



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BEATRIZ BIANCHINI

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA
ISOLADA DE SOJA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA
NA MORFOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO DO BICHO-
DA-SEDA (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758)**

Londrina – Paraná
2025

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

BEATRIZ BIANCHINI

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA
ISOLADA DE SOJA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA
NA MORFOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO DO BICHO-
DA-SEDA (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758)**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Sheila Michele Levy

**Londrina – Paraná
2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

B472 BIANCHINI, BEATRIZ .
EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA MORFOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO DO BICHO-DA-SEDA (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758). / BEATRIZ BIANCHINI.
- Londrina, 2025.
37 f. : il.

Orientador: SHEILA MICHELE LEVY.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, 2025.
Inclui bibliografia.

1. SEDA - TCC. 2. SERICICULTURA - TCC. 3. SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR - TCC. I. LEVY, SHEILA MICHELE. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 574

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sheila Michele Levy

Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade

Me. Renata Baldo R. Carvalho

Londrina, 8 de dezembro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me manter em pé.

À minha mãe, Regiane, por apoiar todas minhas decisões e por ter feito tudo para facilitar minha rotina, mesmo estando tão cansada quanto eu. O café na xícara, as frutas cortadas, a comida quente após um dia cansativo e um colo de mãe sempre que precisei.

Ao meu pai, Valdemir, pelo apoio, pelo esforço e por todo auxílio.

Aos dois, por terem priorizado minha educação e oferecido as condições necessárias para chegar até aqui. Espero poder recompensar tudo que fizeram por mim. Sem vocês, mãe e pai, eu não seria nada.

Às minhas irmãs, Gabriely e Nathalia, pelo apoio e por serem meu espelho e inspiração.

Às minhas amigas, Alana, Mariana, Mellyssa e Thamires, por terem compartilhado esse fardo comigo e tornado o caminho muito mais leve.

À minha orientadora, Sheila, por me acolher e estar sempre disponível para me ajudar e ensinar.

Às técnicas do laboratório de Insetos, Renata e Andreia, pela ajuda.

A todos os professores, em especial à Virginia.

À Banca avaliadora.

À Universidade Estadual de Londrina, por ter sido minha segunda casa.

Muito obrigada!

BIANCHINI, Beatriz. **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA MORFOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO DO BICHO-DA-SEDA (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758)**. 2025. 37 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2025.

RESUMO

A sericicultura envolve a criação do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), o cultivo da amoreira e a obtenção de fios a partir dos casulos, sendo uma atividade de destaque no Brasil. As larvas produzem seda pelas glândulas sericígenas para formação do casulo, estrutura que garante proteção e controle térmico. Durante o estágio larval, se alimentam exclusivamente de folhas de amoreira, cuja qualidade está relacionada ao desenvolvimento das larvas e à produtividade da seda. Diversos fatores podem causar alterações no teor proteico das folhas, afetando o desenvolvimento larval. Nesse contexto, a suplementação alimentar surge como alternativa. A adição de proteína de soja tem sido associada à melhora do desenvolvimento larval e ao aumento da produção de seda. Além disso, nanopartículas de prata podem favorecer a absorção de nutrientes. A combinação entre proteína e nanopartículas apresenta potencial para otimizar a taxa de conversão de seda. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação com proteína isolada de soja e nanopartículas de prata, individualmente e em associação, na morfologia do intestino médio de larvas de *B. mori*. As larvas suplementadas, especialmente no grupo tratado com 20% de proteína isolada de soja e 45 mg/L de nanopartículas de prata, apresentaram hipertrofia das células caliciformes, espessamento da borda estriada e intensa liberação de protusões citoplasmáticas. Esses resultados sugerem uma adaptação morfofisiológica para ampliar a superfície de contato, indicando maior eficiência na digestão e absorção de nutrientes. Conclui-se que, nas concentrações testadas, a suplementação mostrou-se benéfica. Entretanto, são necessários estudos complementares para aprofundar a compreensão dos efeitos observados.

Palavras-chave: Seda. Sericicultura. Suplementação alimentar.

BIANCHINI, BEATRIZ. **EFFECTS OF SUPPLEMENTATION WITH ISOLATED SOY PROTEIN AND SILVER NANOPARTICLES ON THE MIDGUT MORPHOLOGY OF THE SILKWORM.** 2025. 37 pgs. Final Dissertation (Biological Sciences Undergraduation) – Londrina State University. Londrina. 2025.

ABSTRACT

Sericulture involves the rearing of the silkworm (*Bombyx mori*), the cultivation of mulberry, and the production of threads from cocoons, being an activity of prominence in Brazil. The larvae produce silk through the sericigenous glands for cocoon formation, a structure that ensures protection and thermal control. During the larval stage, they feed exclusively on mulberry leaves, whose quality is related to larval development and silk productivity. Several factors can cause changes in the protein content of the leaves, affecting larval development. In this context, dietary supplementation emerges as an alternative. The addition of soy protein has been associated with improved larval development and increased silk production. In addition, silver nanoparticles may favor nutrient absorption. The combination of protein and nanoparticles has the potential to optimize the silk conversion rate. This study evaluated the effects of supplementation with isolated soy protein and silver nanoparticles, individually and in association, on the morphology of the midgut of *B. mori* larvae. The supplemented larvae, especially in the group treated with 20% isolated soy protein and 45 mg/L silver nanoparticles, showed hypertrophy of goblet cells, thickening of the brush border, and intense release of cytoplasmic protrusions. These results suggest a morphophysiological adaptation to increase the contact surface, indicating greater efficiency in digestion and nutrient absorption. It is concluded that, at the tested concentrations, supplementation proved to be beneficial. However, complementary studies are needed to deepen the understanding of the observed effects.

Keywords: Dietary Supplementation. Sericulture. Silk.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Importância da Sericicultura.....	3
2.2 Aspectos biológicos de <i>B. mori</i>	3
2.3 Dieta alimentar.....	4
2.4 Suplementação.....	5
2.5 Morfologia do intestino médio.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Grupos experimentais e tratamentos alimentares.....	9
3.2 Síntese das nanopartículas de prata.....	10
3.3 Análise histológica.....	10
4. RESULTADOS.....	13
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS	26

1. INTRODUÇÃO

A sericultura envolve a criação do bicho-da-seda (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758), o cultivo da amoreira para alimentação e a obtenção de fios a partir dos casulos, é de grande destaque no Brasil (Aveiro, 2011). As larvas produzem os fios de seda por meio das glândulas sericígenas, utilizando-os para formação do casulo, essencial nessa etapa do ciclo de vida, pois exerce funções de controle térmico e de proteção contra predadores (Takahashi *et al.*, 2009; Hao *et al.*, 2021).

O estágio larval é o único período em que o animal se alimenta e sua alimentação é composta por folhas de amoreira (*Morus* sp.), assim, o êxito da sericultura está relacionado à qualidade das folhas, visto que devem suprir a demanda nutricional do inseto (Miranda *et al.*, 2002; Okamoto; Rodella, 2006). Práticas de manejo, tipos de solo, deriva de agrotóxicos e alterações climáticas afetam o cultivo da amoreira e podem interferir na nutrição e no desenvolvimento das larvas. (Zanetti, 2003). Nesse sentido, mudanças na composição de proteína das folhas podem afetar a produção de seda (Takahashi *et al.*, 2009).

Diante disso, a suplementação alimentar surge como uma alternativa promissora. A adição de proteínas na dieta das larvas, como a proteína de soja, tem se mostrado eficaz ao beneficiar o desenvolvimento larval e contribuir para o aumento da produtividade dos fios de seda (Aguiar, 2022; Marchi, 2024). Ademais, a adição de nanopartículas no tratamento alimentar, como as nanopartículas de prata, pode intensificar a absorção de nutrientes, resultando em fibras com propriedades de resistência aprimoradas e, portanto, melhor qualidade da seda (Cheng *et al.*, 2017). Ainda, a fonte proteica associada às nanopartículas pode potencializar esses resultados (Marchi, 2024).

A análise histológica do intestino médio é fundamental para compreender os efeitos dietéticos em nível celular. Alterações na arquitetura epitelial constituem os primeiros indicadores fisiológicos de resposta a novos compostos, permitindo identificar mecanismos de adaptação ou toxicidade antes que se manifestem em métricas macroscópicas de produção.

Considerando isso, este trabalho propôs a hipótese de que a adição de proteína isolada de soja e nanopartículas de prata na alimentação, administrada individualmente ou em associação, promove alterações morfológicas nas células do intestino médio do bicho-da-seda, contribuindo para o desenvolvimento do inseto e, conseqüentemente, para a produção do fio de seda. Assim, pretende-se garantir uma nutrição mais eficiente e segura, promovendo melhorias na qualidade e quantidade de seda produzida, além de fomentar o avanço da nanotecnologia aplicada à sericultura, beneficiando tanto a ciência quanto o setor produtivo.

