram valores médios de mortalidade, para o *B. mori*, bem acima do que foi observado no presente estudo (14,69 e 20,50%, respectivamente).

Considerando que na Sericicultura o produto final é a seda, todo fator que possa interferir na sua produção deve ser criteriosamente analisado. Na Tabela 4 estão apresentadas algumas variáveis cujos valores nos permite avaliar a produção do bicho-da-seda.

Toda a energia para formação da seda está contida nas glândulas sericígenas, o que torna esta variável (GS) de grande importância para se avaliar o potencial de produção. Através da Tabela 4 é possível observar que apenas entre dois tratamentos houve variação significativa. As lagartas que recebem água na fase de chocadeira e extrato na fase de sirgaria, apresentaram maior GS do que aquelas que receberam extrato nas duas fases de criação. Os pesos das glândulas (média geral = 1,1434 g) estão próximos

daqueles apresentados na literatura. PORTO *et al.* (2003) observaram valores entre 1,105 e 1,324 g, para lagartas híbridas do bicho-da-seda. No trabalho de PORTO *et al.* (2004), onde foram estudadas oito raças do *B. mori*, os pesos das glândulas sericígenas variaram de 0,648 a 1,072 g.

Apesar das diferenças estatísticas para a variável GS, não se pode afirmar com certeza que houve efeito de tratamento, uma vez que esta tendência não se manteve quando se analisou o PC e PCS. Estas duas variáveis estão relacionadas diretamente com a produção de seda, sendo amplamente utilizadas em estudos com o bicho-da-seda, como forma de avaliar a produção. Os valores obtidos para PC (média geral = 1,9273 g) e PCS (média geral = 0,3761 g) estão de acordo com dados da literatura. PORTO & OKAMOTO (2000) observaram valores de 2,038 a 2,264 g para PC e 0,507 a 0,525 g para PCS. Valores entre 1,542 a 1,644 g para PC e 0,350 a 0,375 g, para PCS, foram observados por PORTO *et al.* (2003). No trabalho de PORTO *et al.* (2004), os valores situaram entre 1,656 a 1,959 para PC e 0,368 a 0,430 g para PCS.

De maneira geral, o desempenho das lagartas, quando submetidas ao extrato de *M. jalapa* em diferentes combinações nas fases de criação, pouco diferiu daquele onde as lagartas não receberam tratamento algum (padrão) ou apenas água. Estes resultados vêm reforçar a hipótese proposta anteriormente, pela qual as lagartas utilizam estratégias fisiológicas para ajustar o seu desenvolvimento, assim como observado por CROCOMO & PARRA (1985), em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae), descrito por PARRA (1991) e observado em lagartas do *B. mori*, por PAUL *et al.* (1992).

Na Sericicultura, alguns índices são utilizados como forma de avaliar a produção, bem como definir os preços para comercialização. O número de casulos por Kg de amostra (NC/Kg) está diretamente relacionado com o PC, portanto quanto menor o valor obtido, melhor será o rendimento na produção de casulo. O teor de seda líquido (TS), por sua vez, é o resultado de um cálculo envolvendo o PCS e PC, definindo, junto com outros fatores, o valor final do produto.

Através das Figuras 1 e 2, os resultados obtidos para NC/Kg e TS, podem ser analisados, respectivamente.

Pela análise simples das médias, comparando os tratamentos com a testemunha (padrão/padrão), pode-se notar que em todas as combinações dos tratamentos o número de casulos foi menor, portanto mais pesados, com destaque para o tratamento onde se aplicou extrato na fase de chocadeira e água na fase de sirgaria.

PAOLIERI (1965), estudando raças e híbridos do bicho-da-seda, obteve uma média geral de 707 casu-

los verdes por kg de amostra, com uma variação de 553 a 884 casulos. Estes valores são bem superiores ao obtido no presente estudo (média geral = 520 casulos/kg de amostra).

