

O ÁCIDO CLORÍDRICO NO TRATAMENTO DE OVOS DE BICHO-DA-SEDA E SEU RECONHECIMENTO

NIVALDO ALVES BONILHA

Serviço de Sericicultura — Campinas

As raças de bicho-da-sêda (*Bombix mori* L.) pelos seus caracteres metabólicos (voltinismo) classificam-se em monovoltinas, bi, e polivoltinas, segundo o número de gerações que nos apresentam durante um ano.

A monovoltina com uma geração anual, é a melhor raça e portanto no Brasil e em todos os países produtores de casulos sòmente se utilizam e recomendam essa raça para suas criações.

Como caracteres principais da univoltina, dizemos, que é de ciclo larval mais perfeito, com cinco idades e quatro mudas de pele bem distintas, nascimento uniforme e em poucos dias, bichos quase sempre sadios, apresentando casulos com rendimento em sêda e em pêso superior às raças polivoltinas. Seus casulos são mais firmes, consistentes, com bom aspecto e mais apreciados pela indústria. Os tecidos confeccionados com os fios dêstes casulos são mais resistentes, duráveis e de melhor aceitação pelo público consumidor.

A polivoltina, com várias gerações anuais, apresenta um ciclo larval muito irregular, as vêzes sòmente com três idades. O nascimento, com vários dias de eclosão, indo até 15 dias, apresenta bicho fraco, sujeito à doenças e com certa morosidade no seu desenvolvimento, quer nas idades ou nas mudas. Os casulos confeccionados são pequenos, fracos e com uma produção pequena em pêso em relação às gramas de ovos criados. O rendimento em sêda é baixo, tornando-se mais oneroso não só para o produtor como para os fiandeiros. E' uma raça portanto desprezada pelos produtores de ovos, que nela não vêm vantagem alguma em produzir e distribuir aos seus criadores.

Em países que sòmente criam uma vêz por ano, como acontece em certos lugares da Itália e outros países da Europa,

os ovos da univoltina, quando postos pelas borboletas fêmeas, percorrem antes de sua distribuição aos criadores os estágios naturais que lhes são próprios, isto é, estivação e hibernação.

Decorridos 6 a 7 meses mais ou menos, após a sua postura, estes ovos são colocados em incubação para que se dê a eclosão, ocorrendo neste sistema de preparo de ovos vários problemas de ordem técnica.

Mas, no Brasil, onde se faz 5 a 6 criações durante o ano, seria anti-econômico e até mesmo difícil para o produtor de ovos a distribuição dessa raça com uma só criação anual. Estariam os Institutos produtores de ovos sujeitos a grandes despesas, quer na manutenção de operários, acomodações próprias e espaçosas para a conservação das borboletas (sala de estivação) e dos ovos (frigorífico, hibernação), ou ainda, em verbas altamente elevadas na aquisição de casulos de raças puras, para destas retirarem os ovos, muitas vezes inaproveitados pelos fatores próprios do mercado sérico, a fim de atender os pedidos dos criadores num período bastante dilatado, como ocorre em nosso meio sericícola.

A vista disso têm os Institutos especializados na produção de ovos procurado abreviar o tempo de eclosão dessas raças, o mais breve possível, fornecendo-nos várias gerações por ano, sem perder os caracteres intrínsecos que possuem, facilitando seus trabalhos e tornando menos onerosa sua produção.

A ciência moderna, agindo de acôrdo com os princípios naturais, tem sabido passar por cima de certos embaraços, sendo o progresso alcançado, nestes últimos anos, de natureza tal que vem facilitar bastante a sericicultura e desenvolver ainda mais a indústria de sêda.

Assim é, que existem vários meios, com os quais não podemos nos preocupar e que resolvem facilmente várias questões que dizem respeito à estivação prolongada, à não hibernação dos ovos, ou à hibernação num período de tempo bastante curto.

Nos primeiros casos estão os estímulos que o embrião recebe por meios químicos, físicos ou mecânicos, portanto processos artificiais, para apressar a eclosão e no segundo, o processo empregado é misto: natural e artificial.

