

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA
DOS MATERIAIS

Propriedades físicas de sedas de lepidópteros neotropicais

Leonardo Davi Bonatto

Caxias do Sul, 18 de fevereiro de 2022.

Leonardo Davi Bonatto

Propriedades físicas de sedas de lepidópteros neotropicais

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul.

Orientadora: Janete Eunice Zorzi

Co-orientador: Otávio Bianchi

CAXIAS DO SUL

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

B699p Bonatto, Leonardo Davi

Propriedades físicas de sedas de lepidópteros neotropicais [recurso eletrônico] / Leonardo Davi Bonatto. – 2022.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2022.

Orientação: Janete Eunice Zorzi.

Coorientação: Otávio Bianchi.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Seda - Propriedades mecânicas. 2. Espectroscopia de infravermelho. 3. Morfologia. I. Zorzi, Janete Eunice, orient. II. Bianchi, Otávio, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 677.37-026.56

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

Propriedades físicas de sedas de lepidópteros neotropicais

Leonardo Davi Bonatto

Dissertação de Mestrado submetido a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Caxias do Sul, 18 de fevereiro de 2022.

Banca examinadora:

Dra. Janete Eunice Zorzi

orientadora

Universidade de Caxias do Sul

Dr. Otávio Bianchi

coorientador

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Edegar Fronza

Universidade de Caxias do Sul

Dra. Fernanda Trindade González Dias

Instituto Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Janaina da Silva Crespo

Universidade de Caxias do Sul

Dra. Monica Jung de Andrade

MilliporeSigma

Dr. Wilson Sampaio de Azevedo Filho

Universidade de Caxias do Sul

AGRADECIMENTOS

À minha Família por estarem sempre me apoiando a nunca desistir desta realização.

Minha gratidão especial à minha orientadora, a professora Dr^a. Janete Eunice Zorzi, pela orientação, amizade, discussões e assessoria no decorrer deste trabalho principalmente pela ajuda nas atividades à distância.

Aos professores Dr. Cláudio Antônio Perottoni e Dr. Otávio Bianchi que de diversas formas auxiliaram neste trabalho.

Ao doutorando Lucas Dall'agnol pelas análises de infravermelho, tratamento dos dados neste trabalho, e auxílio.

Ao Vinícius Polo Vergani pela montagem do equipamento usado nos ensaios mecânicos neste trabalho.

Ao Me. Rodrigo A. Barbieri do Laboratório Central de Microscopia – LCMIC, pelas medidas de MEV.

Ao curador da Coleção Entomológica da Universidade de Caxias do Sul - CEUCS, o Prof. Dr. Wilson Sampaio de Azevedo Filho, pelo fornecimento de amostras para minha pesquisa.

Ao Nelson de Oliveira Tomaz pelo fornecimento de amostra e imagens.

Ao Jhonatan Faria Santos pelo fornecimento de amostras e imagens.

À Universidade de Caxias do Sul pela disponibilização dos Laboratórios, LCMIC, Lab. de Física (V-202), Lab. LCMAT II (V-201b).

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais pela possibilidade de realização deste trabalho.

A Capes e ao PPGMAT-UCS pela oportunidade/bolsa.

A todos os colegas que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

As fibras de seda produzidas por mariposas não domesticadas têm propriedades distintas da seda de *Bombyx mori*, que é amplamente cultivada, e apresentam aplicações promissoras em diversas áreas. No entanto, poucas espécies de Lepidoptera têm sua seda adequadamente caracterizada; os estudos até agora concentram-se em alguns grupos de mariposas da seda selvagens. Para o grupo dos lepidópteros, além da construção de casulos, a seda é utilizada na construção de abrigos coletivos, migrações, cordas salva-vidas e, em raros casos, captura de presas. Portanto, compreender a composição e propriedades dessas sedas pode ajudar a entender seu papel na biologia dessas espécies e suas possíveis aplicações. Neste trabalho, foram realizados ensaios de tração e análise ATR-FTIR da seda de sete espécies, e os resultados foram analisados por regressão multilinear, análise de componentes principais (PCA) e análise de *clusters*. As fibras de seda das mariposas selvagens têm uma seção transversal mais ampla do que as sedas das borboletas, provavelmente devido à economia de energia necessária para sobreviver a essas espécies com hábitos gregários ou nômades. De acordo com nossos resultados e dados da literatura, os módulos de Young médios para sedas de Papilionoidea, Psychidae, Saturniidae e Sphingidae são 3,5, 21,4, 5,4 e 5,9 GPa, respectivamente. Além disso, a seda de Papilionoidea tem menor resistência à tração do que outros Lepidoptera. Nossos resultados suportam a correlação entre as propriedades mecânicas da seda e as concentrações de bandas de folhas- β de polialanina, folhas- β polialanina-glicina, serina e oxalato (inferida a partir da absorção no infravermelho correspondente) para as famílias Nymphalidae, Papilionidae, Psychidae, Saturniidae e Sphingidae.

PALAVRAS-CHAVE: seda selvagem, propriedades mecânicas, espectroscopia de infravermelho, morfologia.

ABSTRACT

Silk fibers produced by non-domesticated moths have distinct properties from the widely cultivated *Bombyx mori* silk and show promising applications in several areas. However, few Lepidoptera species have their silk adequately characterized, the studies so far concentrating on a few groups of wild silk moths. For the Lepidoptera group, in addition to the construction of cocoons, the silk is used to construct collective shelters, migration, lifelines, and, in rare cases, to capture prey. Therefore, understanding the composition and properties of these silks can help understand their role in the biology of these species and their possible applications. In this work, tensile tests and ATR-FTIR analysis of silks from seven species were performed, and the results were analyzed by multilinear regression, Principal Component Analysis (PCA), and Cluster Analysis. Silk fibers from wild moths have a wider cross-section than butterfly silks, probably due to the energy savings needed to survive these species with gregarious or nomadic habits. According to our results and data from the literature, the average Young's moduli for silks from Papilionoidea, Psychidae, Saturniidae, and Sphingidae are 3.5, 21.4, 5.4, and 5.9 GPa, respectively. Furthermore, the silk from Papilionoidea has lower tensile strength than other Lepidoptera. Our results support the correlation between the silk's mechanical properties and β -sheet polyalanine, β -sheet polyalanine-glycine, serine, and oxalate concentrations (inferred from the corresponding infrared absorption band's intensity) for the Nymphalidae, Papilionidae, Psychidae, Saturniidae, and Sphingidae families.

KEYWORDS: wild silk, mechanical properties, infrared spectroscopy, morphology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Cladograma incluindo os clados Obectoidea e Tineoidea da ordem Lepidoptera, mostrando famílias cujas sedas foram estudadas anteriormente (em vermelho) no contexto dos materiais e novas famílias estudadas neste trabalho.....16
- Figura 2 – Glândulas de seda de *Bombyx mori*. Seção posterior (abaixo), seção média (vermelho) e seção anterior (acima).....24
- Figura 3 – Arranjo de glicina e alanina em uma folhas- β estendida de seda (A); Os principais vetores que estabilizam a estrutura da folha- β estendida da seda (B); Empilhamento de folhas- β estendidas de seda em uma estrutura de automontagem (C).....26
- Figura 4 – Representação da tridimensional da fibroína, exibindo suas estruturas em folhas- β25
- Figura 5 – Formação de fibras em polímeros (setas vermelhas) e sua proposta aquamelts de subclasse (setas azuis). As setas horizontais representam etapas de cisalhamento, com comprimento correspondente à quantidade relativa de trabalho necessária para a fibrilação. Objetos coloridos representam componentes responsáveis pela fibrilação: moléculas de cadeia longa (seu raio de rotação ou forma) em polímeros e proteínas (estruturas secundárias e terciárias) em aquamelts com diferenças de tonalidade correspondendo a diferenças de fase. O contorno azul de aquamelts representa a camada externa de hidratação da proteína. As setas laranja representam o caminho que a seda reconstituída segue para ser reprocessada em uma fibra.....27
- Figura 6 – Estrutura hierárquica da seda, mostrando desde a teia de aranha, suas fibrilas até suas folhas- β com suas ligações de hidrogênio entre as cadeias polipeptídicas.....29
- Figura 7 – Curvas de tensão-deformação mostrando vários materiais sintéticos e naturais. No gráfico, podemos ver que a seda de aranha é apenas superada pela HPPE & aramida.....30
- Figura 8 – Curvas de tensão-deformação das sedas de *Eumeta variegata* (Insecta: Psychidae) e de *Trichonephila clavipes* (Aracnida: Nephilidae).....30
- Figura 9 – Simulação de curva de tensão-deformação e os respectivos eventos na estrutura molecular da seda.....31
- Figura 10 – Os cinco tipos de curva tensão-deformação das fibras de seda natural. A curva do tipo V se sobrepõe às dos tipos IV e V; a fratura ocorre em 2–4 % normalmente.....32
- Figura 11 – Visão geral das principais superfamílias de lepidópteros e famílias representativas de Bombycoidea e Noctuoidea. As atividades de fiação de larvas de instar inicial são indicadas por A (fiação leve), B (moderada) e C (extensa), e intensidade de fiação associada à formação do casulo com letras D (casulo bem formado), E (casulo solto ou abrigo semelhante), e F (cinto de seda ou acessório semelhante).....34
- Figura 12 – Filogenia das subfamílias de Saturniidae destacando subfamílias cujas sedas foram estudadas anteriormente (em vermelho) na perspectiva da ciência de materiais e novas subfamílias estudadas neste trabalho.....38

Figura 13 – Filogenia das subfamílias de Sphingidae destacando em azul a subfamília Macroglossinae cuja seda foi estudada aqui, na perspectiva da ciência de materiais.....	39
Figura 14 – <i>M. o. oiclus</i> adulto (A), casulo com vegetação incorporada (B) e a respectiva pupa (C).....	40
Figura 15 – Lagartas de <i>M. e. argentinus</i> fixadas em base de seda sobre as folhas da planta hospedeira.....	41
Figura 16 – Lagartas de <i>H. a. capys</i> fixadas em base de seda sobre fruto da planta hospedeira (<i>Citrus</i> sp.).....	42
Figura 17 – Filogenia das subfamílias de Psychidae destacando subfamília Oiketicinae cuja seda já foi estudado anteriormente (em vermelho) na perspectiva da ciência de materiais.....	43
Figura 18 - Mapa parcial da América do Sul, mostrando os locais de proveniência das amostras de seda.....	45
Figura 19 – Motor de passo (A). Representação esquemática do suporte de papel usado para os ensaios mecânicos, onde é colocado o fio de seda (B). Esquema representando o ensaio mecânico: o suporte do fio de seda fica conectado a microbalança com a força distribuída no eixo da fibra, depois disso as laterais do suporte são cortadas para realização do ensaio (C).....	46
Figura 20 – Relações e morfologia das fibras de seda usadas neste trabalho. Primeira linha, fotomicrografia de transmissão das secções transversais das fibras de seda (barras de escala de 20 µm); Segunda linha casulos e massas de seda (fora de escala); Relações filogenéticas baseadas em Lemaire, 2002; Hamilton <i>et al.</i> , 2019; Kawahara <i>et al.</i> , 2019.....	49
Figura 21 – Micrografias das fibras de seda de <i>A. illustris</i> (A), <i>H. a. capys</i> (B), <i>M. bubastus</i> (C), <i>M. o. oiclus</i> (D), <i>M. e. argentinus</i> (E), <i>R. a. speculifera</i> (F) e <i>O. geyeri</i> . (barras de escala de 20 µm).....	50
Figura 22 – Diâmetro, em µm, das fibras seda diversos táxons das Classes Insecta e Diplopoda. Insecta: Hemiptera: Cicadellidae (verde claro); Neuroptera: Chrysopidae (ciano); Embiida (amarelo); Trichoptera (Azul escuro); Lepidoptera: Lasiocampidae (roxo); Papilionoidea: Nymphalidae, Papilionidae (vermelho); Psychidae (verde escuro); Bombycidae (magenta); Saturniidae (preto); Sphingidae (marrom claro); Diplopoda: Callipodida: Dorypetalidae (cinza). Espécies tratadas aqui destacadas com linhas verticais..	51
Figura 23 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de <i>A. illustris</i> (A), <i>H. a. capys</i> (B).....	56
Figura 24 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de <i>H. metapyrrha</i> (A), <i>M. bubastus</i> (B).....	57
Figura 25 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de <i>M. o. oiclus</i> (A), <i>M. e. argentinus</i> (B).....	58

Figura 26 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de <i>M. h. achillaena</i> (A), <i>O. geyeri</i> (B).....	59
Figura 27 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de <i>P. luteata</i> (A), <i>R. a. speculifera</i> (B).....	60
Figura 28 – Espectros de infravermelho das sedas das espécies analisadas.....	61
Figura 29 – Análise de componentes principais e agrupamento dos dados dos ensaios mecânicos (A) e dados das áreas das bandas de infravermelho (B). Papilionoidea são representados por pontos vermelhos, pontos verdes para Saturniidae, magenta para Sphingidae, e azul para Psychidae. Grupos selecionados pela análise de agrupamento circundados.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração percentual de aminoácidos em espécies de Lepidoptera. Concentrações acima de 7 % destacadas.....	23
Tabela 2 – Área de secção transversal das fibras de seda. Os números em parênteses representam quantas amostras foram utilizadas para obter a média.....	50
Tabela 3 – Resumo dos resultados dos testes de deformação por tração em fibras de seda individuais. Os números entre parênteses representam o tamanho da amostra usado no cálculo da média.....	52
Tabela 4 – Dados de resultados de testes de deformação por tração em fibras de seda individuais deste trabalho e da literatura. Os números entre parênteses representam o tamanho da amostra usado no cálculo da média.....	54
Tabela 5 – Áreas das bandas provenientes das análises de infravermelho.....	62

SIGLAS, TERMOS E ABREVIACOES

(A) _n	Poli-Alanina;
(AG) _n	Poli-Alanina-Glicina;
Ala	Alanina;
Arg	Arginina;
Asn	Asparagina;
Asp	cido Aspártico;
ATR	Reflectância total atenuada (do inglês: <i>Attenuated Total Reflectance</i>);
CEUCS	Coleção (entomológica) da Universidade de Caxias do sul;
Cis	Cisteína;
<i>e.g.</i>	<i>exempli gratia</i> ;
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês: <i>Fourier Transform Infrared</i>);
Gln	Glutamina;
Glu	cido glutâmico
GPa	GigaPascal;
Gly	Glicina;
His	Histidina;
HPPE	Polietileno de alta performance (do inglês: <i>High Performance Poly Ethylene</i>);
Ile	Isoleucina;
Leu	Leucina;
Lis	Lisina;
Met	Metionina;
MEV	Microscopia Eletrnica de Varredura;
PCA	Análise de Componentes Principais (do inglês: <i>Principal Component Analysis</i>);
Phe	Fenilalanina;
Pro	Prolina;
Ser	Serina;
Thr	Treonina;
Trp	Triptofano;
Tyr	Tirosina;
Val	Valina;

