

ANEXO I – PLANO DE TRABALHO

O presente Plano de Trabalho é parte integrante do Acordo de Cooperação nº 01/2022, nº processo UEL 10512.2021.83.

Título do projeto	<i>Estudos biológicos e genéticos no bicho-da-seda Bombyx mori (Linnaeus, 1758)</i>
Resumo do projeto	<p>O Bicho-da-seda, <i>Bombyx mori</i> L., é um inseto de grande importância econômica, sendo a sua criação uma das atividades comerciais mais antigas da humanidade. Os fios de seda são extraídos a partir dos casulos produzidos pelo bicho-da-seda, o qual é domesticado há pelo menos 5 mil anos e depende inteiramente da intervenção humana para sua manutenção e reprodução. O fio de seda brasileiro tem ganhado notoriedade internacional pela excelente qualidade e é considerado atualmente o melhor fio de seda do mundo (IBGE, 2018). A qualidade dos fios de seda está relacionada primordialmente à saúde e aos fatores nutricionais, isto é, com a alimentação adequada das larvas e ao manejo apropriado das árvores de amoreira, as quais representam a única fonte de alimento do bicho-da-seda. Neste sentido, estudos biológicos relacionados à análise genética de lagartas do bicho-da-seda podem fornecer importantes parâmetros e respostas, permitindo que novas estratégias possam ser desenvolvidas em prol do aumento da produção de casulos, da produtividade industrial e valorização da sericicultura.</p>
Proponente do projeto	<i>Profa Dra Renata da Rosa</i>
Instituição de Execução	<i>Universidade Estadual de Londrina (UEL) Fiação de Seda Bratac S.A.</i>
Instituição financiadora	<i>Fiação de Seda Bratac S.A.</i>
Período de vigência	<i>47 meses</i>

1. Identificação da proposta

1.1. Título da proposta

Estudos biológicos e genéticos no bicho-da-seda *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758)

1.2. Valor do repasse financeiro, se houver

Fiação de Seda Bratac S.A. : R\$27.000,00 (vinte e sete mil reais), divididos em 18 (dezoito) parcelas de R\$1.500,00 (hum mil e quinhentos reais) mensais, a título de bolsa de incentivo à inovação.

1.3. Nome do coordenador

Coordenadora Geral do projeto "Seda o fio que transforma": Profa Dra Cristianne Cordeiro Nascimento

Coordenadora desta proposta: Prof.^a Dr.^a Renata da Rosa

1.4. Nome dos partícipes (pesquisadores)

- Renata da Rosa – Docente do Departamento de Biologia Geral – CCB;
- Santino Aleandro da Silva – Aluno de doutorado do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular;
- Rachel Colauto Milanezi Aguiar – Aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular;
- Matheus de Moura e Silva – Aluno de mestrado do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular;
- Jaqueline Fernanda Dionísio – Pós-doutoranda da Universidade Estadual de Londrina e bolsista do projeto Seda.

1.5. Setor/Área

Setor: Matéria Prima

Área: Genética Animal / Entomologia Molecular

1.6. Período previsto para execução do projeto: 47 meses

2. Justificativa da proposta

A seda é considerada um dos tecidos mais antigos e nobres comercializados no mundo. É uma fibra ecológica de alta resistência, sendo utilizada além da confecção de tecidos, como a elaboração de materiais eletrônicos, aeronáuticos e médicos (Nagaraju & Goldsmith, 2002; Liu et al., 2010). A sericultura é a atividade agrícola que caracteriza a criação do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758), o qual durante a fase de pupa/crisálida produz os casulos de onde são retirados os fios de seda (Roy et al., 2012).

A fibra de seda natural é um filamento contínuo de proteína, produzido pelas lagartas do bicho-da-seda. Através das glândulas sericígenas, elas expelem o líquido da seda (fibroína), envolvido por uma goma (sericina), que se solidificam imediatamente quando em contato com o ar. A fibra da seda é confeccionada em forma de casulos, que proporcionam uma proteção que eleva as chances de sobrevivência do bicho-da-seda no ambiente, evitando temperaturas extremas. (Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, 2005; Hussain et al., 2011).