Os laboratórios e estações experimentais, que se dedicam ao estudo da biologia do bicho-da-sêda, como a Real Estação Bacológica e Experimental de Pádova, têm se esforçado há tempos no sentido de reduzirem aquêle espaço de eclosão das raças univoltinas, a fim de obterem mais de uma geração anual.

O objetivo dessa pesquisa pelos cientistas italianos e franceses teria dupla finalidade: a primeira, ter à sua disposição bichos para as criações durante todo o ano, e no tempo desejado; aproveitamento total da fôlha da amoreira em épocas mais favoráveis; trabalho contínuo para os criadores; mercado normal de casulos, não sobrecarregando numa época só a venda desses casulos. A segunda finalidade, talvez a mais importante para os cientistas, seria a de ter, a mesma raça do bicho-da-sêda, à sua disposição durante todo o ano em seu laboratório para fins de pesquisas, observações, relacionadas à sua fisiologia, patologia etc.

Assim, os fenômenos sobre as atividades vitais do ôvo, sua embriogênese, as causas do estacionamento do desenvolvimento embrionário, a fisiologia das larvas e das borboletas, eram objetos de estudos pelos renomados cientistas, que para isso teriam que contar com criações recentes, continuadas e abundantes.

No campo da patologia, seria também de interesse e de grande importância para os pesquisadores a obtenção de farto material de estudos (larvas), pois só assim poderiam estudar e observar com maiores detalhes as diversas doenças que atacavam o bicho-da-sêda, e destas, a pebrina foi a que mais preocupou e arrebatou a atenção dos cientistas.

No ano de 1856, época em que passou a sericultura européia por grave crise, provocada pela pebrina (*Nosema bombycis*), os cientistas, pesquisadores daquele tempo, se empenharam a fundo nos estudos relativos à vida larval do sirgo, e sobre a eclosão dos ovos e, neste particular, fizeram diversas experiências relativas a antecipação de sua eclosão, com a finalidade maior de encontrar as causas e os meios para combater aquela doença, que tantos prejuízos ocasionava aos criadores, refletindo grandemente na economia de seus países.

Em 1856, em experiências feitas por BARCA em Bergamasco, êste, esfregando ovos de bicho-da-sêda em escovas com fios de diversas raízes, obteve com êste processo, regular porcentagem de eclosão, apesar de ser um meio rudimentar e empírico.

O resultado obtido por BARCA chamou a atenção de outros estudiosos no assunto e de renome no campo técnico experimental sericícola, destacando-se entre outros: VERNON, QUAJAT e BOLLATTI, os quais viram a possibilidade de se obter nascimentos fora de seu tempo natural, com melhores porcentagens de eclosão.

Partindo êles do princípio de que a eclosão dos ovos provocada pelo esfregação dos mesmos com as raízes, era consequência da ação de correntes elétricas, geradas pela ação mecânica de atritos, fizeram novas experiências submetendo ovos de bicho-da-sêda à ação de descargas elétricas, agora sob forma de chuvas, obtendo com êste experimento grande êxito.

Com estas duas experiências estava demonstrado que os ovos, recebendo um estímulo externo, ou qualquer coisa que provocasse uma reação do embrião, pondo-o em atividade, dariam dias após, nascimento a larvinhas.

Dos meios mecânicos e físicos até então empregados, passaram ao emprêgo de agentes químicos, os mais diversos, a fim de estudar a ação, o comportamento das substâncias químicas, sôbre êsses ovos.

Inúmeras experiências foram planejadas e concluídas, umas com real sucesso, outras completamente fracassadas.

DUCLEAUX, empregando ácido sulfúrico concentrado sôbre os ovos, durante um minuto e lavando-os em seguida muito bem, obteve regular porcentagem de nascimento, sendo por isto, duramente criticado pelos seus companheiros, principalmente por VERNON, que atribuiu aquêle fracasso à ação demasiadamente cáustica do ácido, ou então o emprêgo daquele agente químico em ovos já em estado bastante adiantado em sua formação, impedindo a sua camada protetora (serosa) a ação estimulante do ácido sulfúrico.