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta;
cm^{-1}	Centímetros na menos um;
GPa	GigaPascal;
MJ/m^3	MegaJoule por metro cúbico;
MPa	MegaPascal;
%	Percentual;
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius;
μm	Micrometro;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 OBJETIVO GERAL.....	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 A SEDA ENTRE OS BIOMATERIAIS.....	19
2.2 APLICAÇÕES DA SEDA.....	20
2.3 ENTENDENDO A SEDA.....	21
2.4 USOS DA SEDA EM LEPIDOPTERA.....	33
2.5 TÁXONS EXAMINADOS.....	36
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 MATERIAIS.....	44
3.1.1 Obtenção das sedas.....	44
3.2 MÉTODOS.....	45
3.2.1 Medidas das áreas das seções transversais das fibras de seda.....	45
3.2.2 Observação da morfologia da superfície.....	45
3.2.3 Medidas das propriedades mecânicas das sedas.....	45
3.2.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.....	47
3.2.5 Análise de <i>Cluster</i>, PCA e regressão multilinear.....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1 MORFOLOGIA DAS SEDAS.....	48
4.2 PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	51
4.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	61
4.4 ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS E REGRESSÃO MULTILINEAR.....	63
5 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
ANEXO I.....	77
ANEXO 2.....	81
ANEXO 3.....	84
ANEXO 4.....	86

1 INTRODUÇÃO

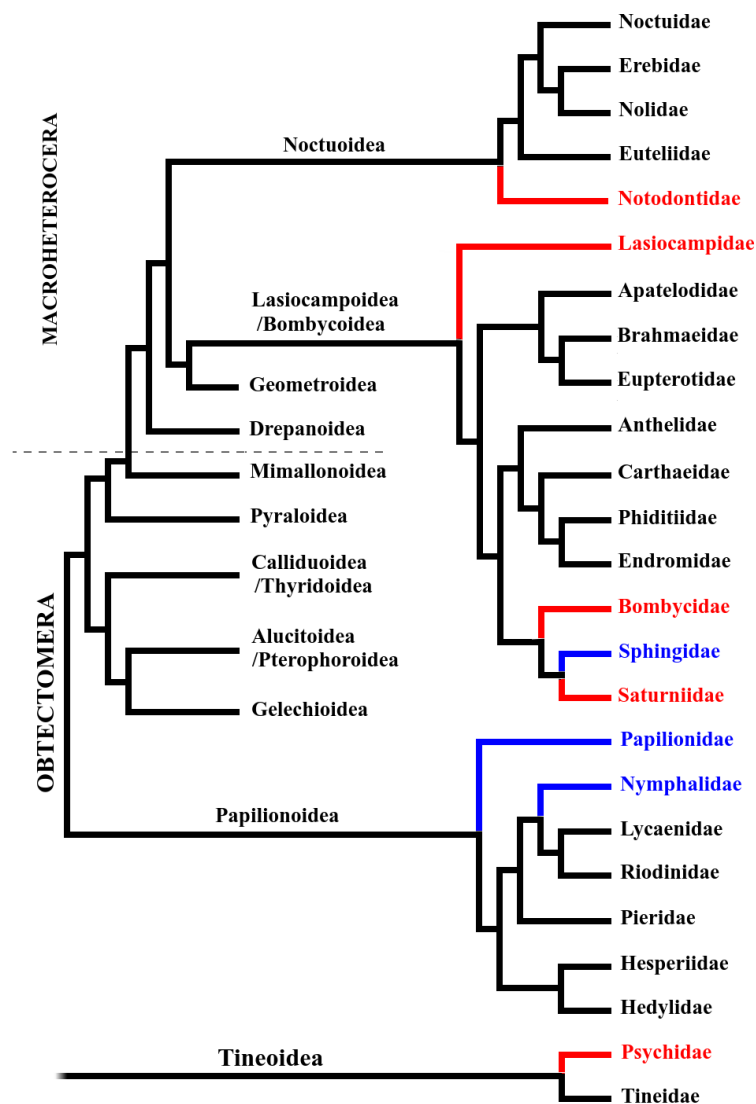
Nos últimos anos, vem surgindo cada vez mais, estudos de caracterização que visam espécies diferentes de lepidópteros, além do bicho-da-seda, devido às diferenças características de outras espécies. Os casulos do bicho-da-seda apresentam uma ampla gama de diferentes estruturas e combinações de propriedades físicas e químicas, para lidar com diferentes ameaças e condições ambientais. A seda se destaca devido às suas propriedades, possui alta *performance* em comparação com outros materiais, é ecologicamente benigna, e tem potencial para variadas aplicações médicas e tecnológicas (VOLLRATH; PORTER, 2009; CHEN *et al.*, 2012a). A expansão do entendimento da seda e o uso crescente de fibras de bichos-da-seda fornecem o embasamento para um maior interesse em entender a diversidade de todas as sedas.

No entanto, apesar da grande diversidade de sedas no grupo dos artrópodes, a seda da ordem Lepidoptera é a mais estudada e, mesmo assim, somente a seda de cerca de 50 espécies diferentes do bicho-da-seda, *Bombyx mori*, dentro de 29 gêneros, pertencentes à 5 famílias (BRUNET; COLES, 1974; FREDDI *et al.*, 1993; FREDDI *et al.*, 1994; SEN; BABU, 2004 a - b; FU *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010; REDDY; YANG, 2010 a - c; FU *et al.*, 2011; GHEYSENS *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2012 a,b; COLOMBAN *et al.*, 2012; REDDY; YANG, 2012; REDDY *et al.*, 2012; TESHOME *et al.*, 2012; REDDY *et al.*, 2013 a-b; BOULET-AUDET *et al.*, 2015; MALAY *et al.*, 2016; FANG *et al.*, 2016; FANG *et al.*, 2017; GUO *et al.*, 2018; DENG *et al.*, 2021; YOSHIOKA *et al.*, 2019) já tiveram sua seda estudada pela óptica da ciência de materiais, sendo que o número total de espécies é estimado em cerca de 160000 (KAWAHARA *et al.*, 2019). Ou seja, cerca de 0,03 % das espécies foram estudadas. No cladograma da Figura 1, os táxons estudados e seus grupos próximos estão marcados em vermelho, enquanto os novos táxons estudados aqui estão marcados em azul.

As sedas de borboletas e mariposas podem ser empregadas para construção de casulos com uma ampla variedade de morfologias e arquiteturas, variando em porosidade, de malhas soltas a conchas cheias, com ou sem uma abertura de saída, sendo que os casulos também podem incorporar materiais estranhos, como folhas para camuflagem. Algumas espécies encharcam o casulo com fluidos que ‘bronzeiam’ a seda, sendo que esses fluidos podem incrementar a seda com taninos, polifenóis, carotenóides e/ou oxalato de cálcio, que ficam impregnados principalmente na sericina. Também, a seda pode ser empregada, em algumas

espécies, para construção de abrigos pelas lagartas, por vezes coletivos. Também podem ser usados para melhor adesão na planta hospedeira por algumas e, frequentemente, para fixação da pupa pelo cremaster no substrato, sendo que a pupa pode ser protegida por uma cinta de seda nas famílias Papilionidae e Pieridae (LIMA, 1950; BRUNET; COLES, 1974; GHEYSENS *et al.*, 2011). Além disso, pode ser usado como cordão salva-vidas por algumas espécies (SIGIURA; YAMAZAKI, 2006).

Figura 1 – Cladograma incluindo os clados Obtectomera e Tineoidea da ordem Lepidoptera, mostrando famílias cujas sedas foram estudadas anteriormente (em vermelho) no contexto dos materiais e novas famílias estudadas neste trabalho.



Fonte: Baseado em Zahiri *et al.* (2011), Hamilton *et al.* (2019) e Kawahara *et al.* (2019).

Neste trabalho, 10 espécies nativas do Brasil tiveram as suas sedas investigadas por ensaios mecânicos e espectroscopia de infravermelho, correspondendo a sete espécies de mariposas e três de borboletas. Estão incluídas sedas de *Morpho epistrophus argentinus* e *Morpho helenor achillaena* da Família Nymphalidae, sedas de *Heraclides anchisiades capys* da Família Papilionidae, casulo móvel de *Oiketicus geyeri* da Família Psychidae, casulos de seda *Automeris illustris*, *Hylesia metapyrrha*, *Pseudautomeris luteata* e *Rothschildia aurota speculifera* da Família Saturniidae, e casulos de seda de *Madoryx bubastus* e *Madoryx oichus oichus* da Família Sphingidae, sendo que a análise da seda de parte dessas famílias é inédita na literatura (Figura 1). Foram usadas fibras de sedas provenientes diretamente dos casulos ou sedas depositadas sobre a planta hospedeira, em vez de fibras desengomadas, que são sujeitas a tratamentos químicos agressivos, para minimizar as mudanças nas propriedades que resultam de tais métodos (BOULET-AUDET *et al.*, 2015).

1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as propriedades mecânicas de sedas de Lepidópteros neotropicais e sua correlação com os compostos presentes nas fibras.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir um dispositivo para realização dos ensaios de tração com o intuito de caracterizar as sedas utilizadas nesta pesquisa;
- Avaliar a morfologia das fibras de seda através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), tanto para observar a superfície das fibras quanto para realização dos ensaios mecânicos;
- Determinar a concentração relativa de compostos fenólicos e taninos, oxalato de cálcio, estruturas de folhas- β e serina das sedas, através de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);
- Correlacionar os dados dos ensaios mecânicos através de regressão multilinear, e observar similaridades entre as amostras através de análise de componentes principais e análise de *clusters*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A SEDA ENTRE OS BIOMATERIAIS

Os biomateriais mostram propriedades únicas e multifuncionais, por vezes, não alcançadas em materiais artificiais. Eles geralmente exibem tramas estruturais complexas com base em blocos de construção organizados de maneira hierárquica em diferentes escalas de comprimento, do grau micro ao nanoscópico. Esses níveis estruturais são responsáveis por suas propriedades exclusivas e funcionamento multidimensional. Por exemplo, a natureza super-hidrofóbica da folha de lótus se origina de sua estrutura em vários níveis, onde os nanopelos retêm as gotas de água sem se aderir à elas. Com base nas funções que eles têm que desempenhar, a estrutura e composição desses materiais variam muito. Apesar da complexidade e diversidade estrutural, quase todos os materiais biológicos são de natureza altamente hierárquica: folha de lótus, o pé de lagartixa, nácar das conchas, madeira, seda e osso são, por exemplo, alguns desses materiais naturais (BENJWAL; BALANI, 2015).

Os biopolímeros podem ser encarados como os blocos de construção da vida, pois são produzidos pelos seres vivos para fornecer suporte estrutural intra e extracelular e uma interface com o mundo abiótico. As proteínas estruturais são caracterizadas por sequências únicas e repetitivas de aminoácidos que transmitem a formação de domínios grandes, estáveis e “cristalinos” e promovem a auto construção. A combinação de estruturas cristalinas com montagem em materiais hierarquicamente organizados, que geralmente têm a forma de fibras, é evidente em muitas proteínas estruturais, incluindo colágenos, queratinas e sedas, e representa sua característica distinta de outras proteínas (ZHOU *et al.*, 2018).

As proteínas estruturais são geralmente conhecidas através de termos funcionais, que são usados para descrever a família de proteínas com aminoácidos semelhantes, composição e características, por exemplo, "queratina" é um termo amplo que foi usado pela primeira vez para todas as proteínas extraídas da pele e suas modificações, como cabelos, chifres, garras, bicos e cascos. Atualmente, o termo "queratina" abrange todas as proteínas intermediárias que formam filamentos, com propriedades físico-químicas específicas, e produzidas em qualquer epitélio vertebrado (BRAGULLA; HOMBERGER, 2009). Da mesma forma, "seda" é um termo funcional usado para descrever uma família de fibras proteicas fiadas por várias linhagens de artrópodes (ZHOU *et al.*, 2018). Mais especificamente as sedas são proteínas fibrosas contendo sequências altamente repetitivas de aminoácidos e são armazenadas no

animal como um líquido e se configuram em fibras quando cortadas ou fiadas na secreção (CRAIG, 1997).

2.2 APLICAÇÕES DA SEDA

A seda mais utilizada e conhecida pelo ser humano é obtida dos casulos de bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Insecta: Lepidoptera: Bombycidae), criado em cativo, alimenta-se exclusivamente com folhas de amoreira – *Morus* (Moraceae), contribui com 95 % da produção total de seda usada na fabricação do tecido seda. O bicho-da-seda é procedente da China e há cerca de 5 milênios vem sendo criado pelo ser humano para aquisição da seda. Da China, a sericultura espalhou-se pelo Oriente e Ásia menor. Desde 1740, o bicho-da-seda passou a ser criado na Europa. Em 1848 foi introduzido no Brasil. A partir de 1930, a sericultura tornou-se uma considerável atividade para a agroindústria no Brasil e, hoje em dia, o estado do Paraná produz a maior parte da seda brasileira (DIAMANTE DO SUL, 2020).

Além disso, os materiais de seda estão cada vez mais se mostrando importantes para trabalhar no ambiente na interface entre o meio biótico e o meio abiótico. Podem ser aproveitados pela tecnologia de micro e nanomanufatura para conferir novas funções e oportunidades. A visão convencional da seda vem sendo mudada pelo progresso recente na tecnologia da seda que possui cada vez mais espaço nas aplicações de alta tecnologia, possibilitadas pelas inovações recentes em modificações multiníveis, fabricação em múltiplas escalas e caracterização multimodal de materiais de seda. Esses avanços permitiram demonstrações bem-sucedidas de materiais de seda em várias disciplinas, incluindo engenharia de tecidos, administração de medicamentos, dispositivos médicos implantáveis e dispositivos biossolúveis e biodegradáveis (ZHOU *et al.* 2018).

Com o avanço dos estudos sobre a seda, atualmente, a tecnologia da seda também avança. A seda está sendo infundida com enzimas e semicondutores, seus fios modificados sob condições variáveis de temperatura, cisalhamento e ácidos para criar novos materiais com propriedades notáveis. A medicina usa suturas de seda, pois são fortes e compatíveis com o tecido humano, o que significa que o sistema imunológico do corpo não as rejeita. Pesquisas estão sendo desenvolvidas para utilizar tubos finos de seda que podem ser usados como enxertos para substituir seções de artérias entupidas, o que poderia eliminar a necessidade de extrair uma veia, para essa finalidade, da perna de um paciente para um desvio coronário.

Scaffolds de seda podem servir como suportes implantados para reconstruir tecidos ou ossos (CHEN *et al.*, 2010; OMENETTO; KAPLAN, 2010; HUANG *et al.*, 2018).

A biocompatibilidade também oferece aos engenheiros uma maneira de criar sensores. Já há pesquisas onde estão sendo desenvolvidas sedas condutoras, materiais eletrônicos, fotônicos, modelando metais ou filmes finos na superfície da seda. Os médicos poderão um dia colocar esses filmes profundamente no cérebro para tratar epilepsia ou lesões na medula espinhal. Implantes de seda em animais já demonstraram a liberação lenta de medicamentos para controlar convulsões (OMENETTO; KAPLAN, 2010; SHIMANOVICH *et al.*, 2018).