A qualidade dos fios está diretamente relacionada ao desenvolvimento dos casulos, uma vez que estes constituem a matéria-prima base da produção de seda. O objetivo da sericultura é promover o aumento da produtividade e a melhoria da qualidade do casulo. Diante disso, nosso laboratório tem por objetivo realizar pesquisas que envolvam as análises biológicas relacionadas a: (1) Genética e Biologia Molecular do bicho-da-seda; (2) Desenvolvimento de processos biotecnológicos para o controle de pragas e neutralização de agrotóxicos; (3) Estudo de processos de anestesia no bicho-da-seda; e (4) Utilização de nanotecnologia na suplementação alimentar animal. Esses estudos são importantes para o conhecimento biológico do bicho-da-seda, permitindo que novas estratégias possam ser desenvolvidas em prol do aumento da produção de casulos, da produtividade industrial e da valorização da sericultura.

A Fiação de Seda Bratac é uma empresa brasileira que atua há mais de 70 anos no ramo de fiação de seda natural e atualmente é a única empresa nacional produtora dos fios de seda. No ano de 2018, o projeto da UEL, "Seda o fio que transforma", formalizou convênio com o Governo do Estado do Paraná (TC nº 55/2018 – SETI/UGF) para o financiamento de pesquisas relacionadas ao processo de produção da seda, visando apoiar ações voltadas à melhoria do setor produtivo e agricultura familiar vinculadas à seda paranaense. Atualmente, conseguimos a renovação do projeto, com um novo financiamento pela UGF. Para a execução do convênio, a empresa Bratac se tornou parceira do projeto, se dispondo a fornecer as larvas para os testes, casulos para os experimentos, mudas de amoreiras para a alimentação das larvas e auxílio técnico nos experimentos e análises de qualidade do fio, além de financiar a bolsa de um estudante de mestrado. A Universidade Estadual de Londrina, dentro do grupo de Entomologia Molecular (situado no Laboratório de Citogenética Animal) desenvolverá todos os experimentos relacionados ao isolamento de microrganismos, seleção dos organismos com propriedades neutralizadoras, testes com as moléculas químicas adsorventes, alimentação das larvas com as amoreiras testadas, as análises de saúde animal, análises da produção de casulos e acompanhará diretamente as análises da qualidade do fio realizadas pela Fiação de Seda Bratac. O trabalho será desenvolvido por mestrandos e doutorandos do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular e por estudantes do curso de Agronomia. Além disso, algumas análises, cujos equipamentos não estão no Laboratório de Citogenética Animal, serão realizadas em laboratórios com equipamentos multiusuários alocados na própria UEL.

3. Objetivo geral

Essa proposta tem por objetivo geral o desenvolvimento de análises e processos no bicho-da-seda e produção de casulos.

3.1. Objetivos específicos

- a. Realizar análises genéticas e de biologia molecular;
- b. Avaliar a toxicidade dos principais agroquímicos relacionados à deriva em folhas de amoreira e testar diferentes moléculas adsorventes de compostos químicos já conhecidas como neutralizantes de agroquímicos;
- c. Realizar a bioprospecção de bactérias degradadores de agrotóxicos;
- d. Desenvolver uma estratégia de controle de pragas que atacam as amoreiras;
- e. Desenvolver um método de anestesia para crisálidas do bicho-da-seda;

- f. Avaliar a aplicação de nanopartículas e outros suplementos na alimentação do bicho-da-seda;
- g. Avaliar a saúde animal por técnicas de genética, biologia molecular e morfologia celular;
- h. Analisar a produção de casulos.

4. Métodos de atuação

4.1. Metodologia

4.1.1. Teste e seleção dos métodos químicos de degradação de agrodefensivos

Nessa etapa serão selecionados, após teste de tolerância no bicho-da-seda, produtos químicos cientificamente comprovados como neutralizantes/adsorventes de moléculas tóxicas (Bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio, carvão ativado, semente de moringa). Esses produtos serão selecionados, aplicados em folhas de amoreiras e ofertados à lagartas do bicho-da-seda para avaliação da tolerância do animal a esses produtos. Em seguida esses produtos serão aplicados em folhas de amoreiras contaminadas com agroquímicos, para verificação da neutralização. Esses testes serão validados com a oferta das folhas ao bicho-da-seda, avaliação da saúde animal e produção de casulos. Esses experimentos serão realizados na UEL.