BOLLE, outro pesquisador da época, com vistas nos resultados obtidos pelos seus companheiros, depois de empregar várias substâncias químicas, chegou a conclusão, que os ovos de bicho-da-sêda de recente postura quando submetidos à ação do ácido clorídrico comercial, davam eclosão a larvinhas em alta porcentagem, superior a todos os processos e meios até então conhecidos com a mesma finalidade.

Desde que o ácido clorídrico foi eleito como o mais indicado para êsses tratamentos, numerosas experiências foram iniciadas, fazendo variar o tempo de estivação e hibernação, aumentando o primeiro e diminuindo o segundo e vice-versa.

O tempo de imersão dos ovos no ácido, bem como as porcentagens dêste, foram também objetos de estudos pelos então responsáveis pelos trabalhos.

RADIAÇÕES MITOGENÉTICAS

MAGROU, GURWISTCH, FRANCH e outros pesquisadores, em estudos de laboratório, constataram por diversos mé-

todos experimentais que certas substâncias, quando intimamente misturadas emanavam raios de comprimentos de ondas bastante curtos, que influíam consideravelmente na multiplicação celular apressando a mitose em sementes de plantas e em culturas de lêvedo. Com êstes resultados quizeram também os pesquisadores constatar se aquelas radiações denominadas mitogenéticas agiam de igual modo nos ovos de bicho-da-sêda apressando o seu desenvolvimento e eclosão das larvas.

Acrescentaram ainda aquêles cientistas que aquelas radiações poderiam ser obtidas através de reações químicas enérgicas ou então com substâncias organizadas, animais ou vegetais.

Das substâncias então empregadas, o sôro fisiológico emulsionado, encéfalo de rãs recentemente nascidas, gânglios linfáticos de ratos brancos, bulbos de cebola triturados em água, córtex dos tubérculos de batata convenientemente preparados, davam origem a raios com comprimentos de ondas bem curtos, semelhantes aos dos raios ultravioletas e que tinham a propriedade de atravessar o ar, a água, os tecidos celulares, provocando a excitação no embrião, dando com isto, a multiplicação celular e seu conseqüente desenvolvimento embrionário.

Com as reações químicas enérgicas e tipicamente oxidantes, como é o caso do permanganato de potássio em presença do ácido sulfúrico e oxálico, observamos bons nascimentos, quando os ovos do bicho-da-sêda são postos em contacto com êsses reagentes, dadas as propriedades mitogenéticas que possuem êsses corpos.

Por essa experiência bastante interessante, verificámos que a melhor porcentagem dos reagentes foi a de 20% num tempo de imersão de 20 a 25 minutos, obtendo com êstes dados uma eclosão de até 90% no 15.º dia após os primeiros nascimentos.

GURWISTCH e FRANCH, em experiências com bulbo de cebola, o qual contém duas substâncias: a *mitotina* e a *mitotasi*, chegaram a conclusão de que ovos de bicho-da-sêda, quando em presença das duas substâncias acima citadas e intimamente misturadas, dão nascimento de 83 a 88% num tempo variável de 3 a 5 horas, às larvinhas em virtude das propriedades mitogenéticas que gosam aquelas substâncias.

Destacam-se com êstes experimentos e outros que deixo de mencionar, a influência que certas reações químicas e subs-

tâncias organizadas têm em presença do embrião, atribuindo às radiações mitogenéticas, os elementos excitadores do desenvolvimento embrionário.

Os hormônios parecem que também agem de uma maneira análoga aos anteriores, provocando nascimentos precoces aos ovos, tanto do bicho-da-sêda como de outros séres viventes, principalmente das plantas.

De todos os agentes físicos e químicos até hoje empregados para eclosão dos ovos artificialmente, o que melhor resultado nos oferece é o ácido clorídrico. Experiências realizadas com êste ácido no início de suas investigações científicas, muitas delas resultaram em fracassos, porque ora o ácido empregado não se apresentava nas concentrações ideais ou porque os ovos postos em presença daquêle ácido já se apresentavam com a serosa bastante próxima da casca, diminuindo com essa camada protetora os estímulos externos.