2.3 ENTENDENDO A SEDA

Seda é um termo genérico usado para descrever fibras protéicas produzidas por vários grupos de artrópodes. A fiação não envolve nenhum tipo de rotação ou torção da fibra, mas refere-se ao processo de produção de um filamento insolúvel a partir de uma solução aquosa de proteína. A seda do casulo dos *Bombyx mori* é a maior fonte do entendimento da formação da seda. Nos últimos anos, houve um ressurgimento do interesse pela seda na esperança de replicar suas notáveis propriedades mecânicas usando a biotecnologia moderna. A maioria das pesquisas se concentrou na seda do casulo dos bichos-da-seda, bem como na seda das aranhas. No entanto, muitas espécies de insetos produzem seda para uma ampla variedade de propósitos, e há pouca informação disponível sobre a composição e produção da maioria dessas sedas, até mesmo a seda de outros Lepidoptera, o grupo onde se tem mais conhecimento sobre o assunto (CRAIG, 1997; SUTHERLAND *et al.*, 2010).

Distingue-se de outras proteínas estruturais, como a queratina e o colágeno, por ser constituída, geralmente, por proteínas fibrosas contendo sequências altamente repetitivas de aminoácidos (alanina, glicina e serina), e são armazenadas no interior do animal como um líquido, tornando-se fibras quando fiadas na secreção. Ensaaios com sedas de *Bombyx mori* e do gênero *Araneus* (Arthropoda: Arachnida: Araneida), mostram que essas sedas são comparáveis em força a outras fibras biológicas, como celulose, colágeno e quitina, e são mais fortes que a queratina. No entanto, diferem de outras proteínas fibrosas na capacidade de se estender para 50 % do seu comprimento de repouso antes da ruptura. Dessa forma, essas sedas são cinco a dez vezes mais extensíveis que a quitina e a celulose e duas vezes mais extensíveis que o colágeno (CRAIG, 1997; BENJWAL; BALANI, 2015). Os aminoácidos

glicina, alanina ou serina são predominantes nas sedas dos insetos, embora os aminoácidos predominantes variem, mesmo dentro da ordem Lepidoptera (ver Tabela 1). A predominância desses aminoácidos é provavelmente devido ao seu caráter não essencial, se as sedas contivessem aminoácidos essenciais, os níveis de produção de seda seriam limitados pelos níveis de proteína na dieta do inseto (SUTHERLAND *et al.*, 2010).

Estudos com *Yponomeuta evonymella*, uma mariposa de uma família que divergiu do restante dos lepidópteros há cerca de 150 milhões de anos, revelam que o modo de construção da fibra de seda é altamente conservado (YONEMURA; SEHNAL, 2006). As sedas atravessaram muitos milhões de anos de ajuste por processos de seleção natural que moldaram as formas e a *performance* de todas as sedas modernas. Logo, as sedas são muito eficazes, com uma imensa diversidade de propriedades para satisfazer uma ampla gama de funções de sobrevivência selecionadas para propiciar chances de sobrevivência. Assim, as sedas não são apenas selecionadas por diferentes processos, mas, além disso, também são isoladas por centenas ou dezenas de milhões de anos de distintos ajustes e aprimoramentos evolutivos para usos específicos (CRAIG, 1997). Mais importante ainda, a seda, como todos os outros produtos biológicos, também evoluíram para dar uma boa relação custo-benefício, com "dinheiro" sendo o eufemismo para "energia", que é a moeda comum da vida (VOLLRATH; PORTER, 2009). Estudos cristalográficos de raios X em sedas, produzidas por mais de 100 espécies de insetos, revelaram várias classes de conformação da cadeia proteica, que se correlacionam com a composição de aminoácidos. As análises cristalográficas de raios X, concluídas nas décadas de 1950, 1960 e 1970, juntamente com estudos ecológicos sobre propriedades mecânicas da seda e os usos funcionais das sedas, forneceram dados suficientes para as primeiras análises da evolução das proteínas da seda e sua importância ecológica entre os grupos de insetos (CRAIG, 1997).

A glândula da seda, um par de órgãos tubulares que se estende lateroventralmente até o trato digestivo, começando no segmento labial até a região caudal (KUNZ *et al.*, 2016). A seda é armazenada como um gel em seu lúmen e convertida em um filamento sólido durante a fiação. As proteínas nascentes são montadas em unidades elementares no retículo endoplasmático, formam microfibras nos vacúolos de Golgi e são liberadas como grânulos secretores no lúmen da glândula, onde se acumulam como um gel altamente concentrado, o dope, o filamento polimeriza durante a passagem do gel através da fieira devido às fracas interações moleculares formadas entre os resíduos de aminoácidos que são regularmente

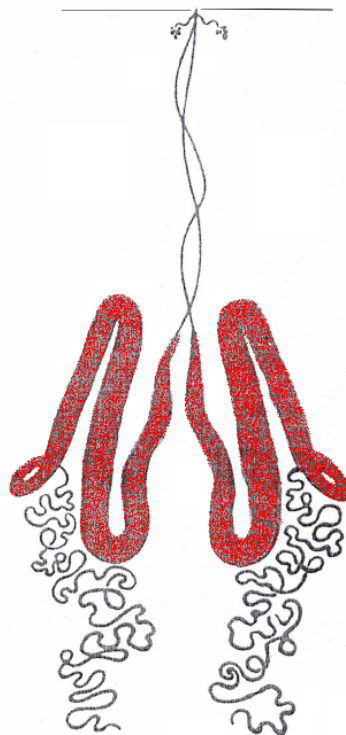
Tabela 1 – Concentração percentual de aminoácidos em espécies de Lepidoptera. Concentrações acima de 7 % destacados.

Espécie	Apolares										ácidos					básicos					polares					Ref.
	Ala	Gly	Ile	Leu	Met	Phe	Pro	Trp	Val	Asp	Glu	Arg	His	Lis	Asn	Cis	Gln	Ser	Tyr	Thr	Thr					
<i>Bombyx mori</i>	27,6	43,4	0,7	0,7	0,2	0,1	0,8	0,7	2,4	1,6	1,8	1,1	0,1	0,2	-	0,1	-	10,4	5,6	0,9	Sen & Babu, 2004a					
	19,8	28,2	0,9	0,9	0	1,2	0,3	-	3	8,1	1,5	2,5	0,9	1,8	-	0,2	-	20,7	8,8	4,1	Deng <i>et al.</i> , 2021					
<i>Bombyx mandarina</i>	24,1	32,4	0,8	0,7	0	1,2	0,3	-	2,7	5,2	0,6	1,5	0,7	0,9	-	0,2	-	17,2	9,4	2,5	Deng <i>et al.</i> , 2021					
<i>Actias lunas</i>	22,3	11,9	0,9	7,5	-	-	-	-	2,2	6,6	4,3	6,6	0,7	1,4	-	-	-	16,6	15,3	2,8	Reddy & Yang, 2012					
<i>Antherea assama</i>	34,7	28,4	0,5	0,7	0,3	0,3	2,2	2,2	1,5	5	1,4	-	0,7	0,2	4,7	0,1	-	9,1	5,1	0,2	Sen & Babu, 2004a					
	42,6	28,7	0,3	0,3	0	0,3	0,5	1,3	0,6	-	-	2,5	1,1	0,2	5	0,3	1,3	9,2	4,9	0,7	Freddi <i>et al.</i> , 1994					
<i>Antherea mylita</i>	34,1	27,6	0,6	0,8	0,3	0,3	2,2	1,3	1,7	8,1	1,3	5	0,8	0,2	-	0,1	-	9,9	6,8	3	Sen & Babu, 2004a					
<i>Attacus atlas</i>	45	22,2	-	-	-	-	-	-	-	3,2	3,6	2,2	2,2	-	-	-	-	6,5	11,4	-	Reddy <i>et al.</i> , 2012b					
<i>Eupackardia calleta</i>	32,7	19,1	-	6,5	-	-	-	-	-	6	3,6	5,6	1,3	-	-	-	-	9,4	9,4	-	Reddy <i>et al.</i> , 2013a					
<i>Hyalophora cecropia</i>	32,5	17,6	-	-	-	-	-	-	-	4,8	3,6	4,3	1,9	-	-	-	-	-	10	18,2	Reddy <i>et al.</i> , 2010b					
<i>Rothschildia labeau</i>	38,8	24,4	-	0,5	-	-	-	-	-	-	4,5	2,5	-	-	3,4	-	-	7,4	13,4	-	Reddy <i>et al.</i> , 2013b					
<i>Samia ricini</i>	36,3	29,3	0,4	0,7	0,3	0,2	2,1	1,7	3	3,9	1,3	4,1	0,7	0,2	-	0,1	-	8,9	5,8	0,2	Sen & Babu, 2004a					
<i>Gonometa rufobrunnea</i>	23,7	38,9	0,7	2,1	0,1	0,5	2,1	-	1,1	-	-	6,1	0,1	0,5	7,1	0,06	1,8	12,9	5,1	1,1	Freddi <i>et al.</i> , 1993					
<i>Eumeta variegata</i>	43,2	44,3	0,3	0,1	-	0,1	0,1	-	1,9	-	0,8	-	-	-	-	-	-	7	1,9	0,1	Yoshioka <i>et al.</i> , 2019					
<i>Theriodopteryx ephemeriformis</i>	5,2	1,4	2,2	10,9	1,3	7,2	3,9	-	4,8	7,8	14,5	5,5	3,7	11,1	-	4,7	-	3,6	6,8	5,1	Reddy & Yang, 2010c					

espaçados de forma repetitiva na maior parte da molécula de fibroína. O armazenamento prolongado em forma de gel e a conversão rápida em um filamento sólido são propriedades únicas da seda que não são completamente esclarecidas (FEDIČ *et al.*, 2002; YONEMURA; SEHNAL, 2006).

As proteínas do núcleo forte e flexível do filamento de seda são comumente chamadas de fibroínas e as do revestimento são conhecidas como sericinas. Nas lagartas, as proteínas de fibroína são secretadas na seção posterior das glândulas da seda e são empurradas como uma coluna de uma dope gelatinosa para a seção média da glândula (Figura 2), onde são sobrepostas pelas secreções de sericina. Na fiação, os componentes da fibroína se solidificam no núcleo do filamento durante a passagem do dope pela fieira, enquanto o revestimento pegajoso de sericina endurece com um atraso. O endurecimento da camada interna de sericina aglutina o par de filamentos em uma única fibra e, o endurecimento subsequente das camadas externas de sericina, proporciona a fixação da fibra aos substratos e a ligação interfibras durante a fiação do casulo (ŽUCOREV *et al.*, 2016).

Figura 2 – Glândulas de seda de *Bombyx mori*. Seção posterior (abaixo), seção média (vermelho) e seção anterior (acima).

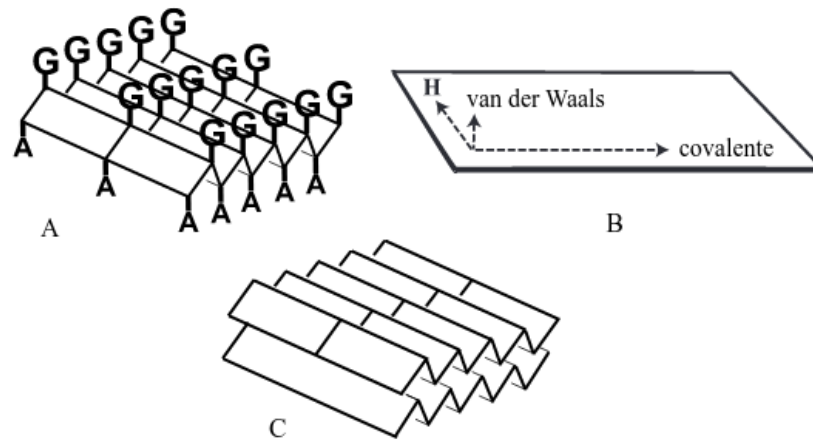


Fonte: Mondal *et al.* (2007).

A sericina é insolúvel em água fria, no entanto, é facilmente hidrolisada em água quente, onde, as longas moléculas de proteína, se reduzem a frações menores, que são facilmente dispersas ou solubilizadas. A proteína sericina pode ser útil por causa de suas propriedades especiais, como resistência à oxidação, ação antibacteriana, resistência a UV e absorve e libera umidade facilmente, atividade inibidora de tirosinase e quinase, etc (MONDAL *et al.*, 2007).

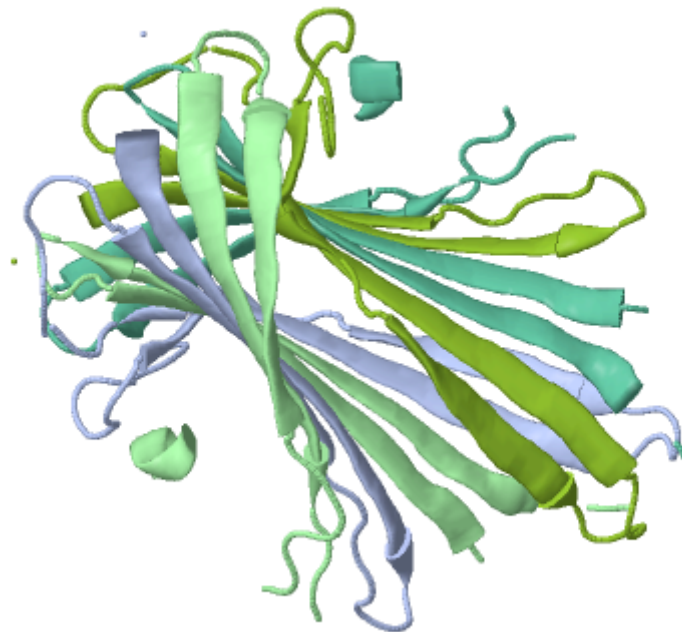
A fibroína, como visto na Tabela 1, tem a alanina, glicina e serina como aminoácidos predominantes, com concentrações significativas de tirosina em muitos Bombycoidea, mas podem ocorrer combinações bastante anômalas, como em *Theridopteryx ephemeraeformis*. Em *B. mori*, as cadeias polipeptídicas da fibroína formam folhas- β antiparalelas que, com uma ligeira prega nelas, são estabilizadas por ligações de hidrogênio não tensionadas (Figura 3A) (a conformação da folhas- β paralela requer que as ligações de hidrogênio sejam tensionadas e, portanto, é energeticamente menos favorável e mais instável). Na estrutura terciária, todas as cadeias laterais de glicina (-H) se projetam para um lado da folha pregueada; as cadeias de serina e alanina projetam-se para o outro lado. Quando as cadeias são empacotadas, esses grupos se alternam para dar uma estrutura muito mais compacta (Figura 3C, Figura 4) que é estabilizada por forças de van der Waals. O diagrama na Figura 3B resume as principais forças estabilizadoras dentro das áreas da folhas- β como vetores (ou seja, o comprimento da linha é um tanto proporcional à resistência da ligação). Portanto, a fibra deve ser rígida ao longo do comprimento da folha. As forças de van der Waals são relativamente fracas, então o movimento é possível entre as folhas, resultando em uma fibra flexível (VINCENT, 2012). As características mecânicas da fibroína de seda originam-se predominantemente das interações entre e dentro desses blocos de construção.