Dessa forma, os objetivos foram analisar os efeitos da suplementação alimentar na morfologia do intestino médio de larvas do bicho-da-seda, investigar alterações no epitélio intestinal resultantes da adição de suplementação em diferentes concentrações e comparar os efeitos das suplementações testadas, de maneira individual e combinada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da Sericicultura

O Brasil, sendo o único produtor de seda do Ocidente, em 2019 produziu 3 mil toneladas, o que representa 0,45% da produção mundial (FAOSTAT, 2021). Ademais, a seda brasileira se destaca pela qualidade e cor, o fio produzido no Brasil é cerca de duas vezes maior que o produzido na China e possui a coloração mais branca do mundo (Deral, 2021).

A Bratac Seda, que possui uma unidade instalada em Londrina-PR, destaca-se como a única empresa responsável pela fabricação de fios de seda em escala industrial no Ocidente. Assim, o Paraná é reconhecido por ser o maior produtor nacional, visto que produz 2,2 mil toneladas por ano, correspondendo a 83,9% da produção brasileira e 98% do material é exportado, principalmente para a Europa. (Adapar, 2021). Nesse contexto, é evidente a importância da sericicultura para a economia do Paraná, do Brasil e do mundo.

2.2 Aspectos biológicos de *B. mori*

O bicho-da-seda (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758) é um inseto holometábolo da ordem Lepidoptera e família Bombycidae, cujo ciclo de vida compreende as fases de ovo, larva com cinco instares, crisálida ou pupa e adulto (Brancahã, 2005). Amplamente utilizado e de grande relevância econômica, o bicho-da-seda é considerado um bom modelo biológico devido ao ciclo de vida curto, manejo simples e baixo custo, além de possuir genoma sequenciado e genes homólogos aos humanos, o que o torna promissor para pesquisas em áreas como genética, nutrição e biotecnologia (Ashraf *et al.*, 2023).

A criação do inseto depende do ser humano para ocorrer, tendo em vista que o inseto sofreu total domesticação, tornando-se incapaz de realizar a busca por alimento e reprodução de maneira selvagem. Em sua fase adulta, apresenta asas e aparelho bucal atrofiados, impedindo a sobrevivência em condições naturais (Dong *et al.*, 2017). Dessa forma, o manejo adequado torna-se fundamental, uma vez que exerce impacto direto sobre as práticas sericícolas.

O desenvolvimento do inseto inclui a formação de um casulo composto por fios de seda para proteção contra predação e fatores climáticos, aumentando as chances de sobrevivência do inseto (Takahashi *et al.*, 2009). A fibra da seda é produzida pelas glândulas sericígenas, ali são sintetizados e secretados filamentos das proteínas fibroína e sericina, o material líquido é expelido pela fiandeira e se solidifica em contato com o ar (Hardy *et al.*, 2008). Com o crescimento larval, as glândulas sofrem hipertrofia, resultando no aumento da atividade secretora e conseqüentemente, da produção de seda (Hao *et al.*, 2021).

O estudo da morfologia é relevante, pois, ao término do 5º instar, o inseto interrompe a ingestão de alimento e inicia a formação do casulo, etapa que antecede sua transição para pupa e, posteriormente, para a fase adulta, período em que sua atividade passa a ser exclusivamente reprodutiva. Seu ciclo de vida completo pode durar cerca de 50 dias, sendo o estágio larval o mais prolongado, com duração aproximada de 28 dias (Hanada; Watanabe, 1986; Takahashi *et al.*, 2009).

2.3 Dieta alimentar

O bicho da seda é um inseto monófago, que se alimenta exclusivamente de folhas frescas de amoreira de maneira contínua até o encasulamento, exigindo assim, uma grande demanda por folhas da planta (Okamoto; Rodella, 2006). No Brasil são

cultivadas três variedades principais de amoreira: Tailandesa, Miura e Taichi, do gênero *Morus* e família Moraceae. De maneira geral, as folhas suprem as necessidades nutricionais básicas da larva, tornando o cultivo de amoreira um fator de grande relevância para o êxito da sericicultura. (Takahashi *et al.*, 2009).

Diversos fatores podem interferir no desenvolvimento do bicho-da-seda, sendo a composição nutricional das folhas de amoreira um dos fatores de maior impacto. Essa composição pode ser alterada em função de tipos de solo, práticas de manejo, estações do ano, deriva de agrotóxicos e alterações climáticas, que impactam o cultivo da amoreira e conseqüentemente, podem afetar a nutrição e o desenvolvimento do inseto. Nesse sentido, alterações na composição de proteínas das folhas podem interferir na qualidade e quantidade de seda, considerando que o casulo é formado predominantemente por proteínas (Zanetti, 2003; Takahashi *et al.*, 2009; Rahmathulla; Suresh, 2012).

2.4 Suplementação

A adição de suplementos demonstra ser uma estratégia eficaz utilizada para agregar valor nutricional à dieta do bicho-da-seda, os efeitos de diferentes suplementos alimentares têm sido amplamente estudados (Amala; Ranjith, 2011; Brahma *et al.*, 2018; Shahzadi *et al.*, 2022).

Conforme descrito por Thangapandiyan e Dharanipriya (2019), um casulo mais volumoso e de melhor qualidade pode ser obtido através do enriquecimento das folhas de amoreira com nutrientes adicionais. De maneira semelhante, a utilização de dieta artificial resultou em elevada produção de seda (Saviane *et al.*, 2014).

Diversos estudos mostram os benefícios da suplementação utilizando aminoácidos e proteínas. Nicodemo *et al.* (2014), ao utilizarem os aminoácidos

treonina e valina, verificaram aumento no rendimento da seda e melhorias nas propriedades mecânicas dos fios. Além disso, a adição proteica na dieta tem mostrado efeitos positivos sobre o desenvolvimento larval e na otimização da síntese de fios de seda. Marchi (2024) verificou que a suplementação com proteína isolada de soja resultou em aumento do peso larval e peso do casulo, maior taxa de conversão de seda, além de reduzir a duração do estágio larval. Esta diminuição também foi observada por Aguiar (2022), utilizando proteína isolada de soja.

Trabalhos recentes evidenciam o uso potencial de nanopartículas em áreas como a medicina e agricultura (Barani, *et al.*, 2021; Bouhaudi, *et al.*, 2025). Com diâmetro entre 1nm e 100nm, as nanopartículas podem ser obtidas a partir de diversos materiais. Avaliar o comportamento deste material para aplicação segura, evitando efeitos citotóxicos, ainda constitui o principal desafio na sua utilização (Paramo *et al.*, 2020).

Com destaque para as nanopartículas de prata, apresentam liberação iônica contínua, são capazes de atuar como agentes antimicrobianos (Bapat *et al.*, 2018) e auxiliam na absorção de nutrientes (Thangapandiyan; Dharanipriya, 2019), podendo trazer benefícios quando incorporadas à dieta de *B. mori*.

A utilização das nanopartículas de prata em combinação com outros suplementos alimentares demonstra efeitos sinérgicos, aumentando o rendimento de casulos e melhorando a produção do fio de seda, de acordo com Thangapandiyan e Dharanipriya (2019) no estudo de larvas suplementadas com nanopartículas de prata e spirulina, que é uma cianobactéria de alto valor nutricional, destacando-se pelo elevado teor de proteínas. Resultados semelhantes foram observados por Marchi (2024), utilizando nanopartículas de prata e proteína isolada de soja no tratamento alimentar de *B. mori*.

Tendo em vista a importância econômica da sericicultura, demonstra-se essencial investigar efeitos da suplementação na dieta de *B. mori*, bem como compreender como alterações na alimentação podem afetar o desenvolvimento larval e a produção sericígena. Para compreender como essa suplementação atua no organismo do inseto, é necessário investigar o epitélio intestinal, que constitui o principal local de interação entre os nutrientes e o metabolismo animal.

2.5 Morfologia do intestino médio

O tubo digestivo de *B. mori* ocupa a maior parte de seu corpo e é dividido em três partes: intestino anterior, médio e posterior. A digestão e assimilação dos alimentos ocorrem predominantemente no intestino médio, que representa o segmento mais ativo do sistema digestório e regula a atividade de vários outros processos fisiológicos (Billingsley; Lehane, 1996). Em virtude disso, diversos estudos envolvendo diferentes ordens de insetos têm utilizado a região média do intestino como modelo para pesquisas relacionadas à absorção alimentar, bem como à ação de vírus, toxinas e inseticidas (Marchi, 2024; Brooks *et al.*, 2002; Silva, 2017; Cruz, 2010).

