

EFEITO DO TRATAMENTO QUÍMICO DOS OVOS DO BICHO-DA-SEDA, *Bombyx-mori*, NA FASE DE PRÉ-DIAPAUSA⁽¹⁾

SILVIA MARIA ALVES GOMES DIERCKX⁽²⁾ e JOSÉ ROBERTO VELOSO NUNES⁽²⁾

RESUMO: O objetivo do experimento foi comparar dois métodos de tratamento químico dos ovos do bicho-da-seda, *Bombyx-mori*, na pré-diapausa com um tratamento de diapausa completa, envolvendo 35 dias de estivação e 65 dias de hibernação. Ele foi executado no Setor de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, no período de 27 de maio de 1992 a 28 de outubro de 1992, com 2400 ovos de bicho-da-seda, sendo 1200 híbridos C108xN115 e 1200 N115xC108. O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (2 origens e 3 tratamentos químicos) e 4 repetições, sendo a unidade experimental um telainho com 100 ovos. Os tratamentos executados foram: químico a quente, químico a frio com HCl e diapausa com 35 dias de estivação e 65 dias de hibernação, com posterior banho químico com ácido clorídico quente, sendo todos os tratamentos, após o banho, colocados em estufa a 25°C para que ocorressem os nascimentos. A análise estatística do número de larvas nascidas revelou efeito significativo ($P < 0,01$) para os tratamentos químicos. Observou-se que os tratamentos químicos efetuados na pré-diapausa foram equivalentes e estatisticamente superiores ao tratamento de diapausa.

Termos para indexação: ovos, bicho-da-seda, pré-diapausa.

Effect of chemical treatment in silkworm eggs, Bombyx-mori, at pre-diapause stage

SUMMARY: The aim of this experiment was to compare two methods of chemical treatment in silkworm eggs, *Bombyx-mori*, at pre-diapause with another at diapause, comprising 35 days of estivation and 65 days of hibernation. It was carried out using 2400 silkworm eggs, of which 1200 were hybrid C108xN115 and 1200 N115xC108. The statistical design was the completely randomized one arranged in a 2x3 factorial (2 origins and 3 chemical treatments), with 4 replications, the experimental unit being a container with 100 eggs. The chemical treatments were: hot chemical bath, cold chemical bath with HCl and diapause with 35 days of estivation and 65 days of hibernation followed by chemical bath with hot HCl. In all treatments, after the bath, the eggs were placed in an incubator at 25°C to favor hatching. The statistical analysis of the number

(1) Recebido para publicação em dezembro de 1994.

(2) Departamento de Produção e Exploração Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP-Botucatu-SP.

of born larvae showed differences between treatments ($P < 0.01$). The chemical treatments carried out at pre-diapause were equivalent but statistically superior to the diapause treatment.

Index terms: eggs, silkworm, pré-diapause.

INTRODUÇÃO

A sericultura é uma atividade agroindustrial que representa, para alguns municípios como Gália no Estado de São Paulo, a principal fonte de recursos e impostos. Embora tenha um caráter social como fixador de propriedade de pequena extensão de terras, há uma completa dependência destes sericultores com a indústria que lhes fornece as larvas e compra seus casulos para destes retirar o fio-de-seda. Além disso, o melhoramento genético efetuado nestas larvas é totalmente desconhecido por toda a comunidade científica, já que é feito por grandes grupos internacionais.

O fenômeno da diapausa pode acontecer em qualquer fase do ciclo de vida dos insetos, ocorrendo no bicho-da-seda, somente na fase de ovo.

Segundo FONSECA & FONSECA (1988), o ovo fecundado, após a sua postura pela mariposa, apresenta coloração amarelo pálida, que vai gradativamente se alterando para a cor cinza até 24-28 horas após a ovoposição, permanecendo com esta coloração durante toda diapausa até a eclosão.