Figura 3 – Arranjo de glicina e alanina em uma folhas- β estendida de seda (A); Os principais vetores que estabilizam a estrutura da folha- β estendida da seda (B); Empilhamento de folhas- β estendidas de seda em uma estrutura de automontagem (C).



Fonte: Vincent (2012).

Figura 4 – Representação da tridimensional da fibroína, exibindo suas estruturas em folhas- β .



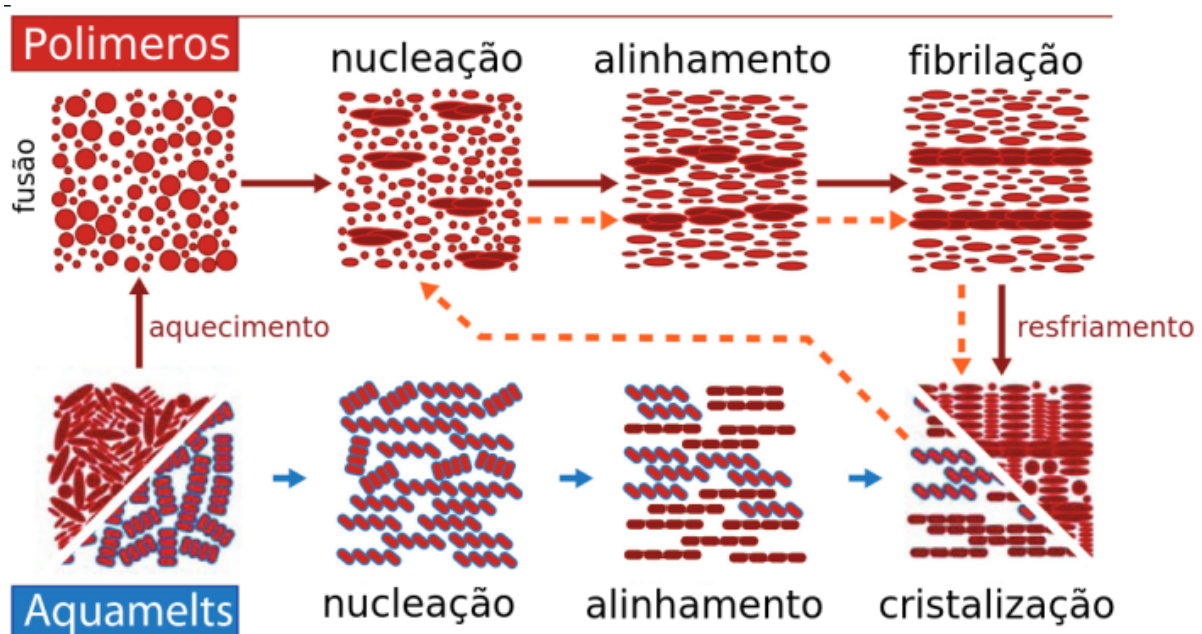
Fonte: Proteopedia (2020).

Assim, de forma análoga à fixação por fusão de um polímero sintético, na fiação natural de uma seda, as moléculas se alinham, nucleiam-se (desnaturam-se) e cristalizam (agregam-se). O mecanismo por trás dessa similaridade, é devido à interação única da proteína nativa com sua água ligada. Assim, como uma cadeia de polímero individual em uma fusão, as proteínas da seda e suas moléculas de água associadas podem ser consideradas como uma única entidade processável, um estado nanocompósito de matéria biológica que definido como *aquamelt* (Figura 5). O suporte para este termo deriva de uma comparação de seda nativa e seda reconstituída, ou seja, seda fiada que foi dissolvida por fortes produtos químicos caotrópicos. Enquanto a seda nativa se comporta como um polímero fundido sob fluxo, as sedas reconstituídas se comportam como uma suspensão (HOLLAND *et al.*, 2011).

Figura 5 – Formação de fibras em polímeros (setas vermelhas) e sua proposta aquamelts de subclasse (setas azuis). As setas horizontais representam etapas de cisalhamento, com comprimento correspondente à quantidade relativa de trabalho necessária para a fibrilação.

Objetos coloridos representam componentes responsáveis pela fibrilação: moléculas de cadeia longa (seu raio de rotação ou forma) em polímeros e proteínas (estruturas secundárias e terciárias) em aquamelts com diferenças de tonalidade correspondendo a diferenças de fase.

O contorno azul de aquamelts representa a camada externa de hidratação da proteína. As setas laranja representam o caminho que a seda reconstituída segue para ser reprocessada em uma fibra.



Fonte: Holland *et al.* (2011).

Para todas as sedas, a conversão de solução aquosa em fibra sólida pode ser interpretada como uma desnaturação controlada por desidratação durante uma transição de

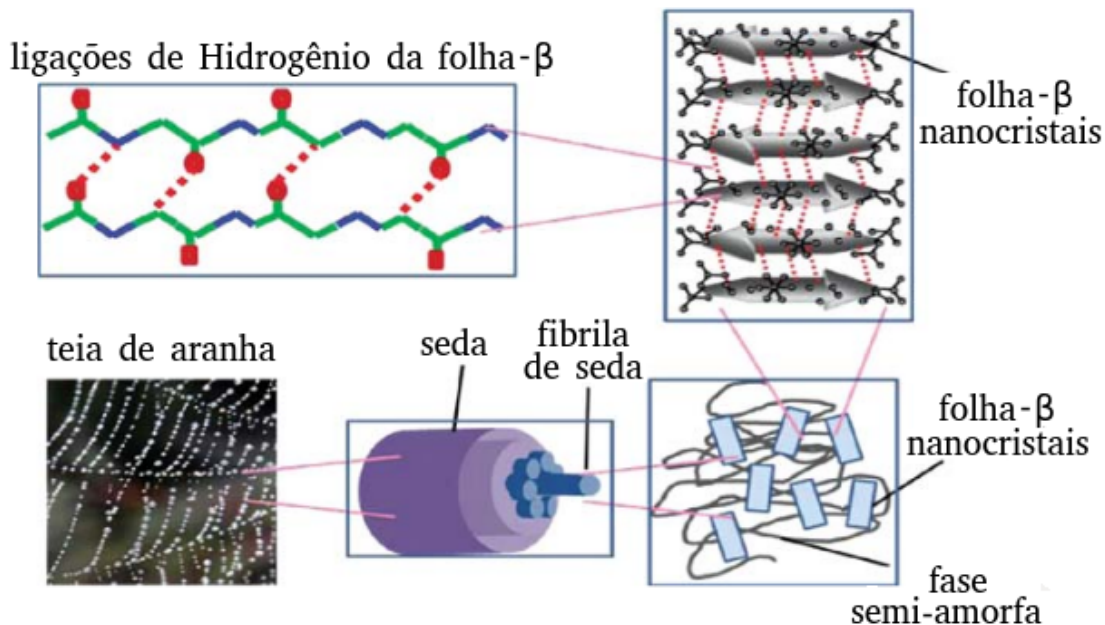
fase, que por sua vez é conduzida pela combinação de forças mecânica, de fluxo e químicas (mudança de pH). Ambas as condições de processamento modeladas e observadas levam à desidratação ou desnaturação espontânea, mas controlada, da proteína com a água, sendo "empurrada para fora" das fibras por conjuntos de grupos hidrofóbicos no polímero. Assim, a taxa e a proporção de desidratação afetam a formação (e, portanto, a conformação) das ligações de hidrogênio, que mantêm as macromoléculas dobradas em escala nanométrica e interligadas por ligações de hidrogênio intermoleculares e, assim, determinam as propriedades da fibra sólida (VOLLRATH; PORTER, 2009).

A seda é uma fibra à base de proteínas com alta resistência à tração e alta extensibilidade. Para a seda de aranha, a força que excede a do aço surge devido à sua estrutura hierárquica característica em várias escalas de comprimento. A Figura 6 mostra o diagrama esquemático da estrutura da seda de aranha em várias escalas de comprimento. Os cristais de folhas- β antiparalelos em nanoescala, consistindo em repetições de poli-alanina-glicina, $(AG)_n$, e/ou poli-Alanina, $(A)_n$ têm um papel fundamental na definição das propriedades mecânicas da seda, fornecendo reticulação ordenada. Esses domínios estão incorporados em uma matriz semi-amorfa que consiste predominantemente em estruturas de folhas- β menos ordenadas, hélices- α e alças- β . Nanocristais de folhas- β , ligados por meio de conjuntos de ligações de hidrogênio, têm dimensões de uns poucos nanômetros e constituem cerca de 10-15 % do volume de seda, enquanto que estruturas estendidas, menos ordenadas, o conteúdo da folha- β pode exceder 50 %, para sedas de aranha e bicho-da-seda. Sob carga lateral, essas folhas- β nanocristalinas funcionam como reforço da fase semi-amorfa pela formação de regiões interligadas. Assim, a carga é transferida entre longas cadeias polipeptídicas por meio da coesão fornecida por esses nanocristais. Isso fornece alta capacidade de alongamento para a fase semi-amorfa (KETEN, *et al.*, 2010; BENJWAL *et al.*, 2015). Para Saturniidae, as estruturas de folhas- β nas sedas derivam principalmente das sequências repetitivas poli(A), semelhantes às sedas de aranha (GUO *et al.*, 2018).

A correlação entre o conteúdo das folhas- β e a cristalinidade das sedas mostra que o aumento do conteúdo da folha- β nas sedas resultaria em aumento da cristalinidade, indicando que a estrutura da folha- β é o componente primário para formar nanocristalitos em sedas. Com o aumento da cristalinidade, a resistência da fibra de seda aumenta, enquanto a extensibilidade das fibras de seda diminui. Isso ocorre porque a resistência e a extensibilidade

das sedas originam-se principalmente dos nanocristalitos e do domínio amorfo, respectivamente, dentro das fibras de seda (GUO *et al.*, 2018).

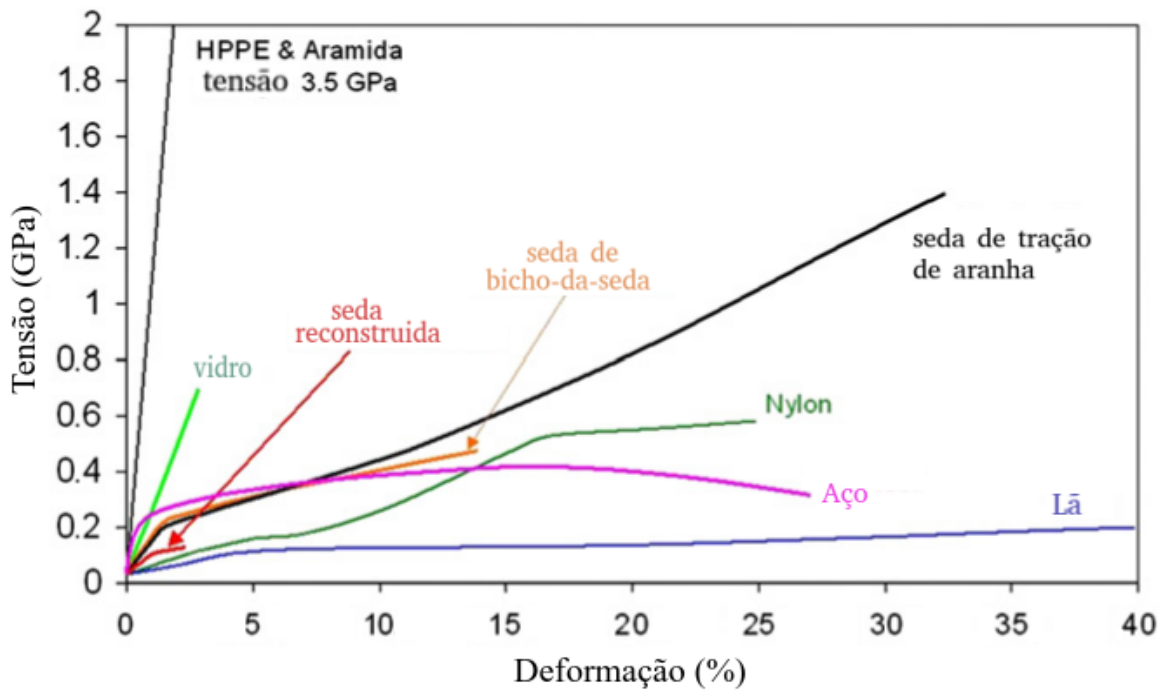
Figura 6 – Estrutura hierárquica da seda, mostrando a partir da teia de aranha, desde suas fibrilas até suas folhas- β com suas ligações de hidrogênio entre as cadeias polipeptídicas



Fonte: Benjwal e Balani (2015).

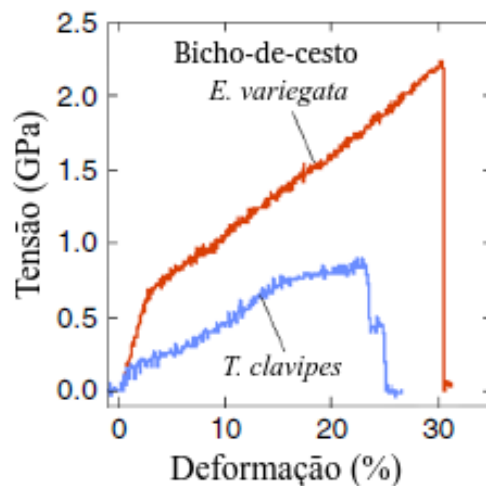
As sedas se destacam entre os materiais naturais e sintéticos, além de suas versatilidade, pelo seu alto ponto de tensão-deformação. A seda de aranha - $\sim 1,3$ GPa - é apenas superada, (Figura 7) por HPPE & aramida - 3,5 GPa (VOLLRATH; PORTER, 2009), mostrando a superioridade das sedas de aranha em relação a outras fibras naturais. Porém dados mais recentes (YOSHIOKA *et al.*, 2019), demonstram que a seda dos lepidópteros pode alcançar valores de tensão de deformação muito superiores. A seda do bicho-de-cesto *Eumeta variegata* pode atingir - 2,25 GPa - superando a seda da aranha *Triconephila clacipes* - 0,9 GPa (Figura 8). Além disso, os valores de resistência à tração são extraordinariamente altos em comparação com outras sedas conhecidas, além de outros materiais. Além disso, a seda de *E. variegata* exibe um comportamento ideal de tensão-deformação, sem uma tensão nivelada após o limite de elasticidade, mas seguida por um endurecimento linear e íngreme logo após a deformação elástica.

Figura 7 – Curvas de tensão-deformação mostrando vários materiais sintéticos e naturais. No gráfico, podemos ver que a seda de aranha é apenas superada pela HPPE & aramida.



Fonte: Vollrath e Porter (2009).

Figura 8 – Curvas de tensão-deformação das sedas de *Eumeta variegata* (Insecta: Psychidae) e de *Trichonephila clavipes* (Aracnida: Nephilidae).