Em larvas de lepidópteros o intestino médio é composto pela membrana peritrófica, camada epitelial e camada muscular. O epitélio é pseudoestratificado colunar, com 3 tipos celulares principais: células colunares, células caliciformes e células regenerativas. Esses tipos celulares possuem características diferentes quanto à morfologia e função (Levy *et al.*, 2004; Cavalcante; Cruz-Landim, 1999).

Abundantes no intestino médio, as células colunares possuem borda estriada com microvilosidades na superfície apical, projeções citoplasmáticas e núcleo alongado (Billingsley; Lehane, 1996). Estas células estão envolvidas na absorção de produtos da

digestão e secreção de enzimas digestivas e da membrana peritrófica (Terra; Ferreira, 2005; Casartelli *et al.*, 2001).

A membrana peritrófica, produzida pelas células colunares, é uma camada acelular fina que divide o lúmen em espaço endoperitrófico, que contém o alimento em digestão, e espaço ectoperitrófico, contendo enzimas e substâncias em assimilação. Desempenha as funções de proteção do epitélio contra abrasão de partículas alimentares e entrada de microrganismos, além de regular a permeabilidade para enzimas e produtos da digestão (Terra, 2001; Wang; Granados, 2001; Gallo *et al.*, 2002).

As células caliciformes apresentam invaginações na membrana plasmática apical, formando uma cavidade em formato de cálice, cujo interior é revestido por projeções citoplasmáticas semelhantes a microvilosidades, contendo núcleo basal e mitocôndrias. Estas células atuam na homeostase iônica e na absorção de metabólitos. (Billingsley; Lehane, 1996; Chapman, 2012; Gül *et al.*, 2001).

As células regenerativas possuem citoplasma e organelas escassas, núcleo central e localizam-se na base do epitélio, geralmente agrupadas em ninhos. Exercem papel essencial na renovação epitelial, contribuindo para a manutenção da integridade do intestino médio ao repor continuamente as células degeneradas. (Cavalcante; Cruz-Landim, 1999; Levy *et al.*, 2004; Chapman, 2012). Sua morfologia e quantidade podem variar conforme as fases do ciclo de vida (Terra, 2001).

O epitélio apoia-se sobre uma membrana basal contínua de origem conjuntiva e sobre uma camada muscular, formada por músculos longitudinais e circulares. A contração coordenada dessa musculatura mantém o conteúdo alimentar em movimento, facilitando o processo digestivo e gerando os movimentos peristálticos (Gallo *et al.*, 2002).

3. Material e métodos

As etapas de criação, suplementação e síntese das nanopartículas de prata foram conduzidas por pesquisadores do Laboratório de Citogenética e Entomologia Molecular (LACEM), da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Após as etapas já descritas, este trabalho teve como continuidade a etapa de análise histológica.

Todos os procedimentos morfológicos foram realizados no Laboratório de Insetos do Departamento de Histologia da UEL, no período de março a outubro de 2025.

3.1 Grupos experimentais e tratamentos alimentares

Neste estudo foram utilizadas 684 larvas de *Bombyx mori* de linhagem híbrida (japonesa e chinesa), disponibilizadas pela Fiação de Seda Bratac S.A., Londrina-Paraná. As lagartas selecionadas encontravam-se no início do quarto ínstar, apresentando tamanho e peso semelhantes, e foram distribuídas em seis grupos, contendo 114 indivíduos, com base nas suplementações oferecidas.

O grupo controle foi alimentado com folhas frescas de amoreira (*Morus alba* L.) borrifadas com 10 ml de água filtrada. O grupo nanopartícula de prata (AgNPS) recebeu folhas frescas de amoreira pulverizadas com 10 ml de nanopartículas de prata a 45 mg/L de concentração, os grupos proteína isolada de soja 10% (SOY10) e proteína isolada de soja 20% (SOY20) receberam folhas frescas de amoreira acrescidas de solução de *soy protein* nas concentrações 0,1g de soy + 10ml de água filtrada e 0,2g de soy + 10 ml de água filtrada, respectivamente. Os grupos de associação entre nanopartícula de prata e proteína isolada de soja 10% (AgSOY10) e proteína isolada de soja 20% (AgSOY20) receberam, de modo respectivo, folhas frescas de amoreira suplementadas com soluções de 0,1g de soy + 10 ml de

nanopartículas a 45mg/L e 0,2g de soy + 10 ml de nanopartículas a 45mg/L.

A criação das larvas seguiu um método padrão, mantidas em sala de criação, sob condições controladas de umidade ($\pm 75\%$ UR), fotoperíodo (12h claro /12h escuro) e temperatura ($\sim 26^{\circ}\text{C}$). Cada tratamento foi subdividido em três bandejas plásticas, totalizando três lotes por grupo, com 38 indivíduos por bandeja. As bordas das bandejas foram cobertas com tecido de tule, permitindo ventilação adequada e evitando a entrada de outros insetos. A alimentação foi administrada três vezes ao dia com folhas frescas de amoreira e soluções de acordo com cada grupo experimental, utilizando-se quantidades de folhas de amoreira determinadas conforme Takahashi *et al.* (2009), até o encasulamento. A higienização das bandejas e a remoção dos resíduos fecais foram efetuadas diariamente, no início da manhã, antes da primeira alimentação.

3.2 Síntese das nanopartículas de prata

As nanopartículas de prata foram sintetizadas utilizando 90 mg de nitrato de prata (AgNO_3) em um erlenmeyer com 500 mL de água tridestilada. A solução foi aquecida até atingir a ebulição. A esta solução foi adicionado 10 mL de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) a 1%, gradualmente e sob agitação vigorosa. Após 40 minutos, o aquecimento foi cessado e a solução agitada por mais 90 minutos para resfriamento a temperatura ambiente. Ainda, o volume foi corrigido para 500 mL com a adição de água tridestilada.

3.3 Análise histológica

Ao final do 5° instar foram selecionadas 12 lagartas de cada grupo, totalizando 72, para retirada do material biológico (intestino) e confecção das lâminas histológicas.

Os insetos foram dissecados e o intestino fixado em solução de Karnovsky, desidratado e mantido em álcool 70% até a inclusão, conforme protocolo desenvolvido pelo Laboratório de Insetos do Departamento de Histologia

O material foi incluído em historresina Leica® conforme as seguintes etapas:

- Álcool etílico 95% (2 horas);
- Resina básica + álcool 95% 1:1 (4 horas);
- Resina básica + ativador 1 bag de ativador para cada 50 mL de resina (24 horas);

Para a confecção dos blocos, o material foi acondicionado em moldes de polietileno e adicionada a solução de infiltração (resina básica + ativador) acrescida de endurecedor, na proporção de 1 g de endurecedor para cada 15 mL da solução, mantendo-se à temperatura ambiente até a completa polimerização.

Os blocos foram submetidos a cortes com espessura de 4 µm em micrótomo semiautomático modelo RM 2145 Leica®.

Os cortes obtidos foram colocados em lâminas de vidro e corados por Hematoxilina e Eosina (HE), seguindo o seguinte protocolo:

- Água destilada (5 minutos);
- Hematoxilina de Harris em estufa (30 minutos);
- Água corrente (5 minutos);
- Eosina aquosa de Lison em estufa (35 minutos);
- Três banhos em água destilada;
- Dez banhos em álcool 95%;
- Dez banhos em álcool 100%;
- Xilol I (10 minutos);
- Xilol II (10 minutos).

Após a coloração, as lâminas foram montadas com bálsamo do Canadá e recobertas por lamínulas de vidro e foi feita a análise morfológica das estruturas em fotomicroscópio de luz modelo Axiophot da Zeiss, buscando observar possíveis alterações decorrentes das suplementações oferecidas, seguindo critérios como integridade tecidual, padrão morfológico do epitélio intestinal e produção de secreção.

Para a classificação da intensidade das alterações, estabeleceram-se os seguintes escores: (-) ausência de alteração em relação ao controle; (+) alteração leve, presente em até 25% dos campos; (++) alteração moderada, em até 50% dos campos; e (+++) alteração intensa, observada na maioria dos campos histológicos analisados.

Não foram realizadas análises quantitativas.

4. RESULTADOS

No grupo controle, o intestino médio apresenta um epitélio pseudoestratificado colunar, com borda estriada e composto principalmente por células colunares e caliciformes. A camada epitelial é revestida pela membrana peritrófica, separando o epitélio do conteúdo intestinal e dividindo o lúmen em espaço ectoperitrófico e endoperitrófico. Abaixo do epitélio foi observada a camada muscular composta por músculos circulares e longitudinais. Também foram observadas ramificações da traqueia (Figura 1).