A diapausa ocasiona uma demora na eclosão dos ovos pois, para que esta ocorra, há necessidade de que estes sofram um processo chamado estivação, onde a temperatura é controlada a 25°C e, em seguida, uma hibernação onde a mesma é rebaixada para a faixa entre 5 a 0°C, dependendo da sua duração (ABREU, 1971).

A diapausa pode ser classificada em 2 tipos segundo SILVEIRA NETO et al. (1976): obrigatória e facultativa. A primeira é independente de estímulos externos e tem caráter genético (MOROHOSHI, 1952 e NAGATOMO, 1953). A segunda é influenciada por fatores externos, principalmente luz e temperatura.

Muitos pesquisadores estudaram o efeito do fotoperíodo (ANDREWARTH & BIRCH, 1954, SILVEIRA NETO et al., 1976, WIGGLESWORTH, 1978 e KOBAYASHI et al., 1986a e b) e, através destes, pode-se concluir que se a mariposa fêmea for exposta a 14 horas ou mais de luz por dia por ovos que entram em diapausa.

Os primeiros estudos sobre a interferência da temperatura no aparecimento de ovos de diapausa foram realizados por WATANABE (1918). Nesta linha

SILVEIRA NETO et al. (1976) observaram que as mariposas criadas à temperatura superior a 25°C punham ovos de diapausa.

Com base em observações efetuadas ao longo de muitos anos, sabe-se que as condições de temperatura e fotoperíodo no nosso país levam a que todas as mariposas fêmeas ponham ovos de diapausa.

Como no Brasil a safra sericícola vai geralmente de setembro a abril, as indústrias necessitam sempre ter ovos prestes a eclodirem para serem entregues aos criadores. Dessa maneira os períodos de estivação e hibernação variam conforme suas necessidades de entrega, desde que não afete a percentagem de eclosão.

É muito importante que se conheça, para cada linhagem, raça ou origem, a duração da diapausa com a qual se obtém o maior número de larvas nascidas.

ABREU (1971), indica os seguintes métodos de tratamento industrial dos ovos em diapausa: a) -ANUAL- os ovos são mantidos a 25°C por 100-200 dias, depois a temperatura é abaixada para 5°C, posteriormente para 2°C durante 90-100 dias; b) -SEMI-ANUAL- os ovos são conservados a 23-25°C por 30-60 dias, depois sua temperatura é reduzida até 5°C, durante 40-60 dias e, posteriormente, reduzida para 2,5°C, durante 60 dias, com posterior banho químico; c) -HIBERNO-QUÍMICO- os ovos com 46-72 horas após a desova são mantidos a 23-25°C por 50-90 dias e, depois, tratados com HCl aquecido a 48°C, por 5 a 7 minutos. Para ovos em pré-diapausa, o mesmo autor recomenda o método denominado: -QUÍMICO EUROPEU, onde os ovos, após a desova, são mantidos a 23-25°C por 20 horas, sendo, posteriormente, tratados com HCl de densidade 1,064 aquecido a 46°C, por 4 a 5 minutos.

OKINO et al. (1982) chama o método químico europeu de tratamento a quente e sugere um novo tratamento denominado: - QUÍMICO A FRIO, onde os ovos são tratados com HCl a 25°C por 60-80 minutos, 20 horas após a desova.

Os métodos químicos a quente e a frio, não apresentam estivação, pois os ovos são tratados com HCl quando ainda possuem coloração amarela, ou seja, não entraram em diapausa, sendo por isso mesmo, necessário autorização governamental para serem empregados,

devido ao curto espaço de tempo para a fiscalização sanitária da postura.

Segundo OKINO et al. (1982), qualquer que seja o tratamento industrial adotado, os ovos são posteriormente incubados a 25°C de Temperatura e 85% de Umidade Relativa, visando-se obter larvas sadias uniformes, que nascerão, geralmente, 12 dias após o banho químico.