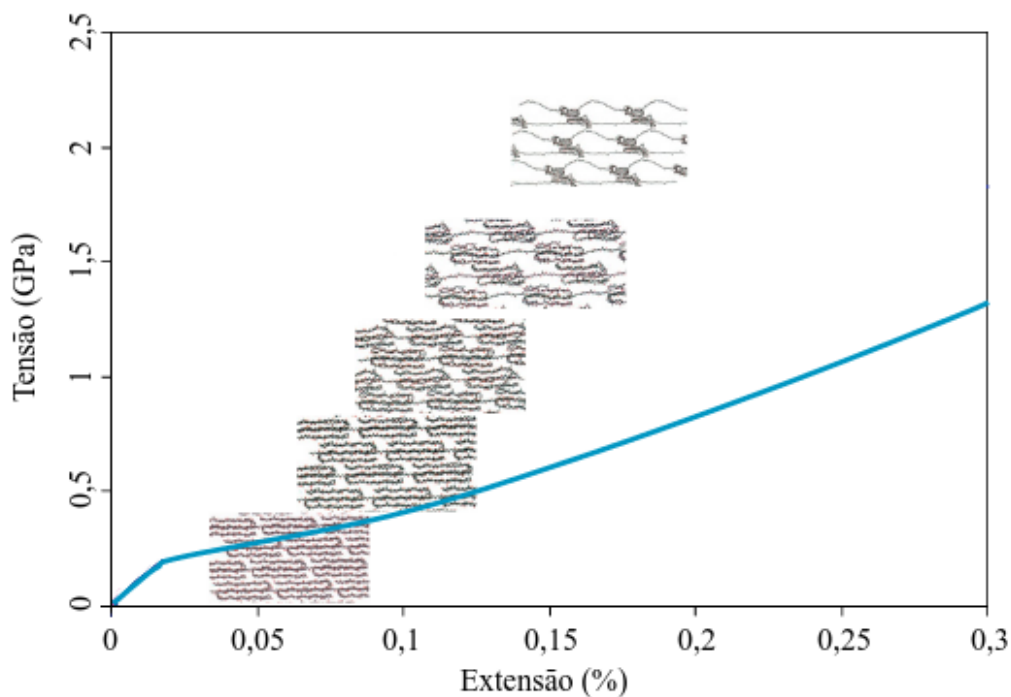


Fonte: Yoshioka *et al.* (2019).

Quando as fibras de seda são expostas ao estiramento, os nanocristais de folhas- β reforçam as cadeias macromoleculares parcialmente estendidas e orientadas, formando

regiões interligadas que transferem a carga entre as cadeias sob carga lateral. Desse modo, os nanocristais de folhas- β fornecem coesão entre as longas fitas polipeptídicas, permitindo que os domínios amorfos se estiquem significativamente (Figura 9). Eventualmente, a fratura de nanocristais de folhas- β ocorre em grande deformação e grandes cargas, onde o carregamento típico em nanocristais de folhas- β individuais é lateral (KETEN *et al.*, 2010).

Figura 9 – Simulação de curva de tensão-deformação e os respectivos eventos na estrutura molecular da seda.



Fonte: Adaptado de Vollrath e Porter (2009).

Colomban *et al.* (2012) estudaram o efeito de diferentes formas de estresse no comportamento mecânico, e elencou 5 tipos de comportamentos (Figura 10):

Tipo I: a curva exibe um comportamento elástico linear até 2 % da deformação e então um quase platô é observado; um pequeno solavanco é frequentemente observado na transição entre esses dois regimes.

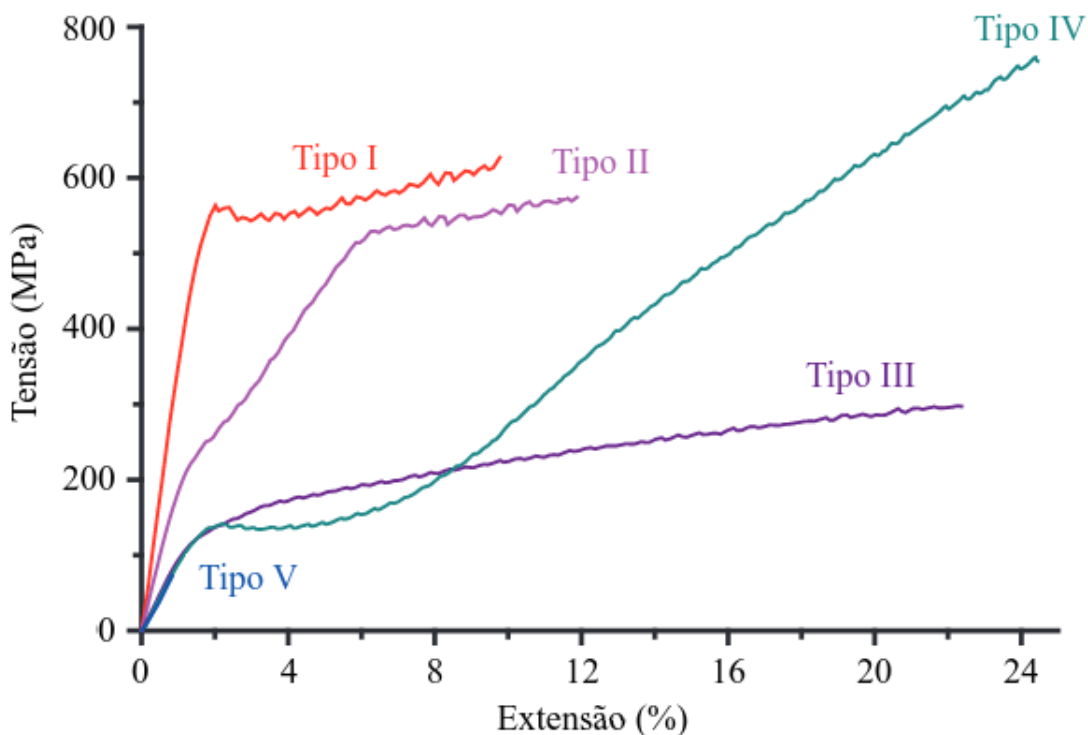
Tipo II: a curva consiste em comportamentos elásticos lineares de duas etapas de até 5–6 % com torções em ~ 2 % e 5–6 % e, em seguida, mostra um quase platô.

Tipo III: a curva é caracterizada por uma transição suave de um comportamento linear para um platô.

Tipo IV: a curva começa bastante semelhante à curva do tipo I, mas acima de ~ 8-12 %, um segundo comportamento quase linear é observado, bastante semelhante ao endurecimento observado para muitos materiais metálicos.

Tipo V: as fibras se rompem durante o primeiro estágio elástico. Assim, esta curva revela a sobreposição do Tipo V, Tipo III e Tipo IV no regime elástico.

Figura 10 – Os cinco tipos de curva tensão-deformação das fibras de seda natural. A curva do tipo V se sobrepõe às dos tipos III e IV no regime elástico.



Fonte: Colomban *et al.* (2012).

Uma diminuição do módulo de Young, medido abaixo de 2 % da deformação no regime elástico, é observada para todos os tipos, exceto o tipo I, que revelam mudanças estruturais significativas: diminuição da densidade da ligação química por unidade de volume (ou seja, uma perda de cristalinidade) ou diminuição da força da ligação química (ou seja, uma mudança de estrutura), ou uma combinação de ambas as modificações. As tensões finais mais altas foram obtidas para filamentos não gomados do tipo I e fibras livres de sericina tipo II ou IV. As tensões finais mais altas foram medidas para as fibras do tipo IV. Sem ambiguidades, o tipo IV é obtido para fibras sem sericina, secas ou velhas. O tipo III é característico para fibras saturadas com água. O tipo I é observado para fibras fiadas frescas e

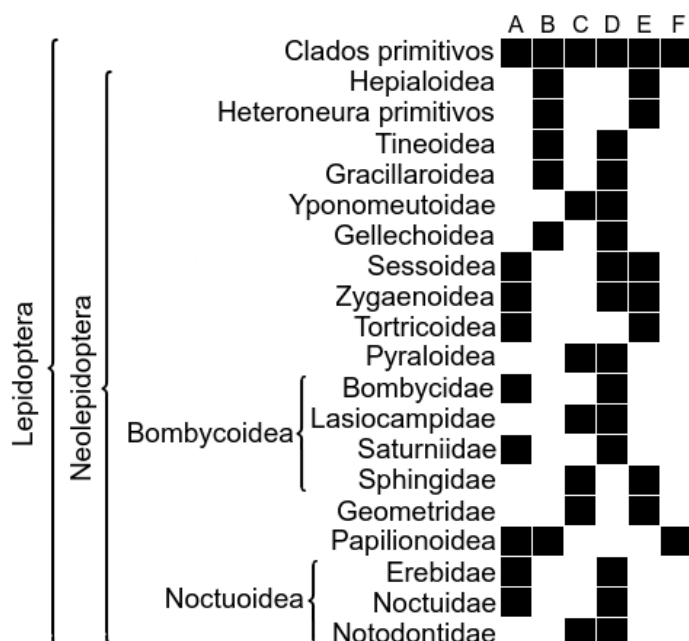
revestidas com sericina, baves. O tipo II é mais frequente para fibras extraídas de fios não desengomados. O comportamento do tipo V é detectado apenas para amostras quimicamente tratadas intensamente (ácido/base ou fibras desengomadas tingidas), ou amostras tratadas termicamente, ou seja, após alguma degradação.

2.4 USOS DA SEDA EM LEPIDOPTERA

As sedas desempenham um papel crucial na sobrevivência e reprodução de muitos insetos, Mesmo entre borboletas e mariposas que são os principais herbívoros nas copas das florestas, as sedas desempenham muitas funções. As larvas da maioria dos lepidópteros produzem seda de suas glândulas labiais. Embora a seda seja mais conhecida por ser usada em casulos, é muito mais usada para construir esconderijos do que em casulos para empupar, como faz o bicho-da-seda. As lagartas usam fios de seda fiados a partir das fieiras para vários fins, como fazer ninhos, enrolar e amarrar folhas, dispersão, construção de casulos, e em raros casos para capturar presas. Quando perturbadas ou alarmadas, algumas lagartas caem em direção ao solo e ficam suspensas na copa das árvores por uma corda de seda que sai das fieiras (CRAIG, 1997; FEDIČ *et al.*, 2002; SIGIURA; YAMAZAKI, 2006; SUTHERLAND *et al.*, 2010). Em muitas espécies de hábito gregário, pode-se observar, deposição de seda que pode servir para fixação na planta hospedeira (LIMA. 1950). Como pode ser visto na Figura 11, a maioria dos clados de Lepidoptera produzem seda em seus estágios iniciais, provavelmente para facilitar a fixação no substrato. Outros produzem casulos móveis que usam como abrigo até a chegada do estágio adulto.

Muitas espécies de lagartas gregárias tecem ninhos coletivos de seda e podem incorporar substrato na construção. Muitos desses ninhos podem ser construídos como estruturas fechadas que crescem conforme as lagartas crescem ou são simplesmente uma camada de seda depositada sobre a planta hospedeira. Costumam permanecer de dia e saem à noite para se alimentar; o ninho por vezes pode servir de abrigo para outras espécies (LIMA. 1950; UNDERWOOD; SHAPIRO, 1999; BRANCO *et al.*, 2008; LEITE *et al.*, 2010). Na família de borboletas Hesperiiidae, em que a maioria das lagartas é solitária, logo após o nascimento, constroem um abrigo constituído por um pedaço de folha, que cortam sem destacá-lo completamente e dobram para a face ventral. As lagartas, na maioria das espécies, empupam sob uma dobra ou entre folhas presas por fios de seda (LIMA. 1950).

Figura 11 – Visão geral das principais superfamílias de lepidópteros e famílias representativas de Bombycoidea e Noctuoidea. As atividades de fiação de larvas de instar inicial são indicadas por **A** (fiação leve), **B** (moderada) e **C** (extensa), e intensidade de fiação associada à formação do casulo com letras **D** (casulo bem formado), **E** (casulo solto ou abrigo semelhante), e **F** (cinto de seda ou acessório semelhante).



Fonte: Adaptado de Fedič *et al.* (2002).

Na maioria dos lepidópteros, as fêmeas voam e dispersam os ovos em plantas hospedeiras adequadas. No entanto, apesar do comportamento ser mais conhecido em aranhas, alguns lepidópteros, particularmente espécies dendrófagas, se dispersam, em estágios iniciais e por vezes mais avançados, usando fios de seda e são carregadas no ar. Esse comportamento, o balonismo, é o principal meio de dispersão para as espécies de lepidópteros com fêmeas que não voam (DAVIS, 1964; COX; POTTER, 1986).

No fim da fase larval, na fase de pré-pupa, as lagartas que produzem casulos buscam um local adequado, e começa a excretar a fibra de seda de suas fiandeiras e a fiar ao redor do corpo para formar uma estrutura protetora. Quando a larva se fecha dentro do casulo, ela entra na fase dormente chamada de fase pupal. Esta fase dormente varia de espécie para espécie e pode durar de algumas semanas a muitos meses (ROY *et al.*, 2012). Uma vez que a fase dormente termina, a forma adulta emerge do casulo. Os casulos variam amplamente em tamanho, durabilidade, estrutura, forma e cor, bem como em outras características, como

fixação ao substrato e oferece um espaço fisicamente isolado para o desenvolvimento da pupa (DANKS, 2004). Os casulos das famílias Lasiocampidae, Limacodidae e Megalopygidae, por vezes, são recobertos por setas urticantes provenientes do corpo da lagarta, e podem proteger o casulo da predação (SPECHT *et al.*, 2008). Algumas espécies têm o hábito incomum de construir um casulo portátil de seda, estas espécies pertencem às famílias Psychidae, Tineidae, Coleophoridae e Mimallonidae (DAVIS, 1964).

Algumas espécies encharcam o casulo com uma secreção anal aquosa escurecendo o casulo que ‘bronzeiam’ a seda, sendo que esses fluidos podem incrementar a seda com taninos, polifenóis, carotenóides e/ou oxalato de cálcio que ficam impregnados principalmente na sericina (BRUNET; COLES, 1974; GHEYSENS *et al.*, 2011). Esses taninos e polifenóis podem exercer função de proteção química e/ou de estabilizantes, devido a sua ação antioxidante (BRUNET; COLES, 1974). O oxalato de cálcio, produzido nos túbulos de Malpighi (ISHII *et al.* 1984) pode desempenhar importantes funções no casulo. O trabalho de Roy *et al.* (2012) com *Antheraea mylitta*, sugere que os cristais de hidrato de oxalato de cálcio, que estão naturalmente presentes na superfície externa do casulo, exercem uma ação seletiva na passagem de CO₂, onde o ocorre um fluxo unidirecional do CO₂ para fora do casulo, e O₂ tem liberdade de entrar, sugerindo a função do oxalato, de prender a maior parte do CO₂ como bicarbonato, ligado por hidrogênio na superfície, estabilizando as condições do ar dentro do casulo para o desenvolvimento da pupa. Em algumas espécies da família Limacodidae, a lagarta impregna o casulo com oxalato de cálcio que é responsável pela resistência mecânica desses casulos (ISHII *et al.*, 1984), sendo que os casulos de aspecto testáceo podem permanecer por anos sem se degradar na planta hospedeira (SPECHT *et al.*, 2008).