Essa organização do intestino médio é semelhante às descrições apresentadas para a maioria das larvas de Lepidoptera em diversos estudos (Billingsley; Lehane, 1996; Gallo *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2004).

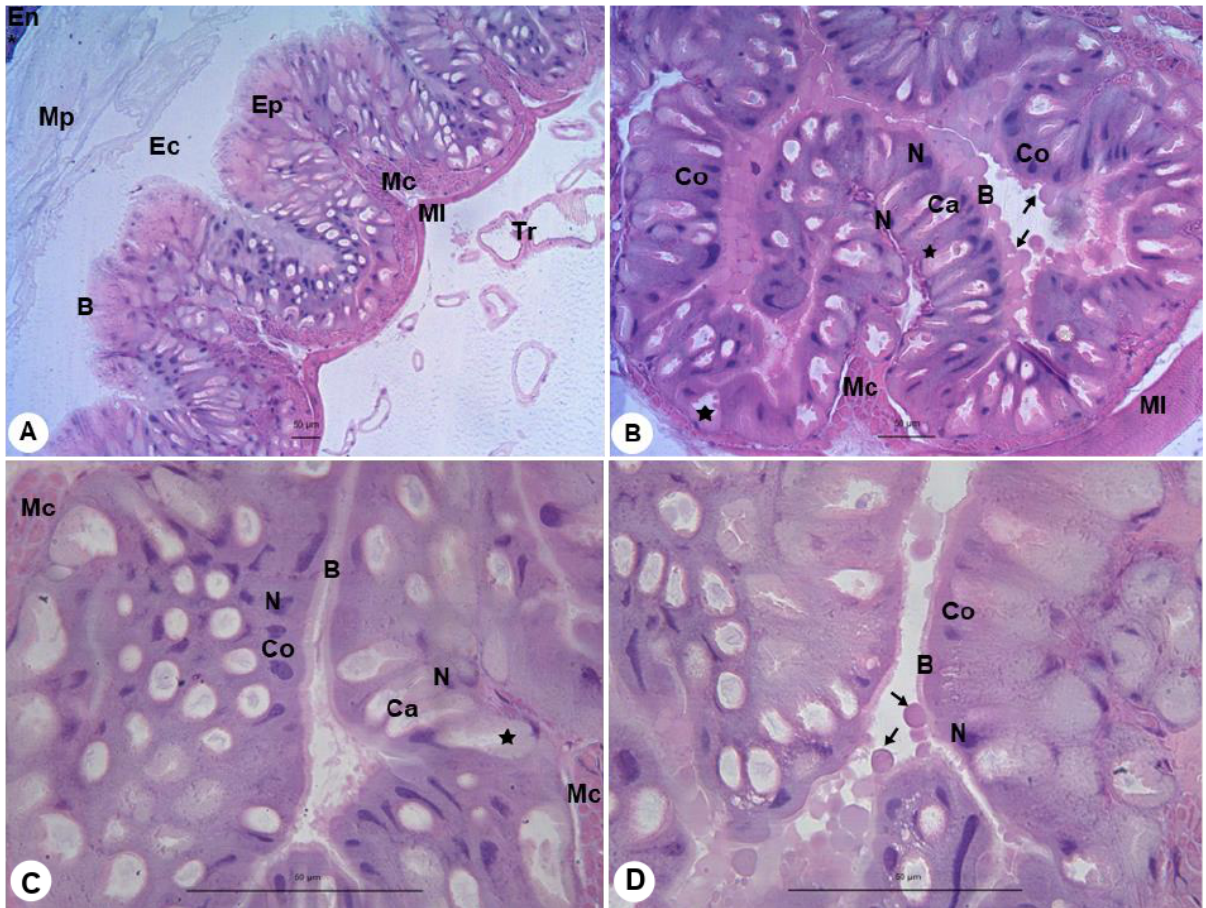


Figura 1 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* sem adição de suplemento alimentar (CONTROLE), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B 10x; C e D 40x.

Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp); espaço ectoperitrófico (Ec) e espaço endoperitrófico (En) com conteúdo alimentar (*). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Barra= 50µm.

O grupo SOY10, quando comparado ao controle, nas células colunares apresentou uma borda estriada mais desenvolvida e maior volume de protusões citoplasmáticas, e um aumento de células caliciformes (Tabela 1. Figura 2).

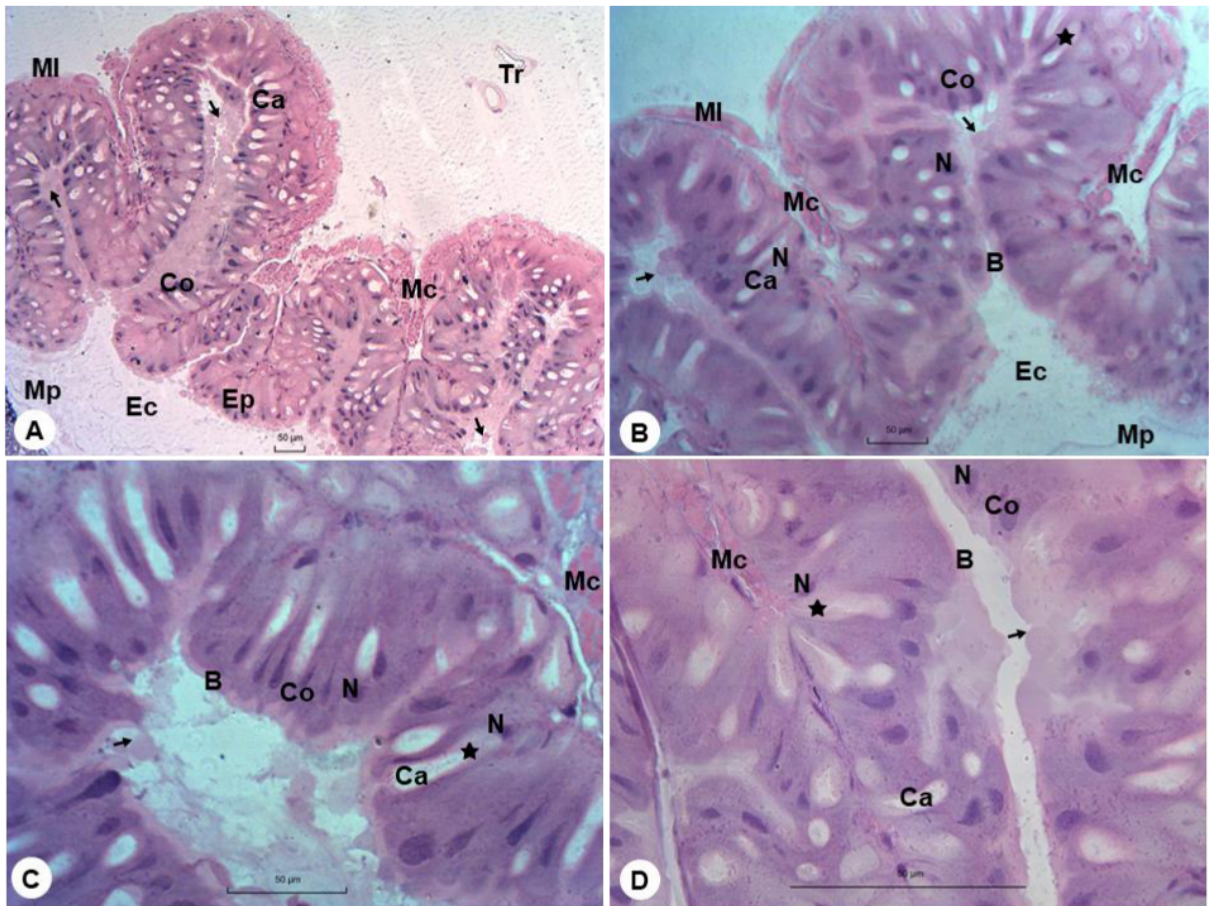


Figura 2 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* tratada com *soy protein* 10% (SOY10), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B 10x; C 20x; D 40x.

Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp) e espaço ectoperitrófico (Ec). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Barra= 50µm.

O tratamento com SOY20 mostrou uma intensificação no espessamento da borda e maior volume de protusões, em relação ao grupo SOY10. Além disso, observou-se que as células caliciformes aparentemente apresentaram aumento em quantidade, quando comparado os grupos controle e SOY10 (Tabela 1. Figura 3).