Atualmente, emprega-se o ácido clorídrico concentrado com densidade de 1,12 na eclosão dos ovos de bicho-da-sêda. Sua preparação se faz tomando duas partes dêsse ácido e adicionando na mesma, uma parte de água, dando-nos aproximadamente 13° Be.

O tratamento atual dos ovos para sua eclosão antecipada pode-se dar por dois processos: a) químico; b) misto (hiber-no químico).

a) *Tratamento químico*: consiste em provocar o nascimento após a postura ou seja, 10 dias depois que a borboleta fêmea tenha depositado os ovos. Para que êste processo dê bons resultados é necessário que os ovos ao serem submetidos ao banho de ácido clorídrico não ultrapassem de 36 horas de deposição e nem antes de 12 horas. Tão logo os ovos se apresentem com uma leve mudança em sua côr, do amarelo ôvo característico na postura, para rosado, tendendo a cinza, êsse é o momento ideal para serem introduzidos no banho. O tempo de imersão é de 10 a 15 minutos, variando êste tempo de acôrdo com a raça. A temperatura neste caso será a ambiente (sem aquecimento).

O tratamento químico na recente deposição dos ovos é uma operação bastante delicada, pois qualquer descuido poderá acarretar a morte do embrião.

No momento que os ovos se apresentem com a sua côr cinza característica de início de diapausa, a ação do ácido se torna bastante diminuída, apresentando porcentagem de nascimento bastante reduzida e com um período de eclosão dilatado,

chegando até a 15 dias, para um nascimento satisfatório, o que é condenado pelas repartições que produzem ovos e pelos criadores.

A função fisiológica da membrana pigmentada (serosa) ainda não está bem definida, porém, sabe-se que, quando ela se apresenta unida à casca internamente, ela impede os estímulos externos a fim de não perturbar o estado embrionário do ovo.

b) *Misto* ou “hiberno químico”: o processo misto é também chamado de “hiberno químico” ou ainda “natural e artificial”, porque, aqui os ovos experimentam a ação dos dois meios que lhes são próprios à eclosão. É assim denominado porque os ovos antes de receberem o banho de ácido clorídrico (artificial) passam por um estágio de hibernação em câmaras frigoríficas (natural), variando de muito o tempo de permanência nêssas câmaras frias, para em seguida serem submetidos à ação do ácido clorídrico.

Formada a serosa e a estria germinal, isto depois de 48 horas, os ovos entram em repouso diminuindo consideravelmente as suas funções fisiológicas, pelo início da diapausa.

A fim de que tenhamos um bom nascimento e em curto prazo, devemos submeter êsses ovos ao ambiente frio, em câmaras frigoríficas de 4 a 6°C. Neste ambiente os ovos conservam-se perfeitamente. Suas atividades fisiológicas bastante reduzidas concorrem para uma melhor coordenação molecular, preparando condições ao bom desenvolvimento embrionário na fase de incubação.

A ação do frio é retardar o nascimento daqueles que por qualquer circunstância querem entrar na fase final — incubação — sem contudo ofender a integridade biológica do embrião.

ACÇÃO DO ÁCIDO CLORÍDRICO SÔBRE OS OVOS

Após a fecundação e a conseqüente formação do ovo dá-se a ativa segmentação do núcleo e a rápida multiplicação celular para depois de 48 horas entrarmos num estacionamento de desenvolvimento embrionário nas raças univoltinas. Decorrido aquêle período de 48 horas, o ovo entra na fase estacionária iniciando a diapausa, o que dura alguns meses.

O ácido clorídrico atuando sôbre os ovos do bicho-da-sêda de recente postura, impede aquêle estacionamento, fazendo com que o embrião continui o seu desenvolvimento normal e

já iniciado, até a sua completa formação, o que se verifica decorridos 10 dias, não deixando portanto que o ovo entre em diapausa. Se o ovo já se encontra nesta fase, o ácido clorídrico produz o desequilíbrio interno, acelerando os fenômenos evolutivos da estria germinal até a sua completa formação.