Algumas espécies produzem casulos que variam suas características sazonalmente. A maioria dos casulos fornece pouco isolamento direto, embora possam reduzir a taxa na qual a temperatura muda, mas muitos oferecem a proteção mecânica necessária para o inverno abaixo de substratos isolantes, como solo e neve. Os casulos de algumas espécies terrestres impedem o congelamento inoculativo, isolando o tegumento dos cristais de gelo na superfície do casulo ou em seus arredores. Em algumas espécies aquáticas, os casulos parecem limitar os danos, fornecendo proteção mecânica durante o congelamento da água ao redor. Alguns casulos ajudam na aquisição de calor solar: estruturas escuras são especialmente eficazes porque os pigmentos escuros absorvem o calor e as camadas circundantes retêm esse calor.

Em algumas espécies, casulos robustos ou estruturas complexas bloqueiam ataques dos inimigos naturais. A seda do casulo possui ações antibacterianas e antifúngicas. Outros casulos são mais ou menos impermeáveis. Esses e outros recursos suportam restrições simultâneas, além do frio. Portanto, os casulos aumentam a sobrevivência em condições de frio em muitas espécies (DANKS, 2004; AMINAH *et al.*, 2018). Além disso, as sedas de *Antheraea pernyi* (GUÉRIN-MÉNEVILLE, 1855) e outras espécies exibem ductilidade e resistência a temperaturas criogênicas de -196 °C, como demonstrado por Fu *et al.* (2019).

Já entre as famílias de borboletas e algumas poucas de mariposas, como *Sarsina violacea* (Erebidae: Lymantriinae), é mais comum que a pupa seja aderida ao substrato de forma mais livre, diferente do que acontece com as lagartas produtoras de casulos. A lagarta, ao entrar no período de pré pupa, busca um local onde deposita um pouco de seda para se fixar. Já as borboletas das famílias Papilionidae e Pieridae (Papilionoidea, Figura 11), produzem uma cinta de fio de seda em torno da pupa (LIMA, 1950).

Porém, dentre todos os usos que os lepidópteros destinam a seda, o mais peculiar é o uso que os raros lepidópteros predadores dão à seda. *Hyposmocoma molluscivora*, uma lagarta havaiana, usa a seda como uma aranha para capturar e imobilizar sua presa, o caracol (RUBINOFF; HAINES, 2005), e *Perisceptis carnivora*, um bicho-de-cesto da América central, que após matar suas presas, outros invertebrados, cola suas carcaças no seu casulo utilizando seda (DAVIS *et al.*, 2008).

2.5 TÁXONS EXAMINADOS

Lepidoptera, o nome dado por Lineu em 1758 em sua obra *Systema Naturae* para a ordem, é proveniente do grego *lepis* ou *lepidos* = escamas, *pteron* = asa. O nome refere-se às asas cobertas por escamas. São insetos holometábolos, com envergadura alar de aproximadamente 2 a 300 mm, dois pares de asas membranosas, e corpo coberto por escamas. No Brasil, são conhecidas cerca de 26000 espécies dessa ordem, aproximadamente metade das espécies da região Neotropical; estima-se que haja cerca de 60000 espécies para o país, sendo que a estimativa mundial é de cerca de 160000. Das 124 famílias reconhecidas por Heppner, 71 são registradas no Brasil (MIELKE; CASAGRANDE, 2006; DUARTE *et al.*, 2012; KAWAHARA *et al.*, 2019). Nesse trabalho serão abordadas espécies das famílias Saturniidae e Sphingidae da superfamília Bombycoidea, Psychidae da superfamília Tineoidea, e Nymphalidae e Papilionidae da superfamília Papilionoidea.

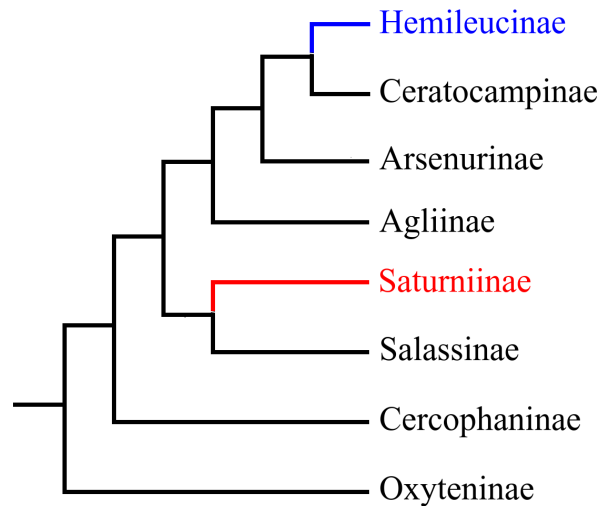
Bombycoidea é uma das linhagens de mariposas mais carismáticas e bem estudadas. A superfamília é mais diversificada na região intertropical do globo e atualmente inclui dez famílias (Figura 1). Com 520 gêneros e 6092 espécies, representam cerca de 4 % das espécies de Lepidoptera (KITCHING *et al.*, 2018; KAWAHARA *et al.*, 2019). Dentro de Bombycoidea, na família Bombycidae, está o bicho-da-seda, *Bombyx mori*, que é a espécie mais utilizada para a obtenção das fibras de seda. Além disso, a seda de *B. mori* é o principal modelo para o estudo da seda.

Os Saturniidae compreendem cerca de cerca de 3 454 espécies em 180 gêneros, que, embora cosmopolitas, se distribuem predominantemente pelas regiões tropicais do Novo Mundo. Está dividida em nove subfamílias (Figura 12). Entre estas subfamílias Arsenurinae, Oxyteninae, Ceratocampinae, Hemileucinae e Saturniinae estão presentes na fauna brasileira, reunindo cerca de 400 espécies (DUARTE *et al.*, 2012; KITCHING *et al.*, 2018). As espécies de Saturniidae, quando adultas, podem exibir padrões de cores aposemáticos e/ou crípticos, com destaque para as manchas ocelares miméticas de olhos de predadores nas asas, como em *Automeris*; manchas triangulares hialinas nas asas como em *Rothschildia*; outras espécies prolongamentos nas asas posteriores como em *Copiopteryx*; todos esses caracteres possuem função adaptativa e são resultados da pressão de seleção exercida pelos predadores (BONATTO *et al.*, 2019).

As espécies de Saturniidae avaliadas, *Automeris illustris* (Walker, 1855), *Hylesia metapyrrha* (Walker, 1855), *Pseudautomeris luteata* (Walker, 1865) pertencem às subfamília Hemileucinae, e *Rothschildia aurota speculifera* (Walker, 1855) pertence à subfamília Saturniinae. Todas estas espécies estão presentes na Mata Atlântica. Hemileucinae é a maior subfamília de Saturniidae e de ocorrência quase que exclusivamente Neotropical. A essa subfamília pertencem espécies causadoras de erucismo e lepidopterismo, como são conhecidos os acidentes provocados pelos lepidópteros na fase larval e adulta, respectivamente (SPECHT *et al.*, 2008). A subfamília Saturniinae possui distribuição geográfica ampla entre os Saturniidae, e constituem a maioria das espécies diferentes de bichos-da-seda cultivados mundo afora (PEIGLER, 1993). As lagartas da família Saturniidae tecem quatro tipos de casulos, quando classificadas de acordo com seus modos de fixação e de formação do chamado buraco de saída para o adulto, a saber, I) sem pedúnculo e fechado; II) pedunculado e fechado; III) sem pedúnculo e aberto, e, IV) com pedunculado e aberto. (YAGI, 1926). Até então, dentro da família Saturniidae, somente as espécies da subfamília

Saturniinae tiveram sua seda estudada (Figura 12), deixando as outras subfamílias fora das análises (Anexo 1).

Figura 12 – Filogenia das subfamílias de Saturniidae destacando subfamílias cujas sedas foram estudadas anteriormente (em vermelho) na perspectiva da ciência de materiais e novas subfamílias estudadas neste trabalho.



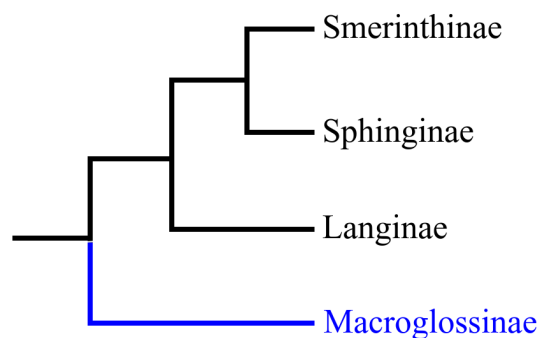
Fonte: Baseado em Barber *et al.* (2015).

Automeris e *Hylesia* são ambos os maiores gêneros da subfamília Hemileucinae, representado por aproximadamente 135 e 110 espécies, respectivamente. *Automeris* é também o gênero mais amplamente distribuído nas Américas, ocorrendo desde o Canadá até a Argentina, e são representadas por mariposas de médio a grande porte. *Automeris illustris* está entre as espécies mais comuns de mariposas, popularmente conhecida como “olho de pavão alaranjado” tanto no Brasil como em outros países sul americanos. *Hylesia* tem distribuição geográfica exclusivamente neotropical, do México até a Argentina, sendo que as espécies podem ser de médio a pequeno porte. As fêmeas de *Hylesia* mantêm sua urticância ainda na vida adulta, sendo que a fêmea utiliza seus tricomas urticantes, localizados no abdômen, para cobrir os ovos e evitar sua predação. O gênero *Pseudautomeris* possui cerca de 16 espécies, e ocorre da Costa Rica até a Argentina, e seus membros são semelhantes a *Automeris* (LEMAIRE, 2002; SPECHT *et al.*, 2006). Todos os casulos das espécies de Hemileucinae, aqui estudados, são classificados no tipo I de Yagi (1926), porém o casulo de *H. metapyrrha*, diferente destes outros Saturniidae, possui pequenas buracos, organizados como uma grade, no casulo. *Rothschildia* apresenta ampla distribuição geográfica restrita ao Neotrópico. O gênero inclui 36 espécies, sendo que 14 são encontradas no Brasil.

Rothschildia a. speculifera é considerada de ampla distribuição no Brasil (LEMAIRE, 1978; LIMA *et al.*, 2021). Os casulos deste gênero se classificam nos tipos III e IV de Yagi (1926).

A família Sphingidae, assim como os Saturniidae, tem distribuição mundial, possui cerca de 1600 espécies e 205 gêneros, que estão distribuídos em todo o mundo, com exceção da Antártida e Groenlândia. Para a região Neotropical, são estimadas cerca de 400 espécies, e para o Brasil 205 espécies. Excelentes voadores e, em geral, as espécies brasileiras possuem hábitos crepusculares e noturnos. Ao contrário dos Saturniidae que não se alimentam na fase adulta, os Sphingidae alimentam-se de néctar, e pairam em frente às plantas alimentícias, como beija-flores, com batimentos das asas bastante rápidos (DUARTE *et al.*, 2012; KITCHING *et al.*, 2018).

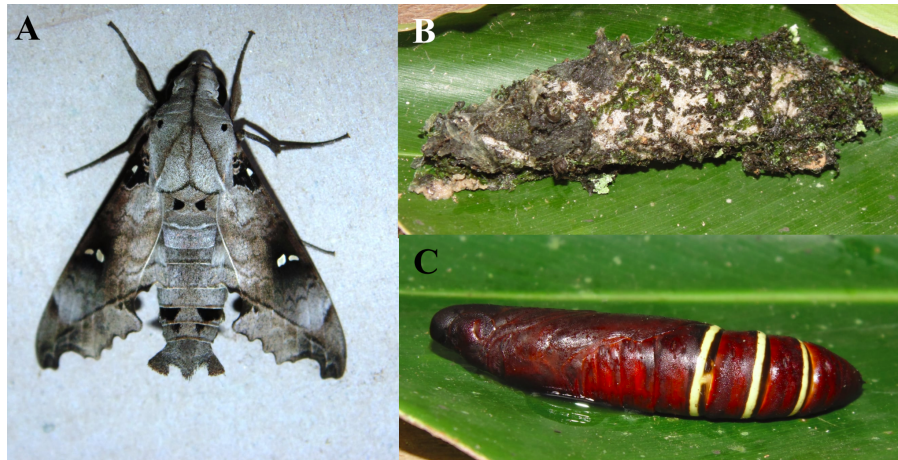
Figura 13 – Filogenia das subfamílias de Sphingidae destacando em azul a subfamília Macroglossinae cuja seda foi estudada aqui, na perspectiva da ciência de materiais.



Fonte: Baseado em Kitching *et al.* (2018).

As espécies de Sphingidae abordadas, *Madoryx bubastus* (CRAMER, 1777) e *Madoryx oichus oichus* (Cramer, 1779) (Figura 14), pertencem à subfamília (Figura 13). Macroglossinae. Ambas têm ampla distribuição geográfica na América central e do sul. Na família Sphingidae, geralmente, as lagartas enterram-se no subsolo e, por vezes, incrementam um pouco de seda no casulo de terra subterrâneo. Embora esse comportamento seja predominante nas subfamílias Smerinthinae e Sphinginae, na subfamília Macroglossinae é mais comum a construção de casulos de seda na superfície, entre detritos do solo, ou folhas (Anexo 2). O casulo de ambas as espécies não possui uma parede muito espessa, e é construído selado entre as folhas de vegetação, como outras espécies do gênero (MINNO; EMMEL, 1990).

Figura 14 – *Madoryx o. oiclus* adulto (A), casulo com vegetação incorporada (B) e a respectiva pupa (C).



Fonte: Fotografias gentilmente cedidas por Nelson de Oliveira Tomaz (2020).

São conhecidas cerca de 20000 espécies da superfamília Papilionoidea. Nas filogenias mais atuais, Papilionoidea passou a englobar as famílias Hedylidae e Hesperiiidae (Figura 1) (DUARTE *et al.*, 2012; KAWAHARA *et al.*, 2019). Entre as famílias de Papilionoidea, Nymphalidae é o grupo mais diversificado. Com aproximadamente 7200 espécies, possuem distribuição mundial, nos diversos tipos de ambientes, mesmo em ambientes áridos, estão ausentes apenas nos polos. Mantêm copiosas e complexas relações com as plantas hospedeiras. Estão entre as borboletas mais surpreendentes do público em geral e as mais bem estudadas pelos especialistas (DUARTE *et al.*, 2012). O gênero *Morpho*, de distribuição exclusivamente neotropical, é representado por borboletas de grande porte e cores chamativas. Ao contrário da maioria das borboletas adultas, que podem ser importantes polinizadoras, *Morpho* alimenta-se exclusivamente sugando frutos fermentados, fezes e sais minerais. As espécies de Nymphalidae abordada são *Morpho epistrophus argentinus* Fruhstorfer, 1907 e *M. helenor achillaena* (Hübner, [1823]). a primeira tem distribuição no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina e a segunda na região sudeste do Brasil (BLANDIN, 2007; BUSTOS, 2010). As lagartas de ambas as espécies, são de hábito gregário, depositam fios de seda brancos na planta hospedeira, o que facilita a fixação dos membros (Figura 15), e no final do seu desenvolvimento larval utilizam seda, individualmente, para fixar suas crisálidas de cabeça para baixo.