Quanto ao TS, é possível observar que os tratamentos onde se aplicou líquido (extrato ou água) na fase de chocadeira e extrato na fase de sirgaria, proporcionaram resultados bem próximos ao tratamento testemunha (padrão/padrão), cabendo ressaltar que quanto maior o valor, maior o rendimento em seda.

Em geral, as médias obtidas para o TS (média geral = 14,84%) ficaram abaixo dos valores observados na literatura. PORTO & OKAMOTO (2003) observaram um valor médio geral, para esta variável, de 16,01%, com variações entre 15,34 e 16,83%. PORTO (2004) obteve um TS médio de 16,53%, com variação de 15,99 a 17,25%. Também no trabalho de PORTO *et al.* (2004), os valores do TS oscilaram entre 16,09 a 17,11%.

Face aos resultados obtidos, é possível constatar que o emprego do extrato de *M. jalapa* não causou efeitos depressivos na biologia do *B. mori*, bem como na produção de casulo.

Empregando a reação de PCR foi identificado nos insetos nas diferentes fases de criação, a presença do NPV, porém, não foram observados sintomas da doença. Esse resultado pode ser indicativo de que a população viral embora presente não foi favorecida pelas condições para alterar o desempenho produtivo dos insetos. Quanto à ação anticontaminante do extrato a outros patógenos oportunistas, no entanto, evidências não puderam ser observadas, visto que as condições sanitárias de criação foram boas, proporcionando poucas perdas de lagartas, estando estas perdas relacionadas, provavelmente, mais a fatores naturais do que a incidência de doenças.

## CONCLUSÕES

Em condições de laboratório, foi obtida 100% de proteção das lagartas do bicho-da-seda contra a infecção pelo NPVBm, através da pulverização com o extrato de *M. jalapa* na concentração de 10%. Esse extrato não trouxe efeitos depressivos à biologia e produção do bicho-da-seda, tanto em condições de laboratório como em condições de criação comercial.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, O.C. *Ensaio-teste sobre a ação de fungicidas na larva do bicho-da-seda*. Campinas: Serviço de Sericicultura, 1961. 11p. (Boletim Técnico de Sericicultura, 11).
- ABREU, O.C.; BONILHA, N.A.; ABRAMIDES, E. *Ensaio comparativos da ação de fungicidas no bicho-da-seda*. Campinas: Serviço de Sericicultura, 1962. 13p. (Boletim Técnico de Sericicultura, 32).
- BAIG, M. Effect of certain desinfectants as surface sterilents against pebrine in surface contaminated layings. *Sericologia La Mulatière*, v.28, n.1, p.81-87, 1988.
- BOLOGNESI, A.; POLITO, L.; LUBELLI, C.; BARBERI, L.; PARENTE, A.; STIRPE, F. Ribosome-inactivating and adenine polynucleotide glycosylase activities in *Mirabilis jalapa* L tissues. *Journal Biological Chemistry*, v.277, p. 13709-13716, 2002.
- BYRAREDDY, M.S. Comparative efficacy of some rearing tray desinfectants in prevention of silkworm white muscardine caused by *Beauveria bassiana* (Bals.) vuil. *Sericologia La Mulatière*, v.31, n.3, p.533-535, 1991.
- CHALUVACHARI, T. & BONGALE, U.D. Evaluation of leaf quality of some germoplasm genotypes of mulberry through chemical analysis and bioassay with silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian Journal of Sericulture*, v.34, n.2, p.127-132, 1995.
- CROCOMO, W.B. & PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de milho, trigo e sorgo por *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctividae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.29, n.2, p.225-260, 1985.
- EDWARDS, O.J. & WRATTEN, S.D. Os problemas das plantas como alimento para os animais. In: EDWARDS, O.J. & WRATTEN, S.D. (Eds.). *Ecologia das Interações entre Insetos e Plantas*. 2.ed. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, 1981. p.7-18.
- FONSECA, T.C. & FONSECA, A.S. *Cultura da amoreira e criação do bicho-da-seda*. São Paulo: Nobel, 1988. 246p.
- HANADA, Y. & WATANABE, J.K. *Manual de criação do bicho-da-seda*. Curitiba: COCAMAR, 1986. 224p.
- IKUNO, A.A.; MARGATHO, L.F.F.; HARAKAVA, R.; AKAMATSU, M.A.; MARTINS, E.M.F.; PORTO, A.J.; FERREIRA, V.C.A. Direct application of the new PCR protocol for evaluation and monitoring of *Bombyx mori* infection by nucleopolyhedrovirus. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.71, n.3 p.309-315, 2004. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v71\\_3/ikuno.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v71_3/ikuno.pdf)>. Acesso em: 2005
- JAWALE, M.D. & TAYADE, D.S. Effect of certain bed desinfectans on the growth and disease control of silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia La Mulatière*, v.27, n.3, p.446, 1987.
- NORONHA, A.B.; ALEXANDRE, M.A.V.; DUARTE, L.M.L.; VICENTE, M. Controle alternativo de fitovírus com a utilização de inibidores naturais. *Biológico*, São Paulo, v.58, n.1, p.7-12, 1996.
- OKINO, I. *Manual de sericicultura*. Bauru: CATI/SAA, 1982. 80p.
- PAOLIERI, L. Estudos experimentais de raças e híbridos de bicho-da-seda. *Boletim Técnico de Sericicultura*, n.52, p.1-47, 1965.
- PAUL, D.C.; RAO, G.S.; DEB, D.C. Impact of dietary moisture on nutritional indices and growth of *Bombyx mori* and concomitant larval duration. *Journal of Insect Physiology*, v.38, n.3, p.229-245, 1992.
- PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A.R. & PARRA, J.R.P. (Eds.). *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo: Manole, 1991. p.9-66.
- PARRA, J.R.P. *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. 6.ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134p.