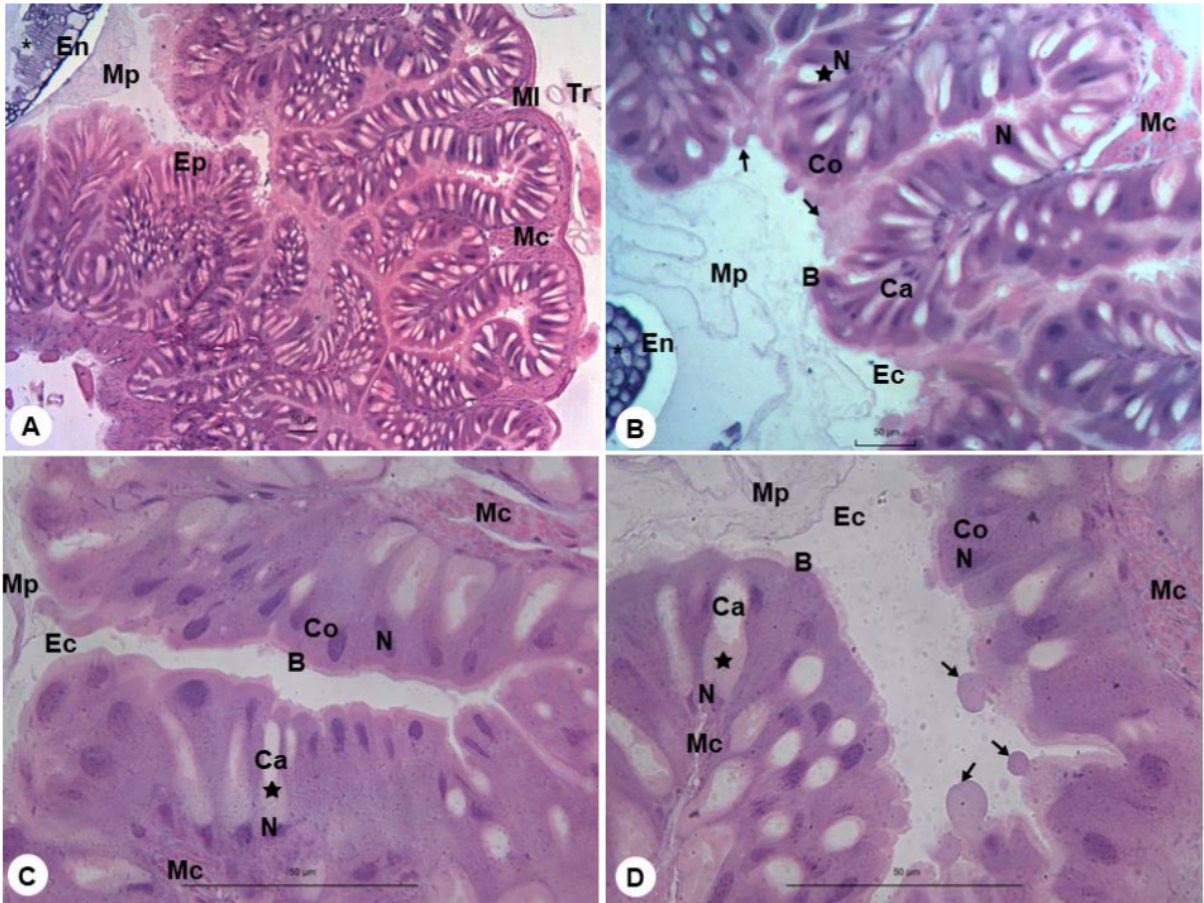


Figura 3 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* tratada com *soy protein* 20% (SOY20), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B 10x; C e D 40x.

Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp); espaço ectoperitrófico (Ec) e espaço endoperitrófico (En) com conteúdo alimentar (*). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Barra= 50µm.

O grupo tratado com AgSOY10 apresentou alterações similares ao grupo SOY20 nas células colunares e nas células caliciformes (Tabela 1. Figura 4).

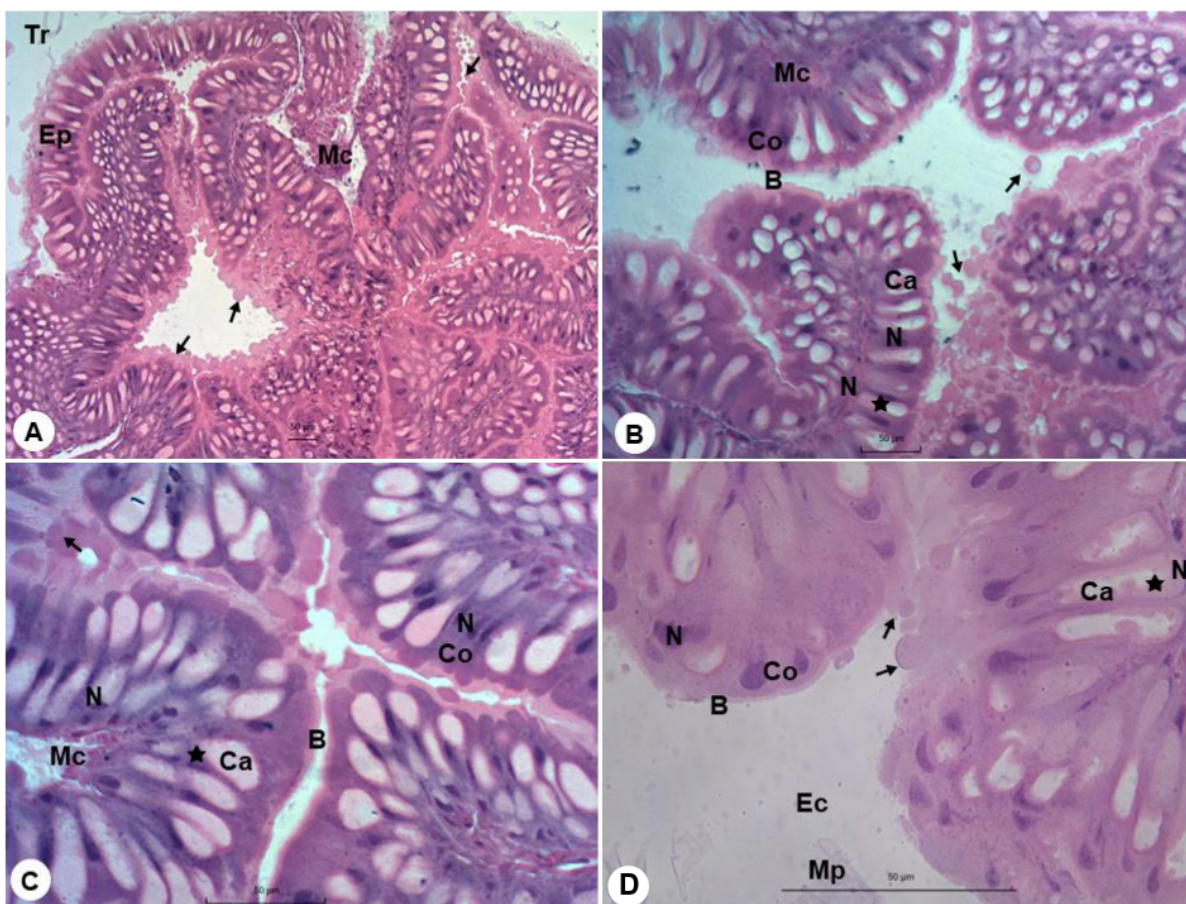


Figura 4 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* tratada com nanopartículas de prata e *soy protein* 10% (AgSOY10), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B 10x; C 20x; D 40x. Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp) e espaço ectoperitrófico (Ec). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Barra= 50µm.

A borda estriada no grupo AgSOY20 exibiu a alteração mais significativa, mostrando maior espessamento em comparação aos demais grupos. Também foi observada intensa liberação de protusões citoplasmáticas, semelhante aos grupos SOY20 e AgSOY10. Ainda nas células colunares, somente nesse grupo foi identificada vacuolização citoplasmática. Além disso, aparentemente houve um aumento significativo na quantidade de células caliciformes, assim como nos grupos SOY20 e AgSOY10. (Tabela 1. Figura 5).