Figura 15 – Lagartas de *Morpho e. argentinus* fixadas em base de seda sobre as folhas da planta hospedeira.



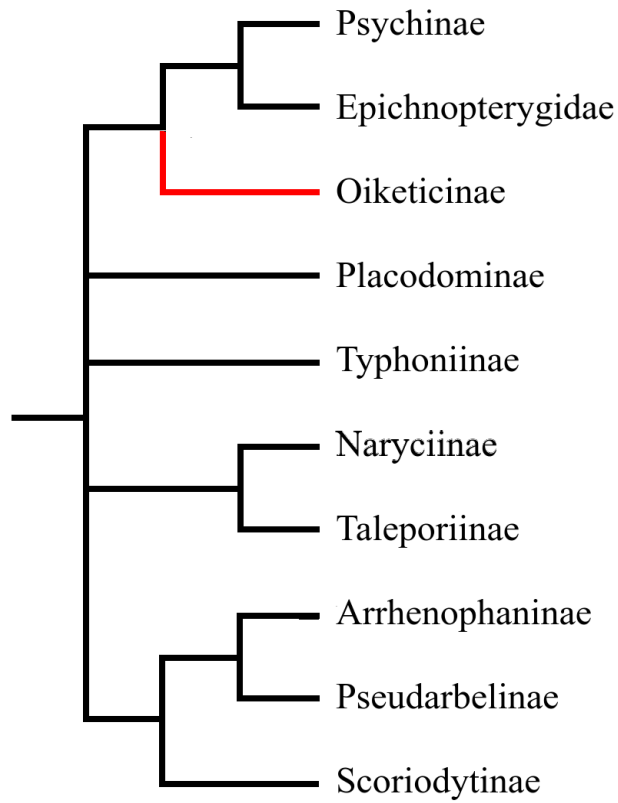
Com aproximadamente 600 espécies, a família Papilionidae é representada, em geral, por espécies vistosas e de grande. Cosmopolita, está bem representada nas regiões tropicais do Velho Mundo. É um dos grupos mais estudados e conhecidos dentro de Papilionoidea (DUARTE *et al.*, 2012). Todas suas larvas têm a peculiaridade de possuir uma glândula epidérmica eversível e em forma de Y, localizada próximo à cabeça, denominada osmetério, que extroverte-se quando a larva é perturbada (DUARTE *et al.*, 2012). A espécie de Papilionidae abordada, *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, [1809]), tem distribuição no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e norte da Argentina (BUSTOS, 2010). As lagartas, de hábito gregário, depositam fios de seda branco-amarelados na planta hospedeira, facilitando a sua fixação (Figura 16), e no final do seu desenvolvimento larval utilizam seda, individualmente, para fixar sua pupa pelo cremaster e produzem uma cinta de seda em torno da pupa.

Figura 16 – Lagartas de *Heraclides a. capys* fixadas em base de seda sobre fruto da planta hospedeira (*Citrus* sp.).



De distribuição mundial, Tineoidea possui cerca de 400 gêneros e 4350 espécies. Seus representante mais comum são as popularmente conhecidas como traças-das-roupas ou traças-das-paredes devido ao hábitos das larvas da família Tineidae. Em geral, não são fitófagas, alimentando-se de uma variedade de detritos, líquens e fungos (DUARTE *et al.*, 2012; MALLET, 2014). Com cerca de 211 genera, 1246 species, os membros da família Psychidae são conhecidos como bicho-do-cesto, em referência aos casulos móveis que as lagartas constroem para sua proteção, e aos quais vão sendo adicionados outros tipos de fragmentos à medida que as larvas passam pelas mudas. Nesta família só os machos se apresentam como mariposas. Estudos anteriores mostram que duas espécies analisadas dessa família possuem as sedas com mais alta resistência entre os Lepidópteros (YOSHIOKA *et al.*, 2019). A espécie de Psychidae abordada, *Oiketicus geyeri* (Berg. 1877), da subfamília Oiketicinae (Figura 17), ocorre do México até a Argentina (aproximadamente de 20° N até 35° S) (LIMA, 1945; DAVIS, 1964; DUARTE *et al.*, 2012; REGIER *et al.*, 2014). A lagarta, conhecida como bicho-cigarro, produz um casulo cilíndrico e de superfície lisa, livre de qualquer substrato.

Figura 17 – Filogenia das subfamílias de Psychidae destacando subfamília Oiketicinae cuja seda já foi estudado anteriormente (em vermelho) na perspectiva da ciência de materiais.



Fonte: Baseado em Regier *et al.* (2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

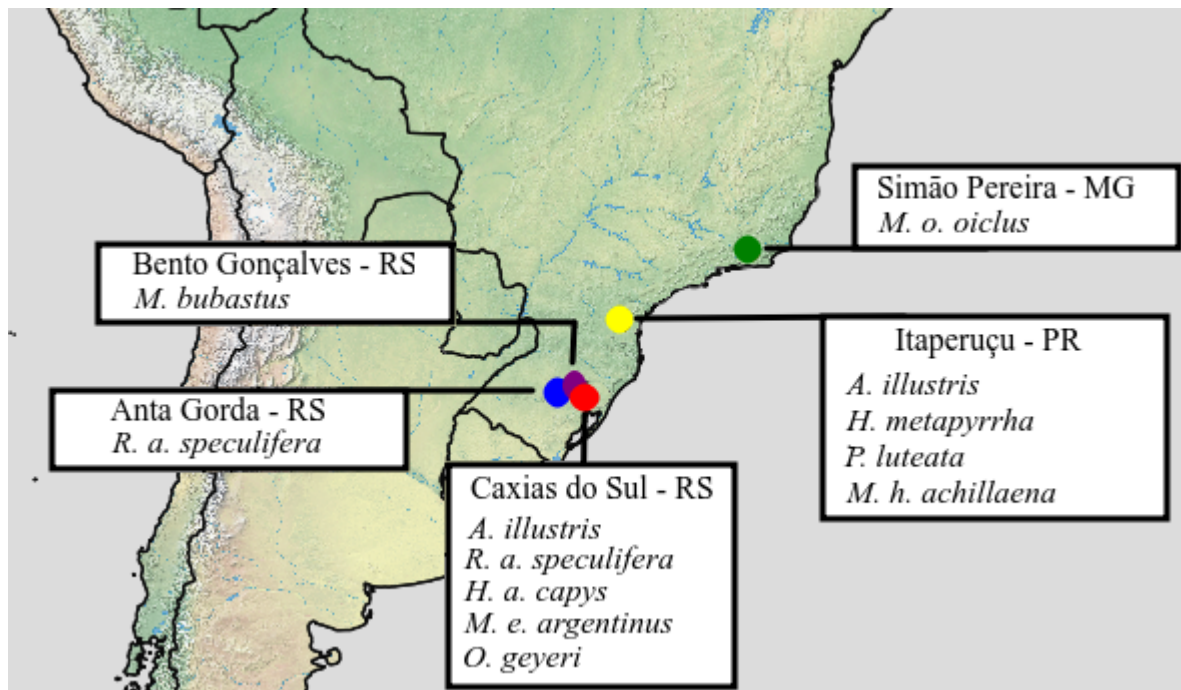
Neste Capítulo são apresentados os métodos e técnicas utilizados para a extração das fibras de seda, para serem utilizadas posteriormente nos ensaios mecânicos e nas análises de infravermelho (ATR-FTIR). Também são detalhadas as análises por microscopia óptica e eletrônica de varredura.

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Obtenção das sedas

Os casulos e massas de seda estudados foram ou obtidos diretamente da natureza, ou obtidos de criação particular ou de algumas regiões do Brasil. Proveniente do município de Simão Pereira - MG, um casulo de *Madoryx oiclus oiclus* (Cramer, 1779) obtido diretamente da natureza. Proveniente do município de Itaperuçu - PR, dois casulos de casulo de *Automeris illustris* (Walker, 1855), dois casulos de *Hylesia metapyrrha* (Walker, 1855), dois casulos de

Figura 18 - Mapa parcial da América do Sul, mostrando os locais de proveniência das amostras de seda.



Pseudautomeris luteata (Walker, 1865) obtidos de criação, em *Schinus terebinthifolius*, *Schinus* sp., *Cordyline spectabilis*, respectivamente, e seda de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, 1823) obtida diretamente da seda depositada pelas lagartas na planta hospedeira, *Machaerium* sp.. Proveniente de Anta Gorda - RS, três casulos de *Rothschildia aurota speculifera* (Walker, 1855), foram obtidos da Coleção Entomológica da Universidade de Caxias do Sul (CEUCS). Proveniente do município de Bento Gonçalves - RS, um casulo de *Madoryx bubastus* (Cramer, 1777), também foi concedido pela CEUCS. Provenientes do município de Caxias do Sul - RS, um casulo de *Automeris illustris* foi obtido diretamente da natureza. As sedas de *Heraclides anchisiades capys* (Hubner, [1809]), *Morpho epistrophus argentinus* Fruhstorfer, 1907 e *Oiketicus geyeri* Berg, 1877 criadas em *Citrus* sp., *Cupania vernalis*, e *Mimosa scabrella*, respectivamente, foram obtidas diretamente da seda depositada pelas lagartas na planta hospedeira; dois casulos de *Rothschildia a. speculifera* obtidos da natureza.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Medidas das áreas das seções transversais das fibras de seda

As fibras de seda foram suavemente alinhadas de forma paralela embutidas em resina poliéster cristal, cortadas e polidas perpendicularmente e, posteriormente, examinadas usando o microscópio óptico Zeiss AxioScope (500x e 1000x).

3.2.2 Observação da morfologia da superfície

As observações da morfologia da superfície das fibras foram feitas usando um microscópio eletrônico de varredura (FEG-SEM) (Tescan, Mira 3 - República Tcheca). As amostras foram desidratadas e metalizadas por *magnetron sputtering*.

3.2.3 Medidas das propriedades mecânicas das sedas

Para a realização dos testes de deformação por tração, fios de seda individuais foram coletados cuidadosamente com o auxílio de pinças e ganchos, preferencialmente na parte interna dos casulos e da massa de seda depositada pelas lagartas em suas plantas hospedeiras. Os testes de tração foram realizados usando um equipamento caseiro controlado por computador (PANDA *et al.*, 2019). Esse equipamento consiste em uma microbalança de

precisão (modelo AUW220D-Shimadzu Co., Japão), com precisão de 10 µg, que é responsável por medir a força exercida na amostra (PANDA *et al.*, 2019). A aquisição de dados da microbalança é feita usando a porta serial do computador. Foi utilizado um motor de passo (Figura 19A) para controlar a taxa de deformação, com fuso acoplado a uma barra deslizante, que foi utilizada para puxar a amostra a uma taxa de 1 cm/min. O motor de passo foi controlado por um módulo Arduino Nano (Anexo 3).

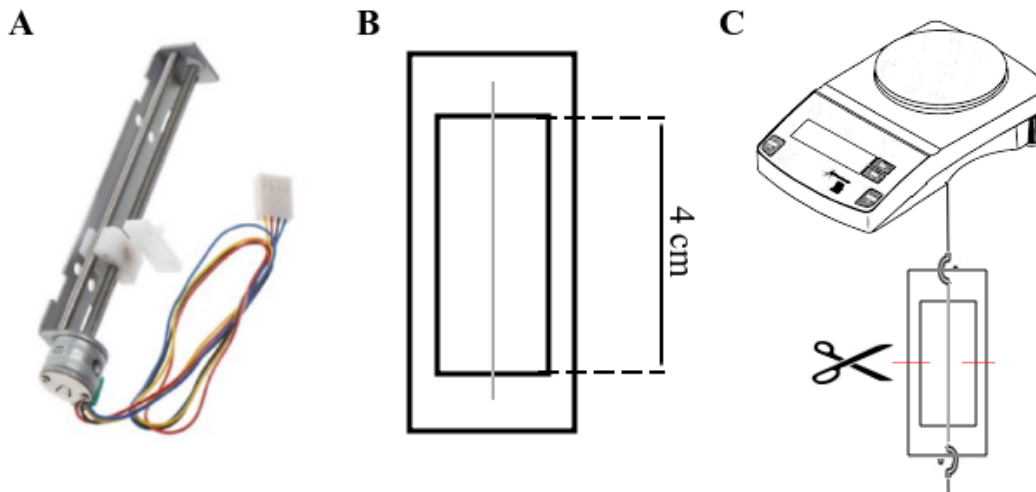
As propriedades de tração do bave de seda foram medidas entre 19 - 25 °C, e 40 - 60 % de umidade relativa. Um bave, foi fixado a uma estrutura de papel cartão usando cola epóxi (Figura 19B), com um comprimento de 40 mm (PÉREZ-RIGUEIRO *et al.*, 1998). Após, as bordas verticais do suporte foram cortadas suavemente para que toda a carga fosse transmitida através da fibra e, em seguida, a medição foi iniciada (Figura 19C). No mínimo 18 medições para cada amostra foram realizadas e foi calculada a média.

Para conversão dos dados na forma de gramas para pressão em MPa, utilizou-se a Equação (1),

$$\sigma = \frac{g.m.10^{-6}}{A} \quad (1)$$

onde σ é a tensão em MPa, g é a aceleração da gravidade, m é a massa em kg e A é a área de secção transversal da fibra de seda.

Figura 19 – Motor de passo (A). Representação esquemática do suporte de papel usado para os ensaios mecânicos, onde é colocado o fio de seda (B). Esquema representando o ensaio mecânico: o suporte do fio de seda fica conectado a microbalança com a força distribuída no eixo da fibra, depois disso as laterais do suporte são cortadas para realização do ensaio (C).



3.2.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR - FTIR) foi usada nos casulos e massas de seda para identificar e quantificar oxalato de cálcio, folhas- β (A)_n, folhas- β (AG)_n, taninos e compostos fenólicos, e sericina, como em Boulet-Audet *et al.* (2015). As medições foram realizadas com um espectrômetro FTIR Spectrum 400 da PerkinElmer e um cristal de diamante (ATR). Para cada amostra, foram realizados 32 *scans*, com resolução de 4 cm⁻¹. Os espectros foram então normalizados usando a absorvância integrada de 1900 a 800 cm⁻¹ para compensar as variações absolutas do sinal incorridas pelo contato diferenciado do casulo com a análise.

3.2.5 Análise de *Cluster*, PCA e regressão multilinear

A análise de *cluster* e a análise de componentes principais (PCA) das propriedades mecânicas das sedas e das áreas das bandas de infravermelho, foram realizadas usando recursos *online* disponíveis em: ClustVis e Statistics Kingdom (STATISTIC KINGDOM, 2021a; METSALU; VILO, 2015). A análise de regressão linear múltipla foi realizada usando o recurso *online* disponível no Statistics Kingdom (STATISTIC KINGDOM, 2021 b), tomando a intensidade de absorção infravermelha para as bandas atribuídas aos cristais de oxalato, folhas- β (A)_n, folhas- β (AG)_n, compostos fenólicos de tanino e serina como variáveis independentes e uma das seguintes propriedades mecânicas, módulo de Young, resistência ao escoamento, tensão de escoamento, resistência máxima e deformação final como variáveis dependentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir estão descritos os resultados obtidos neste trabalho nas suas diferentes etapas, considerando a extração das fibras de seda, a caracterização das propriedades e análise dos resultados.