DIERCKX (1994a), estudando diferentes durações dos períodos de estivação e hibernação em ovos de bicho-da-seda, em diapausa, encontrou melhor percentagem de eclosão destes quando se associaram períodos de estivação que variaram de 35-45 dias e de hibernação de 65-75 dias, com posterior banho químico.

DIERCKX (1994b), estudando períodos de estivação de 30 a 45 dias e de hibernação de 60 a 75 dias, em ovos de bicho-da-seda, em diapausa, de duas diferentes origens, obteve maior eclosão para a combinação de 35 dias de estivação e 65 dias de hibernação, além de efeito significativo da origem (japonesa ou chinesa) dos ovos.

A literatura é escassa em relação ao tratamento de ovos do bicho-da-seda na fase de pré-diapausa e aos resultados obtidos em termos de percentagem de eclosão alcançada.

Observa-se que os tratamentos químicos a frio e a quente, executados na fase de pré-diapausa, podem levar a um encurtamento do intervalo-entre-gerações; acelerando o ciclo de produção, já que, rapidamente, as larvas nascem, são criadas, se reproduzem, efetuam nova postura que, se tratada também na pré-diapausa, em curto espaço de tempo, eclodirão dando origem às larvas da geração seguinte. Assim, nos processos de melhoramento genético a diminuição do intervalo-entre-gerações é de grande importância, pois os resultados pretendidos são mais rapidamente conseguidos.

O objetivo deste trabalho foi comparar o método químico a quente, o químico a frio, ambos executados na pré-diapausa com o método semi-anual, realizado durante a diapausa e que é convencionalmente adotado pelas firmas produtoras de ovos de bicho-da-seda.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi executado no Setor de Apicultura da FMVZ-UNESP-Botucatu/Lageado, no período de 29/05/92 a 28/10/92, sendo usados 2400 ovos de bicho-da-seda provenientes da firma BRATAC de Bastos, SP, sendo 1200 híbridos C108xN115 e 1200 N115xC108.

Os ovos foram contados, colocando-se 100 em cada telainho, que foi considerada a unidade experimental.

O telainho consistiu de um suporte de madeira de 17 cm de comprimento, 9,5 cm de largura e 2,5 cm altura, forrado com pano de algodão, no fundo e na superfície, tendo ainda um pezinho de madeira para facilitar o empilhamento e não prejudicar a troca gasosa dos ovos.

O quadro 1 mostra a distribuição dos tratamentos.

Quadro 1. Esquema dos tratamentos dos ovos do bicho-da-seda.

Tratamento	Banho químico quente	Banho químico frio	Diapausa (controle)	Origem
A	sim	-	-	1
B	-	sim	-	1
C	-	-	sim	1
A	sim	-	-	2
B	-	sim	-	2
C	-	-	sim	2

Os tratamentos foram executados da seguinte maneira:

Tratamento A - Químico a Quente

Os ovos foram tratados 20 horas após a desova, ou seja na fase de pré-diapausa. Estes foram mantidos a 25°C, desde a postura até o banho químico, quando cada parcela experimental foi colocada em saco de algodão devidamente etiquetado e submerso na solução 1:1, uma parte de HCl p.a. e uma de água destilada, aquecida em banho-maria a 46°C por 5 minutos, sendo, a seguir, lavados em água corrente por 30 minutos, postos para secar e, novamente, colocados na estufa a 25°C até a eclosão, que se deu aproximadamente 12 dias após o tratamento químico.

Tratamento B - Químico a Frio

Os ovos foram tratados 20 horas após a postura, ainda na fase anterior à diapausa, semelhante ao tratamento anterior, eles foram colocados em estufa, a 25°C, desde a postura até o banho químico com solução 1:1 de HCl p.a. e água destilada, aquecida a 25°C em banho-maria por 60 minutos, sendo depois lavados em água corrente por 30 minutos, postos para secar e, novamente, colocados na estufa na mesma temperatura, até que ocorresse a eclosão, que se deu ao redor do 12º dia depois do banho químico.