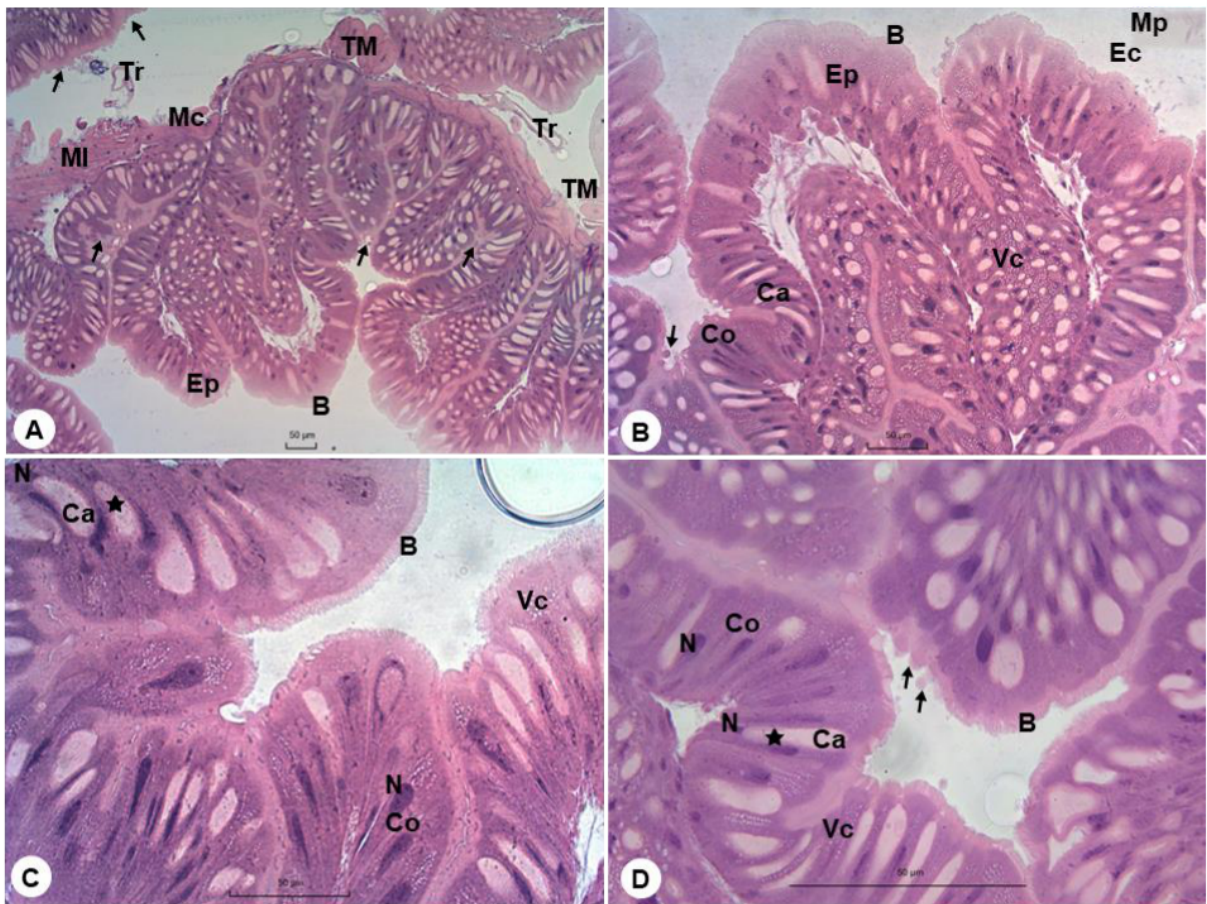


Figura 5 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* tratada com nanopartículas de prata e soy protein 20% (AgSOY20), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B 10x; C 20x; D 40x. Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp) e espaço ectoperitrófico (Ec). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B), vacuolizações (Vc) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Túbulos de Malpighi (TM). Barra= 50µm.

O tratamento com AgNPS apresentou alterações nas células colunares e caliciformes semelhantes às observadas no grupo SOY10 (Tabela 1. Figura 6).

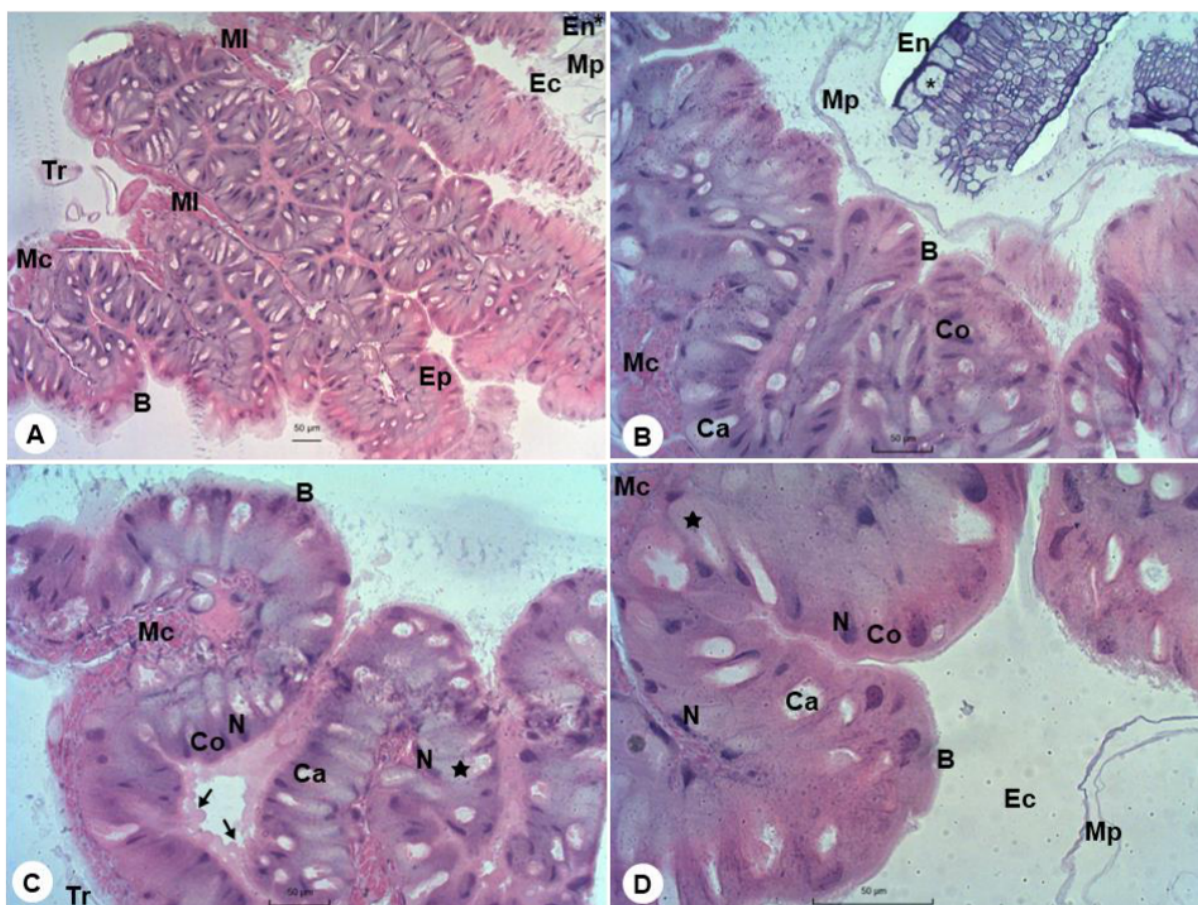


Figura 6 – Fotomicrografias do intestino médio de *Bombyx mori* tratada com nanopartículas de prata (AgNPS), ao microscópio de luz. Coloração H.E. Obj: A 5x; B e C 10x; D 20x.

Lúmen intestinal: membrana peritrófica (Mp); espaço ectoperitrófico (Ec) e espaço endoperitrófico (En) com conteúdo alimentar (*). Epitélio intestinal (Ep): células colunares (Co) com borda estriada (B) e protusões citoplasmáticas (→); células caliciformes (Ca) com borda acidófila (★) no interior da câmara em forma de cálice; núcleo (N); feixe de fibras musculares circular (Mc) e longitudinal (MI). Traqueia (Tr). Barra= 50µm.

A classificação da intensidade das alterações das estruturas do intestino médio de larvas submetidas aos tratamentos com proteína isolada de soja (P) e nanopartículas de prata (N) e suas respectivas concentrações em g e mg/L, estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Escores semiquantitativos das alterações morfológicas no intestino médio de larvas tratadas com proteína isolada de soja (P) e nanopartículas de prata (N) e suas concentrações em g e mg/L respectivamente.

Estruturas		Grupos experimentais					
		CONTROLE	SOY10	SOY20	AgSOY10	AgSOY20	AgNPS
		P: 0	P: 0,1	P: 0,2	P: 0,1	P: 0,2	P: 0
		N: 0	N: 0	N: 0	N: 45	N: 45	N: 45
Células	Borda Estriada	-	+	++	++	+++	+
Colunares	Protusões	-	+	++	++	++	+
	Vacuolização	-	-	-	-	+	-
Células	Caliciformes	-	+	++	++	++	+

Legenda: (-) Ausente; (+) Leve; (++) Moderada; (+++) Intensa.