4.1.2. Bioprospecção de bactérias degradadoras de agrotóxicos

Serão utilizadas estirpes de bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia* e *Pseudomonas* da coleção de bactérias Laboratório de Genética de Microrganismos (LAGEM) da Universidade Estadual de Londrina. As bactérias serão cultivadas. Serão selecionadas as bactérias capazes de crescer de modo eficiente e em menor tempo de incubação em meio de cultura contendo as doses mais elevadas dos diferentes agrotóxicos. Esses experimentos serão realizados na UEL. As bactérias com degradadoras de agrotóxicos serão cultivadas, selecionadas e testadas em folhas de amoreira. Os ensaios promissores serão reproduzidos em condições experimentais de campo em plantações de amoreira na região do Paraná. Essa parte do trabalho será realizada pela Fiação de Seda Bratac. Após tratamento, as folhas serão coletadas e usadas na alimentação das lagartas.

4.1.3 Suplementação foliar com nanotecnologia

O suplemento contendo nanopartículas e outras fontes alternativas de aminoácidos, será diluído em água e diariamente pulverizado sobre as folhas frescas, conforme o protocolo descrito por Polycarpo et al. (2012) e Nicodemo et al. (2014), durante todo o 5º instar (quinta idade).

4.1.4. Desenvolvimento de métodos de anestesia em crisálidas encasuladas

As crisálidas encasuladas serão submetidas a diferentes testes com produtos naturais (óleos essenciais) para a verificação da atividade corporal e contração muscular. Os produtos serão

aplicados de forma a anestesiá-lo o animal sem causar a morte, de forma que o animal não sintá dor ou sofrimento.

4.1.5 Criação e alimentação das larvas de *Bombyx mori*

O cruzamento das mariposas, a incubação dos ovos e o nascimento das larvas de *B. mori* serão promovidos e monitorados pela empresa de fiação de seda Bratac, localizada em Londrina-PR. As larvas a partir do 3º estágio de desenvolvimento larval (~ 9 dias de idade), serão conduzidas ao Laboratório de Citogenética Animal da UEL e mantidas em sala de criação com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados sob as seguintes condições: ~27°C, ±80% UR e 14h claro /10h escuro. As lagartas serão mantidas em bandejas plásticas e alimentadas com folhas frescas de amoreira (*Morus alba*) 5 vezes ao dia (8:30, 11:00, 14:30, 17:00 e 19:30h) com quantidades recomendadas por Takahashi et al. (2009), até completarem o ciclo larval e atingirem o estágio de pupa (encasulamento). As bordas das bandejas serão cobertas com tecido de tule para permitir a aeração. A limpeza dos recipientes e a remoção das fezes serão realizadas diariamente no início da manhã, antes do primeiro trato alimentar.

Essas etapas serão desenvolvidas na UEL, com as seguintes análises nos animais tratados e controle:

- (1) Análises histológicas do intestino e da glândula sericigêica;
- (2) Análises da expressão dos genes de fibroína e sericina;
- (3) Análise da expressão de genes de resposta imune;
- (4) Análise da constituição química dos casulos;
- (5) Análises dos parâmetros econômicos dos casulos;

4.2. Ações de responsabilidade da UEL

A UEL se responsabilizará por todo o experimento, desde o cuidado das larvas a partir da terceira idade; aplicação das folhas tratadas; análises do peso e estrutura dos casulos; análises histológicas, proteicas e genéticas das glândulas.

4.3. Ações de responsabilidade da Fiação de Seda Bratac

A Bratac ficará responsável pelo fornecimento das larvas da raça comercial do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) para os testes de nematicidas (insumo); apoio técnico em dúvidas sobre a aplicação dos nematicidas em campo (capital intelectual); análise da resistência e qualidade dos casulos gerados ao final dos testes; apoio técnico na resolução de algumas dúvidas que surgirão ao longo do projeto e o pagamento de uma bolsa de incentivo à inovação para um aluno de pós-graduação.