O ácido clorídrico agindo sobre o suco interno do ovo, variando sua concentração hidrogenionica, sua viscosidade, densidade, provoca o desequilíbrio químico fazendo com que as forças endógenas entrem em ação, provocando o desenvolvimento embrionário até a sua formação completa.

O tratamento dos ovos pelo ácido clorídrico indúz no ovo de recente postura uma queda apreciável no Ph, de 6,50 para 6,27, o mesmo se verificando em ovos que passam pelo período hibernal, se bem que a queda seja menos acentuada.

RECONHECIMENTO DO HCl EM OVOS DE BICHO-DA-SÊDA

Existem dois processos para seu reconhecimento :

a) análise quantitativa, b) análise qualitativa.

Análise quantitativa : é de pouco interêsse o reconhecimento do HCl em ovos do bicho-da-sêda, por êste processo, tanto para os Institutos, como para os criadores, porque a êles não interessa a sua quantidade.

O método quantitativo, apesar de ser simples, requer muito cuidado no preparo das soluções e deve ser feito com muita precisão, sem o que os resultados numéricos apresentam-se com falsas interpretações.

Consiste no seguinte a sua técnica de análise : tomam-se 10 g de ovos, os quais são colocados num copo de Boêmia, com 20 cc de água destilada, na qual se adicionam 2 gotas de solução 0,1 normal de NaOH.

Leva-se a seguir à ebulição durante 2 minutos precisamente. Filtra-se êsse caldo, lava-se com água destilada e fervendo-se novamente eleva-se o filtrado a 50 cc.

Dêsse líquido, separam-se 10 cc e sobre êste, adiciona-se uma solução de nitrato de prata contendo 4,79185 de sal por litro previamente acidificado com ácido nítrico, titulado com solução de sulfocianato de amoníaco equivalente à 2,5 g por litro e usando como indicador o alumem ferro amoniacal.

Um (1) centímetro cúbico dessa solução, que é $\frac{1}{35,5}$ normal, corresponde a um miligrama de cloro. Em 10 g de ovos tratados pelo método acima se apresentam em média

0,006 g de cloro o que vem demonstrar e acusar que os ovos tratados com HCl, apesar de submetidos a longa lavagem, não conseguem livrar-se de todo o cloro, acusando sempre nas reações químicas êsse elemento.

Depois de certo tempo de lavagem dos ovos com água. êste líquido analisado apresentou-se isento do halogênio cloro, o que vem com isto demonstrar que o cloro permanece fixo na casca do ovo.

Análise quantitativa: na prática utilizamos êste método, pois êle nos dá diretamente a existência ou não do cloro, que é objetivo dos produtores de ovos, criadores e daquêles que se ocupam da fiscalização dos mesmos.

Baseia-se êste processo na precipitação do cloro, quando combinado com outros corpos químicos. Esta precipitação é tanto mais acentuada quanto maior fôr a quantidade de cloro presente nos ovos tratados quimicamente.

A sua presença se investiga da seguinte maneira: toma-se um gramo de ovos e lava-se com água morna. Coloca-se em um copo de Boêmia e junta-se cinco cc de água destilada. Leva-se à ebulição durante 2 (dois) minutos exatos, adicionando uma gota de solução 0,1 normal de soda. Filtra-se rapidamente a quente essa solução, usando um filtro pequeno.

Ao filtrado, junta-se uma gota de ácido nítrico normal, acidulando a solução. A seguir, trata-se essa solução com duas ou três gotas de nitrato de prata em solução normal.

Se dentro de um minuto se formar um precipitado branco suspenso no líquido, bem visível, está assegurado que os ovos receberam tratamento químico pelo ácido clorídrico.

A formação de um precipitado escuro de prata metálica muitas vêzes notada nesta reação química, é devida exclusivamente à redução do nitrato de prata por substâncias orgânicas da própria casca do ovo e libertada pelo tratamento, não querendo com isto dizer que se trata de ovos submetidos a ação daquele ácido.