5. DISCUSSÃO

De modo geral, as alterações morfológicas identificadas mostraram-se semelhantes entre os tratamentos, variando apenas em intensidade. Com destaque para as células colunares onde as alterações mais significativas estiveram presentes, principalmente nos grupos SOY20, AgSOY10 e AgSOY20.

Comparando-se os tratamentos SOY10 e AgSOY10, observou-se que a presença de nanopartículas possivelmente levou ao espessamento da borda estriada, ao aumento do volume de protusões liberadas e ao aumento do número de células caliciformes. A interação entre *soy protein* e nanopartículas pode ter exercido um efeito integrativo, contribuindo para a intensificação das alterações.

Ao comparar os tratamentos SOY20 e AgSOY20, a presença de nanopartículas aparentemente acentuou o espessamento da borda estriada, como descrito anteriormente nos SOY10 e AgSOY10. Do mesmo modo, as nanopartículas e *soy protein* em associação possivelmente apresentam um efeito sinérgico, visto que provocaram uma alteração mais intensa que os outros grupos experimentais quanto ao espessamento da borda e à presença de vacuolizações.

O espessamento da borda estriada foi mais acentuado em AgSOY20, em comparação aos demais tratamentos. Considerando que a borda estriada é constituída por microvilosidades, o espessamento dessa estrutura pode estar relacionado ao aumento da demanda absorptiva, indicando melhora nos processos de absorção e digestão. Em discordância, no estudo dos efeitos dos flavonoides rutina e genistina no intestino médio de *Anticarsia gemmatalis* suscetíveis e resistentes ao AgMNPV, Cruz (2010) mostra que alterações estruturais na borda estriada podem causar desorganização das microvilosidades e alterar o revestimento de glicocálice, prejudicando a camada de proteção e tornando as células mais suscetíveis à entrada

de microrganismos. Porém, acreditamos que no estudo de Cruz (2010) esse resultado pode ser atribuído à utilização de flavonoides.

De modo mais expressivo nos tratamentos SOY20, AgSOY10 e AgSOY20, quando comparados aos grupos controle, SOY10 e AgNPS, foi identificado o aparente aumento da quantidade de protusões citoplasmáticas liberadas, que pode estar associada ao aumento na atividade de secreção enzimática, sugerindo melhor absorção e digestão de nutrientes. Jarial (2005) relatou em *Cenocorixa bifida*, a ocorrência de protusões citoplasmáticas em grande quantidade na secreção enzimática. Um resultado semelhante também foi identificado no intestino médio de larvas de *Tenebrio molitor* por Cristofolletti *et al.* (2001), no qual a presença de protusões liberadas pelas células colunares seriam responsáveis pela secreção de enzimas digestivas como a tripsina e amilase.

De modo contrário, também pode ser um indício de degeneração celular. Conforme observado por Brooks *et al.* (2002) em lagartas de *Helicoverpa armigera*, a formação de protusões pode estar relacionada à exposição a materiais nocivos, funcionando como um mecanismo usado pelas células epiteliais para eliminar esses compostos. No entanto, essa interpretação não se aplica a este estudo, visto que não observamos grande quantidade de células regenerativas que indicasse um processo ativo de renovação celular. Assim, apontamos que tal resposta pode ser causada pela ação de agentes virais utilizados na pesquisa de Brooks *et al.* (2002).

O único grupo que apresentou intensa vacuolização citoplasmática nas células colunares foi AgSOY20. O conteúdo desses vazios citoplasmáticos não foi identificado, dificultando a determinação dos fatores associados a essa alteração. Embora a vacuolização possa estar associada a mecanismos de defesa celular ou à autofagia, não se pode descartar o acúmulo de reservas lipídicas ou de glicogênio em

resposta à dieta hiperproteica. A confirmação da natureza desses vacúolos exige análises histoquímicas, como por exemplo Sudan Black ou PAS, que não foram objeto deste estudo.

Os estudos de Rharrabe *et al.* (2007), que analisaram a ação de aleloquímicos beta-carbolinas no intestino médio de *Plodia interpunctella* e Cruz (2010), que investigou os efeitos dos flavonoides no intestino médio de *Anticarsia gemmatalis*, descreveram de maneira semelhante os possíveis efeitos citotóxicos causados pelos tratamentos nas células epiteliais e evidenciados pela presença de vazios citoplasmáticos. Entretanto, associamos esses efeitos aos compostos aleloquímicos beta-carbolinas e flavonoides utilizados nesses estudos.

Acentuadamente em SOY20, AgSOY10 e AgSOY20, em comparação aos outros grupos, foi possível notar células calciformes volumosas e em grande quantidade. Tendo em vista que as calciformes estão envolvidas na homeostase iônica e na absorção de metabólitos, é provável que os tratamentos tenham desencadeado maior exigência regulatória. Essas alterações também foram observadas por Cruz (2010) nas células calciformes em larvas de *A. gemmatalis*. Além disso, a grande quantidade de células pode ter provocado alcalinização do epitélio, alterando a coloração. Contudo, esses resultados requerem análises quantitativas, não realizadas neste estudo, para reafirmar as interpretações baseadas nas observações visuais.

Não foram observadas alterações na membrana peritrófica, espaços endoperitrófico e ectoperitrófico e camada muscular.

Não foi possível identificar células regenerativas. Essa observação é particularmente relevante, uma vez que, mesmo diante das alterações constatadas, os tratamentos não provocaram morte celular e não foi necessário aumento de

atividade mitótica para renovação do epitélio, sugerindo que as larvas reagiram positivamente à adição de suplementos e indicando que o desenvolvimento larval e a produção de seda não foram comprometidos.

De maneira complementar, Marchi (2024), ao investigar os efeitos da suplementação com proteína isolada de soja e nanopartículas de prata em larvas de *Bombyx mori*, porém com enfoque no desenvolvimento animal, expressão gênica e produção de casulos, observou que a adição da nanopartícula de prata pode favorecer a absorção de nutrientes, considerando que o grupo o grupo Ag, equivalente ao AgNPS neste estudo, foi o grupo que apresentou maior peso larval e maior peso de casulo. Apesar disso, não foi detectado aumento significativo da taxa de produção de seda nesse grupo. Já o tratamento que apresentou maior taxa de produção de seda (24,1%) foi S2Ag, equivalente ao AgSOY20, sendo o único com valor próximo ao do controle (24,5%). Em contraste, esse tratamento apresentou o menor consumo foliar entre todos os tratamentos. Além disso, não foi observada taxa de mortalidade significativa em nenhum dos tratamentos.

Assim como apontado neste estudo, Marchi (2024) afirma que a associação das nanopartículas de prata com a proteína isolada de soja em S2Ag apresentou um efeito sinérgico, potencializando a absorção proteica e conseqüentemente, favorecendo a produção de seda. Nossos resultados reforçam essa hipótese ao demonstrar alterações morfológicas, como o espessamento da borda estriada, que podem justificar a maior eficiência na conversão alimentar relatada pelo referido autor.

A literatura referente aos efeitos da adição de proteína isolada de soja e nanopartículas de prata sobre a morfologia do intestino médio, mais especificamente em *B. mori*, é escassa, o que limita a discussão aprofundada e dificulta a comparação direta dos resultados obtidos neste estudo com outros trabalhos.

6. CONCLUSÕES

De modo geral, o intestino médio das larvas tratadas com *soy protein* e nanopartículas de prata, isoladamente ou em associação, quando comparado ao grupo controle, apresentou alterações na camada epitelial, sobretudo nas células colunares.

É possível concluir que a suplementação induziu plasticidade fenotípica no epitélio intestinal, evidenciada por hipertrofia celular e aumento da superfície apical (borda estriada). Essas alterações morfofisiológicas indicam uma resposta adaptativa eficiente para maximizar a absorção de nutrientes. Embora a produção de seda não tenha sido mensurada diretamente neste trabalho, a integridade tecidual e a ausência de citotoxicidade severa sugerem que a suplementação com proteína isolada de soja e nanopartículas de prata é segura e benéfica nas concentrações testadas.

Contudo, há necessidade de realizar estudos adicionais contendo análises quantitativas, morfométricas e histoquímicas visando ampliar a compreensão sobre os efeitos da suplementação alimentar à base de proteína isolada de soja e nanopartículas de prata na morfologia do intestino médio e no desenvolvimento do bicho-da-seda.

REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Sericicultura: Adaptar atua para ampliar a fiscalização das ocorrências**. Disponível em: <https://www.adapar.pr.gov.br/Noticia/Sericicultura-Adapar-atua-para-ampliar-fiscalizacao-das-ocorrencias>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- AGUIAR, R. C. M. **Efeitos da suplementação proteica sobre a expressão de mRNA de genes relacionados à síntese de seda e o desenvolvimento de larvas de *Bombyx mori* L., 1758 (Lepidoptera: Bombycidae)**. 2022. 81 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.
- AMALA, R. G.; RANJITH, S. A. Probiotic supplementations to improve commercial characteristics, disease resistance and protein in the silkworm. **World Journal of Biological Research**, v. 4, n. 2, p. 12-25, 2011.
- ASHRAF, H.; QAMAR, A. O bicho-da-seda *Bombyx mori* como organismo modelo: uma revisão. **Entomologia Fisiológica**, v.48, n.4, p. 107-121. 2023.
- AVEIRO, A. V. D. SBRT. **Sericicultura: Criação de bicho-da-seda**. TECPAR, 2011. 30 p. Dossiê técnico. Disponível em: https://sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/SBRT/pdfs/4587_dossie.pdf. Acesso em: 20 mar. 2025.
- BAPAT, R. A., *et al.* An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. **Materials Science and Engineering: C**, v. 91, p. 881- 898, 2018.
- BARANI, M., *et al.* Nanotechnology in bladder cancer: diagnosis and treatment, **Cancers** 13, 2021. <https://doi.org/10.3390/cancers13092214>
- BILLINGSLEY, P. F.; LEHANE, M. J. Structure and ultrastructure of the insect midgut. *In*: LEHANE, M. J., BILLINGSLEY, P. F. **Biology of the Insect Midgut**. Londres: Chapman & Hall, p.3-30, 1996.
- BOUHAUDI, M., *et al.* Nanoparticles for Sustainable Agriculture: Assessment of Benefits and Risks. **Agronomy**. 2025. [://doi.org/10.3390/agronomy15051131](https://doi.org/10.3390/agronomy15051131)
- BRANCALHÃO, R. M. C. **Bicho-da-seda**. [S.l.], 2005.
- BRAHMA, U. R. *et al.* Impact of vitamin C & E supplementations on 5 thinstar larvae of CSR2XCSR4 silkworm *Bombyx mori* L. **Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences**. 4(6), 408- 414. 2018.
- BROOKS, M. E. *et al.* Infection of its lepidopteran host by the *Helicoverpa armigera* stunt virus (Tetraviridae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 80, p.97-111, 2002.
- CASARTELLI, M. *et al.* Multiple transport pathways for dibasic amino acids in the larval midgut of the silkworm *Bombyx mori*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** v.31, p. 621-632, 2001.

CAVALCANTE, V. M.; CRUZ-LANDIM, C. Types of cells present in the midgut of the insects: a review. **Naturalia**, v. 24, p. 19-40, 1999.

CHAPMAN, R. F. *et al.* **The Insects: Structure and Function**. 5. ed. Cambridge: Harvard University Press, 2012.

CHENG, L. *et al.* Characterization of silkworm larvae growth and properties of silk fibres after direct feeding of copper or silver nanoparticles. **Materials & Design**, v. 129, p. 125-134, 2017.

CRISTOFOLETTI, P.T. *et al.* Apocrine secretion of amylase and exocytosis of trypsin along the midgut of *Tenebrio molitor* larvae. **Journal of Insect Physiology**, v.47, p.143-155, 2001.

CRUZ, N. A. **Estudo Morfológico e Histoquímico do Intestino Médio de Larvas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) Suscetíveis e Resistentes ao AgMNPV Alimentadas com Genótipos de Plantas Resistentes a Insetos**. 2008/2009. 162 fls. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

DERAL. Departamento de Economia Rural do Paraná. **Prognóstico agropecuário sericicultura**. Sericicultura no Estado do Paraná – Relatório anual, 2021. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2022-01/seda.pdf. Acesso em: 01 mar. 2025.

Dong, H. L. *et al.* Metabolomics differences between silkworms (*Bombyx mori*) reared on fresh mulberry (*Morus*) leaves or artificial diets. **Scientific Reports**, v. 7, p. 16, 2017.

FAOSTAT. Principais países na produção de seda em 2019. **Organizações das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação**, 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/>. Acesso em: 05 mar. 2025.

GALLO, D. *et al.* **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ. v.10. 2002.

GÜL, N. *et al.* Study of Endocrine Cells in the Midgut of *Agrotis segetum* (Den. and Schiff.) (Lep.: Noctuidae). **Turk. J. Zool.**, v.25, p.193-197, 2001.

HAO, Z. *et al.* New insight into the mechanism of in vivo fibroin self-assembly and secretion in the silkworm, *Bombyx mori*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 473-479, 2021.

HANADA, Y.; WATANABE, J. K. **Manual de criação do bicho da seda**. Associação de Crédito e Assistência Rural do Paraná, Paraná (Brasil), 1986.

HARDY, J. G. *et al.* Materiais poliméricos baseados em proteínas da seda. **Polymer**, v.49, n.20, p. 4309–4327, 2008.

JARIAL, M. S. Electron microscopic study of the anterior midgut in *Cenocorixa bifida* Hung. (Hemiptera: Corixidae) with reference to its secretory function. **Zoological Science**, v.22, p.783-790, 2005.

LEVY, S. M. *et al.* The larval midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): light and electron microscopy studies of the epithelial cells. **J. Biol. Braz.**, v.64, p.1-6, 2004.

MARCHI, S. C. **Adição de proteína isolada de soja e nanopartículas de prata no tratamento alimentar do bicho-da-seda (*Bombyx mori*, Linnaeus, 1758) e sua influência na produção de casulos.** 2024. 68 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

MIRANDA, J.E. *et al.* Produção e qualidade de folhas de amoreira em função da época do ano e de colheita. **Scientia Agricola**, v.59, p.499-504, 2002.

NICODEMO, D. *et al.* Impact of different silkworm dietary supplements on its silk performance. **Journal of Materials Science**, v.49, p.6302-6310, 2014.

OKAMOTO, F.; RODELLA, R.A. Características morfo-anatômicas e bromatológicas de folhas de amoreira em relação às preferências do bicho-da-seda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.195-203, 2006.

PARAMO, Luis A. *et al.* Nanoparticles in agroindustry: Applications, toxicity, challenges, and trends. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1654, 2020.

RAHMATHULLA, V. K.; SURESH, H. M. Seasonal variation in food consumption, assimilation, and conversion efficiency of Indian bivoltine hybrid silkworm, *Bombyx mori*. **Journal of Insect Science**, v.12, n. 82, 2012.

RHARRABE, K. *et al.* Bioinsecticidal effect of hamaline on *Plodia interpunctella* development (Lepidoptera: Pyralidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.89, p. 137-145, 2007.

SILVA, I. H. S. da. **Interação da toxina Cry1ac de *Bacillus thuringiensis* às microvilosidades apicais das células colunares do intestino médio de *Helicoverpa armiger*, Hübner, 1805 (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes instares larvais.** 2017. 64 p. Tese (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

SAVIANE, A. *et al.* Rearing of monovoltine strains of *Bombyx mori* by alternating artificial diet and mulberry leaf accelerates selection for higher food conversion efficiency and silk productivity. **University of Bologna**, v. 67, n. 2, 2014.

SHAZADI, N. *et al.* An overview of sericulture and enhanced silk production in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) through artificial diet supplementation. **Punjab University Journal of Zoology**, v.37, n.1, p. 07-17, 2022.

TAKAHASHI, R. *et al.* **Sericicultura: uma promissora exploração agropecuária.** Jaboticabal: Funep, 2009.

TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Biochemistry of digestion. In: GILBERT, L.I.; IATROU, K.; GILL, S.S. (eds) **Comprehensive molecular insect science**, v.4. Elsevier Pergamon, Oxford, p.171–224, 2005.

TERRA, W. R. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v.47, n. 2, p.47-61, 2001.

THANGAPANDIYAN, S.; DHARANIPRIYA, R. Comparative study of nutritional and economical parameters of silkworm (*Bombyx mori*) treated with silver nanoparticles and Spirulina. **The Journal of Basic and Applied Zoology**, v. 80, n. 1, p. 1–12, 2019.

WANG, P.; GRANADOS, R. R. Molecular structure of the peritrophic membrane (PM): identification of potential PM target sites for insect control. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v.47, n.2, p.110-118, 2001.

ZANETTI, Ronald. **Sericicultura**. Lavras: UFLA. 50 p., 2003.