- PORTO, A.J. & OKAMOTO, F. Sistemas de utilização de dois cultivares de amoreira em duas idades de crescimento vegetativo, no desempenho do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). *Boletim de Indústria Animal*, v.57, n.2, p.171-178, 2000.
- PORTO, A.J. Aspectos nutricionais do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). *Boletim de Indústria Animal*, v.59, n.1, p.79-99, 2002.
- PORTO, A.J.; OKAMOTO, F.; OTSUK, I.P. Estudo de cultivares de amoreira e de técnicas de manejo alimentar no desempenho do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). *Boletim de Indústria Animal*, v.60, n.1, p.71-82, 2003
- PORTO, A.J. & OKAMOTO, F. Desempenho produtivo de quatro raças do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.) e seus cruzamentos. *Boletim de Indústria Animal*, v.60, n.2, p.179-184, 2003.
- PORTO, A.J.; FUNARI, S.R.C.; DIERCKX, S.M.A.G. Avaliação da idade de corte de dois cultivares de amoreira nos desempenhos biológico e produtivo do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*, v.7, n.1/3, p.55-56, 2004.
- RAO, P.R.M.; NOAMANI, M.K.R.; BASAVARAJ, H.K. Some observations on melting in bivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia La Mulatière*, v.30, n.1, p.87-89, 1990.
- TROPICAL PLANT DATABASE, *Clavillia (Mirabilis jalapa)*. Disponível em: <http://www.rain-tree.com/clavillia.htm>. Acesso em: 29 nov. 2004
- SURENDRA, N.B. & SURENDRA, K.R.P. Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Ecotoxicology Environmental Safety*, v.42, p.157-162, 1999
- TINOCO, S.T.J.; PORTO, A.J.; ALMEIDA, A. M.; SOUZA, C.G.; OKAMOTO, F.; OKAWA, H.; ALMEIDA, J.E.; TAKAHASHI, J.N.; MARGATHO, L.F.F.; NAKATA, N.; TAKAHASHI, R.; FONSECA, T.C.; UCHINO, T.; HIGASHIKAWA, T.; SILVA, W.H. *Manual de sericicultura*. Campinas: CATI/SAA, 2000. 71p. (Manual Técnico n.75).

Recebido em 11/11/05

Aceito em 19/12/05