5. Resultados esperados

Espera-se, com o desenvolvimento desta proposta que: (1) o tratamento aplicado às amoreiras seja eficiente na neutralização dos agrotóxicos, resultando na diminuição da morte das lagartas; (2) seja desenvolvido um processo de anestesia animal; (3) novas metodologias de suplementação alimentar sejam desenvolvidas; (3) estudos genéticos e biológicos no bicho-da-seda tragam à luz diversas dúvidas sobre a organização genômica da espécie. Conseqüentemente, espera-se que esse tratamento seja benéfico para a saúde do animal e que haja uma boa produção de seda por ele.

Na parte de formação de recursos humanos, espera-se o desenvolvimento de uma dissertação de mestrado, iniciações científicas e trabalhos de conclusão de cursos de graduação; publicação de artigos científicos em periódicos de relevância internacional, proteção da propriedade intelectual resultante da pesquisa como patente compartilhada e eventual licenciamento, se viável.

Alguns riscos podem atrasar as etapas do projeto, bem como o desenvolvimento esperado da proposta: insuficiência de recursos; atraso na compra de materiais pela UEL; rejeição das folhas tratadas pelos bichos-da-seda; resultado insatisfatório ou não protegível pelos direitos da propriedade intelectual; inexistência de alterações genéticas e/ou estruturais – bem como ausência de resposta ao tratamento; impossibilidade de utilização da amoreira por evento fortuito ou de força maior.

6. Cronograma detalhado

CRONOGRAMA DAS ATIVIDADES – UEL																				
Etapas	mês 1	mês 2	mês 3	mês 4	mês 5	mês 6	mês 7	mês 8	mês 9	mês 10	mês 11	mês 12	mês 13	mês 14	mês 15	mês 16	mês 17	mês 18	mês 19	mês 20
Revisão Bibliográfica	X	X																		
Escrita do projeto																				
Compra de reagentes	X	X	X	X	X	X	X	X												
Escolha dos neutralizantes químicos	X	X																		
Reuniões semestrais			X																	
Cultivo e seleção dos microrganismos		X	X	X	X	X	X	X												
Teste piloto de criação das larvas (padronização do experimento)			X	X	X	X	X	X												
Etapas	mês 9	mês 10	mês 11	mês 12	mês 13	mês 14	mês 15	mês 16	mês 17	mês 18	mês 19	mês 20								
Testes com os neutralizantes químicos escolhidos	X	X	X																	
Criação das larvas		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Retirada de tecidos para as análises morfológicas e genéticas		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análise morfológica dos casulos		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Realização das técnicas de genética e biologia molecular					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

7

Etapas	mês 44	mês 45	mês 46	mês 47
Escrita de artigos científicos	X	X		
Confecção do relatório final	X	X	X	X
Proteção da propriedade intelectual, se for o caso, para depósito da patente	X	X	X	X

CRONOGRAMA DAS ATIVIDADES – Fiação de Seda Bratac	
Etapas	Período da realização
Fornecimento das larvas para os experimentos	Setembro de 2021 a dezembro de 2024
Análise da qualidade do fio de seda	Quando houver disponibilidade da empresa, de preferência no segundo semestre de 2021 para o projeto piloto e no primeiro semestre de 2022 e 2023.
Participação nas publicações e patentes	Ocorrerá no final do projeto quando forem analisados os resultados, antes das publicações.

9

7. Infraestrutura e contrapartida econômica/financeira

7.1 Contrapartida da Universidade Estadual de Londrina

Este acordo de cooperação está alocado dentro do projeto "Seda o fio que transforma". Para o desenvolvimento desta proposta a UEL irá fornecer o espaço físico (laboratórios e sala de criação), parte dos recursos humanos, com a participação de docentes pesquisadores do CNPq (1 docentes) com expertise na área, dois bolsistas doutorandos do programa de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular e uma bolsista de pós-doutorado.