Tratamento C - Semi Anual (Controle)

Neste caso os ovos na fase de diapausa, seguindo DIERCKX (1994a,b), foram submetidos a 35 dias de estivação a uma temperatura de 25°C, 65 dias de hibernação a 5°C, efetuada em geladeira, sendo dela retirados e colocados à temperatura ambiente por 2 horas,

para evitar o choque térmico, sendo, a seguir, colocados em banho químico com solução 1:1 de HCl e água destilada, em banho-maria, aquecida a 48°C por 8 minutos. Após lavagem em água corrente por meia hora e secagem, em papel de filtro, retornaram à estufa a 25°C para a eclosão, que ocorreu cerca de 12 dias depois do banho químico.

Após o nascimento das larvas, foi feita a contagem das nascidas (taxa de eclosão). Como os dados obtidos obedeciam a uma distribuição de Poisson, foram transformados pela fórmula $\sqrt{x+1/2}$ e, a seguir, procedeu-se à análise de variância.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (2 origens e 3 tratamentos dos ovos), com 4 repetições.

A análise estatística foi feita através do Sistema de Análises Estatísticas e Genética - SAEG, segundo EUCLYDES (1988) e a comparação entre as médias obtidas nos diferentes tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística dos resultados obtidos estão mostradas no quadro 2.

Os resultados indicaram haver efeito significativo do tratamento dos ovos sobre a sua eclodibilidade. Enquanto isto, o efeito da origem só foi significativo a 10% de probabilidade e a interação origem x tratamento químico não foi significativa.

Quadro 2. Análise de variância do número de larvas nascidas em relação à origem e tratamento sofrido pelos ovos do bicho-da-seda, *Bombyx-mori*.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio	F
Origem (O)	1	2,399943	3,467 ^{ns}
Tratamento químico (T)	2	54,36985	78,537**
O x T	2	1,456879	2,104 ^{ns}
Resíduo	18	0,6922828	
C.V. = 11,316%			

** significativo ($P < 0,01$), ^{ns} não significativo.

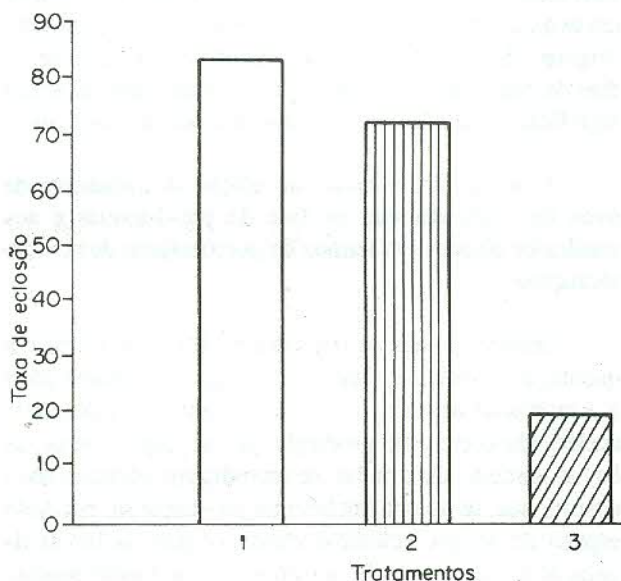
A comparação entre as médias, para os diferentes tratamentos, se encontra no quadro 3.

Quadro 3. Número médio de larvas nascidas nos diferentes tratamentos sofridos pelos ovos do bicho-da-seda, *Bombyx-mori*.

Tratamentos	Nº médio de larvas nascidas	
	dados originais	dados transformados
Químico a quente	84,000	(9,1555) A
Químico a frio	73,000	(8,5390) A
Semi-anual	19,500	(4,3635) B

Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ($P < 0,05$).