A Universidade Estadual de Londrina possui os seguintes equipamentos alocados em diferentes laboratórios (Laboratório de Citogenética Animal, Laboratório de Genética Microbiana, Laboratório de Bioinformática, Laboratório de Genética Toxicológica): cabines de segurança biológica, autoclaves incubadora com agitação orbital ("shaker"), estufas B.O.D., estufas para secagem e esterilização de materiais, freezers -20°C, refrigeradores, balança analítica, pHmetro, destilador de água, centrífuga refrigerada, microcentrífuga, microcentrífuga (mini spin), fontes para eletroforese (400 volts), cubas para eletroforese horizontal, termocicladores com gradiente de temperatura, equipamento para eletroforese em campo pulsado (PFGE), forno para hibridização, esteromicroscópios, microscópios de luz comum acoplado a um sistema de captura de imagens, microscópio de fluorescência acoplado a um sistema de captura de imagens. Além desses equipamentos alocados em laboratórios de pesquisa, temos os seguintes equipamentos multiusuários alocados na Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da UEL: microdissector, termocicladores, equipamentos de fotodocumentação de géis, cubas de eletroforese, fontes de eletroforese, pipetadores multicanais eletrônicos, pipetadores de repetição, estufas, aparato de eletroforese de campo pulsado, centrífuga refrigerada de placas, microcentrífugas, autoclaves, fluxos laminares, aparelhos de purificação de água grau Milli Q, freezer -80°C, equipamento para eletroforese bidimensional, scanner e sistema de captura de imagens, PCR em tempo real, HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), ultra-centrífuga, microscópio de fluorescência, sistema de quantificação NanoDrop, equipamentos para edição de vídeos para os treinamentos, estufa à gás, máquina de lavar roupas, centrífuga de roupas, secadora de roupas, prensa térmica pneumática.

7.2 Contrapartida da Fiação de Seda Bratac

A Fiação de Seda Bratac entrará na parceria com o fornecimento de alguns insumos, bolsa e apoio técnico nos seguintes aspectos:

- a) Fornecimento de 2.000 larvas da raça comercial para os testes com neutralizantes;
- b) 60 horas para análise da resistência e qualidade dos casulos gerados ao final dos testes;
- c) Bolsa de estudos para aluno de mestrado do programa de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular da UEL;
- d) Apoio técnico na resolução de algumas dúvidas que surgirão ao longo do projeto;

8. Impactos e benefícios

O desenvolvimento desta proposta trará impactos e benefícios nos seguintes aspectos:

- a) Espera-se que o uso dos neutralizantes seja benéfico para o amoreiral, bem como para a saúde do bicho-da-seda, evitando a morte animal e conseqüentemente aumentando a

produção do sericicultor. Além disso, espera-se que o uso de novas tecnologias de análise genética, de biologia molecular e análises estruturais dos casulos poderão ser desenvolvidas e divulgadas, havendo, conseqüentemente, a promoção de novas metodologias e estudos científicos;

b) Com essa proposta, haverá o intercâmbio de formação, mobilizando recursos humanos envolvidos nos programas de graduação e pós-graduação das instituições participantes, consolidando ainda mais o grupo. Além disso haverá a consolidação de parcerias entre os pesquisadores da UEL e da Fiação de Seda Bratac, voltadas ao estudo da genética e biologia molecular do bicho-da-seda, de forma a fortalecer as linhas e grupos de pesquisa envolvidos;

c) Transferência do conhecimento produzido para a sociedade, entre eles sericultores, por meio de transferência de tecnologia, eventos, palestras, cursos, publicações, aumento da produção científica e incremento na qualidade dos trabalhos produzidos com conseqüente fortalecimento dos Programas de Pós-Graduação, aos quais estes estão vinculados;

d) Desenvolvimento de tecnologias de neutralização de agrodefensivos que possam ser futuramente aplicadas em campo, de forma que haja melhoramento no processo da sericultura e aumento da produtividade das amoreiras;

e) Desenvolvimento de uma metodologia de anestesia do bicho-da-seda a ser aplicada na indústria.

9. Percentual de participação

De acordo com a contribuição das partes no desenvolvimento do objeto desta cooperação, a UEL terá 50% (cinquenta por cento) e a cooperadora 50% (cinquenta por cento) da titularidade da propriedade intelectual resultante.

10. Se houver recursos

O valor total do projeto será de R\$ 27.000,00 (vinte e sete mil reais) a serem pagos em 18 parcelas de R\$ 1.500,00 (um mil e quinhentos reais) mensais a título de bolsa de incentivo à inovação, já incluídas as taxas de administração da fundação de apoio.

O repasse será feito mensalmente, no valor de R\$ 1.500,00 por meio de boleto ou transferência bancária.

10.1. Justificativa entre os custos e os resultados

Para a execução deste projeto temos pesquisadores que são custeados pela UEL, entretanto um estudante de mestrado, que irá diretamente desenvolver este plano, não possui bolsa de pós-graduação. O pagamento desta bolsa irá custear as despesas do estudante com moradia e alimentação durante o projeto, permitindo que o estudante se dedique em tempo integral. Sem a dedicação do estudante ao projeto, não haverá pessoal para o desenvolvimento da proposta.

10.2. Orçamento detalhado em planilha

Orçamento total	
Valor total do projeto	R\$ 27.000,00
Gestão FAUEL - Despesas operacionais	R\$ 2.700,00
Valor total bolsa	R\$ 24.300,00

Orçamento mensal (18 parcelas)	
Valor total mensal	R\$ 1.500,00
Gestão FAUEL - Despesas operacionais	R\$ 150,00
Valor mensal bolsa	R\$ 1.350,00

10.3. Plano de aplicação dos recursos financeiros

Os recursos serão aplicados na forma de Bolsa de incentivo à inovação.

11. Referências

Agrotóxicos em propriedades vizinhas causam quase 3 bilhões de prejuízo a produtores de bicho-da-seda no Paraná. Globo G1. 21 de fevereiro de 2021. Caminhos do Seção Campo. Disponível em: <https://g1.globo.com/pr/parana/caminhos-do-campo/noticia/2021/02/21/agrotoxicos-em-propriedades-vizinhas-causam-quase-r-3-milhoes-de-prejuizo-a-produtores-de-bicho-da-seda-no-parana.ghtml>

Akram S, Khan SA, Fakhar-un-Nisa, Hussain M, Kanwal M, Zafar F. Impact of Cholecalciferol (D3) supplementation on biology and cocoon yield of silkworm, *Bombyx mori* L. Asian Journal Agri & Biol. 5(4): 214-220, 2017.

Baramidze N, Khutsishvili M, Tskaruashvili Z, Gujabidze I. Comparative study of Georgian breeds of mulberry silkworm according to the main biotechnological characteristics. Annals of agrarian Science. 14: 56-60, 2016.

Birilli, WG; Arai, MS; Nitschke, M; Porto, ALM. The pyrethroid (\pm)-lambda-cyhalothrin enantioselective biodegradation by a bacterial consortium, Pesticide Biochemistry and Physiology, Volume 156, 2019, Pages 129-137, <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.02.014>.

Chen, B; Zhang, N; Xie, S; Zhang, X; He, J; Muhammad, A; Sun, C; Lu, X; Shao, Y. Gut bacteria of the silkworm *Bombyx mori* facilitate host resistance against the toxic effects of organophosphate insecticides, Environment International, Volume 143, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105886>.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Indicadores da Agropecuária. Observatório Agrícola. Ano XXV, Nº 10, 2016.

DERAL – Departamento de Economia Rural do Estado do Paraná. Sericicultura no Estado do Paraná. Safra 2016/2017. Relatório TakII. Gianna Maria Cirio. Novembro 2017. Disponível em http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/Sericicultura_2016_17.pdf

Nicodemo, D; Mingatto, FE; Carvalho, A; Bizerra, PFV; Tavares, MA; Balieira, KVB; Bellini, WC. Pyraclostrobin Impairs Energetic Mitochondrial Metabolism and Productive Performance of Silkworm (Lepidoptera: Bombycidae) Caterpillars, *Journal of Economic Entomology*, Volume 111, Issue 3, June 2018, Pages 1369–1375, <https://doi.org/10.1093/jee/toy060>

Parte, SG; Mohekar, AD; Kharat AS. Microbial degradation of pesticide: A review, Vol. 11, pp. 992-1012, 28 June, 2017. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8402>

Santorum, M; Brancalhão, RMC; Guimarães, ATB; Padovani, CB; Tettamanti, G; Santos, DC. Negative impact of Novaluron on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), *Environmental Pollution*, Volume 249, 2019, Pages 82-90, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.095>.