Com base nos resultados e na figura 1, pode-se constatar que os tratamentos químicos, executados na pré-diapausa, foram estatisticamente equivalentes e mais eficientes que o controle, apresentando maior número de larvas nascidas.



- 1- Químico a quente
- 2- Químico a frio
- 3- Diapausa com 35 dias de estivação e 65 dias de hibernação

Figura 1. Representação gráfica da taxa de eclosão de ovos do bicho-da-seda, *Bombyx-mori*, submetidos a três diferentes tratamentos.

Estes resultados foram bastante animadores e indicaram o alto potencial de eclosão dos ovos para ambas as origens e tratamentos na pré-diapausa.

O baixo índice obtido com a diapausa pode indicar dificuldades no controle da temperatura da geladeira (hibernação) e da umidade relativa na estufa (estivação) que afetaram negativamente o desenvolvimento dos embriões, ocasionando mortes.

Embora, nesse experimento, tenha-se associado estivação de 35 dias e hibernação de 65 dias que, segundo DIERCKX (1994a,b), produziram a mais elevada porcentagem de eclosão, para diapausa com estivação e hibernação variáveis, não se conseguiu obter aqui as mesmas porcentagens de eclosão.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos concluiu-se que:

1. Os tratamentos químicos, na fase de pré-diapausa, aumentaram a taxa de eclodibilidade dos ovos do bicho-da-seda em cerca de 4 vezes, em comparação com a diapausa.

2. O tratamento químico a quente promoveu maior número médio de larvas nascidas, embora não tenha, estatisticamente, diferido do tratamento químico a frio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, O.C. Preparo técnico de ovos de bicho-da-seda, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 1971. 108p.
- ANDREWARTH, H.G. & BIRCH, L.C. The distribution and abundance of animals. Chicago, IL, University of Chicago Press, 1954. 782p.
- DIERCKX, S.M.A.G. Pesquisa sobre as variações de estivação e hibernação, em ovos de bicho-da-seda, em diapausa e tratados com ácido clorídico. Vet. e Zoot., São Paulo, 6:161-66, 1994a.
- _____. Eclodibilidade de ovos de bicho-da-seda, sob condições de estivação e hibernação variáveis e tratamento químico com HCl, em diapausa. Vet. e Zoot., São Paulo, 6:147-59, 1994b.
- EUCLYDES, R.F. Manual de Utilização do Programa. SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), Viçosa, MG, CPD-UFV, 1988. 82p.
- FONSECA, A.S. & FONSECA, T.C. Cultura da Amoreira e Criação do bicho-da-seda. Sericicultura, Nobel. 1988. 246p.
- KOBAYASHI, J.; HIRO YASU, E.; MASAHIKA, K.; NARUMI, J. Effect of photoperiod in the tropical races of the silkworm, *Bombyx-mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 55(4):322-28, 1986a.
- _____; _____; _____ & _____. Effect of temperature on the diapause egg production in the tropical races of the silkworm, *Bombyx-mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 55(4):343-48, 1986b.
- MOROHOSHI, S. Physiological genetics at individual level. In: TANAKA J. Silkworm genetics. Shokabo, Tokyo, 1952. p.418-50.
- NAGATOMO, T. Genetic studies on the silkworm *Bombyx-mori*. Bull. Fac. Agric. Kago Shima Univ., 2:1-70, 1953.
- OKINO, I. Manual de Sericicultura. Bauru, SP, DIRA, 1992. 80p.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBINI, D. & VILA NOVA, N.A. Manual de Ecologia dos insetos. São Paulo, Agronômica Ceres, 1976. 420p.
- WATANABE, K. Studies on the voltinism in the silkworm, *Bombyx-mori*. I Inheritance of bivoltine vs. quadrivoltine. Bull. Seric., Sta Jap., Ibiraki, 3:397-437, 1918.
- WIGGLESWORTH, V.B. Fisiologia de los insectos. Editorial Acriba, 1978, 157p.