4.1 MORFOLOGIA DAS SEDAS

As características morfológicas e diâmetros das fibras das sedas investigadas neste estudo são apresentadas nas Figura 20 e 21, e no Tabela 2. Os casulos de *A. illustris*, *H. metapyrrha*, *P. luteata*, e *R. a. speculifera* mostraram uma trama mais fechada, em relação aos casulos de *M. bubastus* e *M. o. oiclus*, enquanto *O. geyeri* mostrou uma trama de seda bastante compacta. Em todas as espécies foram observadas fibras de seda com tendência a seções transversais elipsoidais e, algumas vezes, com fibras assimétricas. *M. o. oiclus* mostrou, eventualmente, seções com formas irregulares. Imagens obtidas por MEV (Figura 21) revelaram uma textura filamentosa em *R. a. speculifera*, e uma camada de sericina quase intacta em torno da maioria das fibras, ocasionalmente com rachaduras finas, e recoberta de oxalato em algumas partes.

Os casulos de *A. illustris*, *H. metapyrrha*, *M. bubastus*, *M. o. oiclus*, *P. luteata* e *R. a. speculifera* apresentaram fibras mais espessas em relação as sedas de *H. a. capys*, *M. e. argentinus*, *M. h. achillaena* e *O. geyeri* provavelmente, a razão disso se deve a economia de recursos necessária para a sobrevivência das lagartas dessas espécies de borboleta com hábito gregário, pois ao espalharem sua seda pela planta hospedeira gastam muitos metros de seda. Outras espécies que espalham seda por onde passam, como *Eumeta variegata*, também mostram dimensões diminutas de seda (YOSHIOKA, 2019). *Aposthonia gurneyi* (Embidina) produz filamentos de seda com diâmetro médio de apenas 65 nm (Figura 22), uma ordem de magnitude menor que qualquer seda de inseto relatada anteriormente (OKADA *et al.*, 2008), sendo que as sedas de lepidoptera estão numa faixa entre 2 e 85 μm . porém diferente das espécies que espalham seda por onde passam, Embídeos utilizam a seda para construir paredes de seda constantemente nas suas colônias. É provável que quanto maior o uso durante a vida do inseto, menor é sua área de seção transversal de sua seda.

Embora *H. metapyrrha* seja gregária na fase larval, e construa abrigos (SPECHT *et al.*, 2006), a seda analisada aqui, pertence ao último instar como todas as outras, não mostrou essa mesma tendência entre as espécies gregárias. Por isso é possível inferir se o

comportamento de construção do abrigo possui similaridade com *Eucheira socialis* (Pieridae), onde as larvas machos passam mais tempo fiando a seda no ninho e menos tempo se alimentando do que as larvas fêmeas (UNDERWOOD; SHAPIRO, 1999), assim, a economia de recursos na produção de seda acontece entre as fêmeas que são maiores que os machos e necessitam de mais proteínas na fase adulta para a postura.

Figura 20 – Relações e morfologia das fibras de seda usadas neste trabalho. Primeira linha, fotomicrografia de transmissão das secções transversais das fibras de seda (barras de escala de 20 µm); Segunda linha casulos e massas de seda (fora de escala); Relações filogenéticas baseadas em Lemaire, 2002; Hamilton *et al.*, 2019; Kawahara *et al.*, 2019.

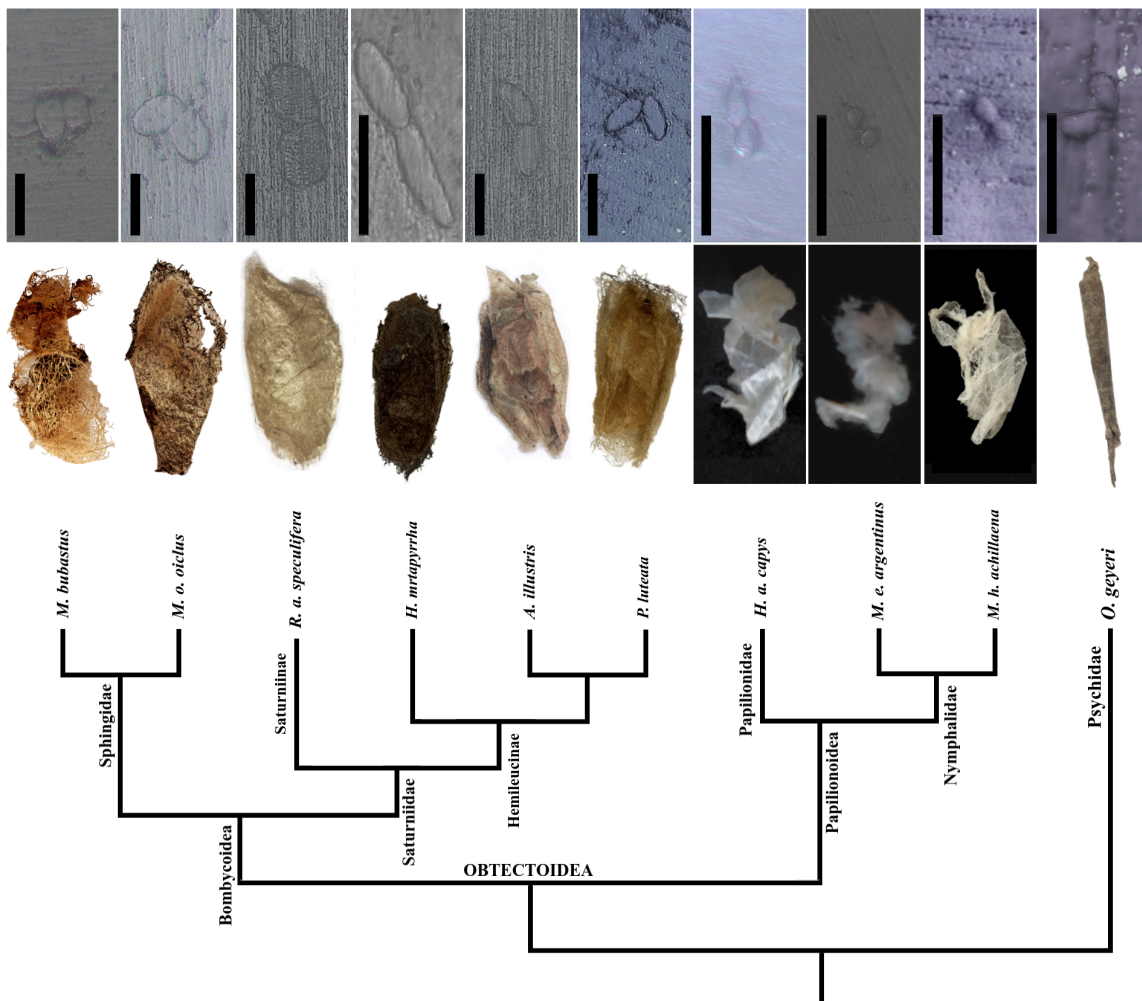


Figura 21 – Micrografias das fibras de seda de *A. illustris* (A), *H. a. capys* (B), *M. bubastus* (C), *M. o. oiclus* (D), *M. e. argentinus* (E), *R. a. speculifera* (F) e *O. geyeri* (barras de escala de 20 μm).

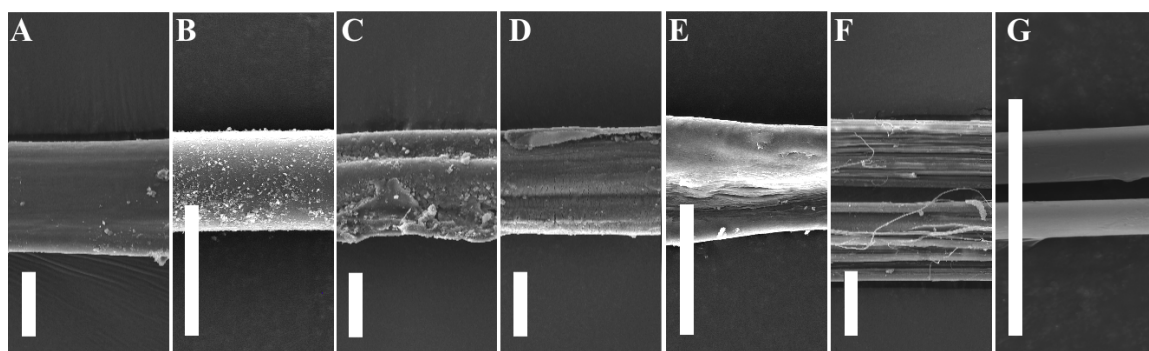
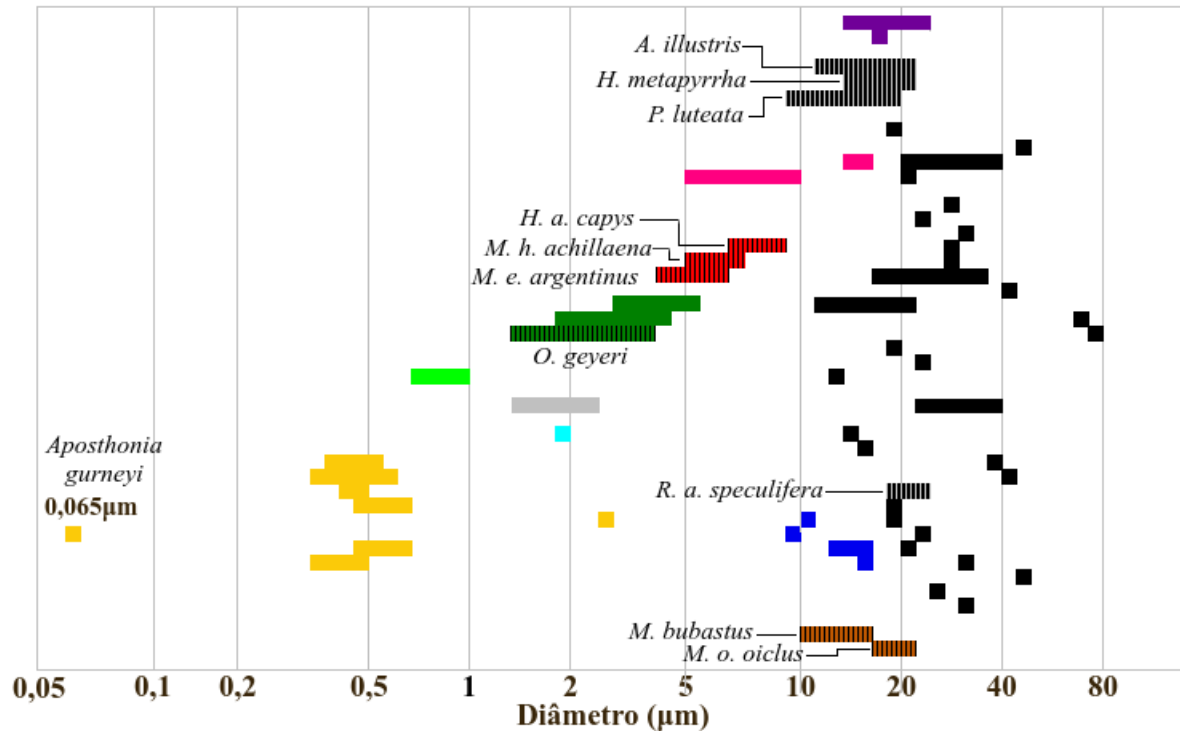


Tabela 2 – Área de secção transversal das fibras de seda. Os números entre parênteses representam quantas amostras foram utilizadas para obter a média.

Superfamília	Família	Espécie	Área de secção transversal (μm^2)
Papilionoidea	Nymphalidae	<i>M. e. argentinus</i>	43 ± 2 (36)
		<i>M. h. achillaena</i>	$28 \pm (18)$
	Papilionidae	<i>H. a. capys</i>	$13 \pm 0,4$ (63)
Tineoidea	Psychidae	<i>O. geyeri</i>	12 ± 1 (28)
Bombycoidea	Sphingidae	<i>M. bubastus</i>	96 ± 3 (34)
		<i>M. o. oiclus</i>	179 ± 4 (54)
	Saturniidae	<i>A. illustris</i>	112 ± 7 (51)
		<i>H. metapyrrha</i>	80 ± 4 (32)
		<i>P. luteata</i>	89 ± 3 (43)
		<i>R. a. speculifera</i>	167 ± 5 (49)

Figura 22 – Diâmetro, em μm , das fibras seda diversos táxons das Classes Insecta e Diplopoda. Insecta: Hemiptera: Cicadellidae (verde claro); Neuroptera: Chrysopidae (ciano); Embiida (amarelo); Trichoptera (Azul escuro); Lepidoptera: Lasiocampidae (roxo); Papilionoidea: Nymphalidae, Papilionidae (vermelho); Psychidae (verde escuro); Bombycidae (magenta); Saturniidae (preto); Sphingidae (marrom claro); Diplopoda: Callipodida: Dorypetalidae (cinza). Espécies tratadas aqui destacadas com linhas verticais.



Fonte: Baseado em Freddi *et al.* (1993), Brown *et al.* (2004), Okada *et al.* (2008), Weisman *et al.* (2008), Collin *et al.* (2009), Tsukada *et al.* (2010), Reddy; Yang, (2010 - a, c), Reddy; Yang (2012), Reddy *et al.* (2012), Ashton *et al.* (2013), Reboleira; Enghoff (2016), Malay *et al.* (2016), Reddy *et al.* (2013 a, b), Yoshioka *et al.* (2019).

4.2 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Os resultados dos ensaios de tensão-deformação em que se mediu o módulo de Young, resistência à tração, extensibilidade e tenacidade de fibras de seda individuais estão resumidos na Tabela 3, e podem ser comparados com dados da literatura na Tabela 4. As curvas de tensão-deformação representativas de cada uma das amostras são mostradas nas Figuras 23 até 27. As curvas tomaram configurações dos tipos I, II e IV, na classificação de curvas de Colomban *et al.* (2012), sendo as curvas do tipo I e II características dos fios de seda brutos.

Tabela 3 – Resumo dos resultados dos testes de deformação por tração em fibras de seda individuais. Os números entre parênteses representam o tamanho da amostra usado no cálculo da média.

Espécie	Módulo de Young (GPa)	Tensão na inflexão (MPa)	Extensão na inflexão (%)	Tensão na ruptura (MPa)	Extensão na ruptura (%)	Tenacidade (MJ/m ³)
<i>A. illustris</i>	5,4 ± 7 (73)	119 ± 4 (70)	3,53 ± 0,1 (68)	275 ± 10 (67)	24 ± 2 (67)	40 ± 3 (67)
<i>H. a. capys</i>	4,1 ± 0,3 (18)	87 ± 5 (18)	3,1 ± 0,1 (18)	244 ± 82 (18)	17,1 ± 1,4 (19)	25 ± 3 (19)
<i>H. metapyrrha</i>	4,7 ± 0,4 (18)	107,5 ± 9,4 (18)	4,5 ± 0,2 (18)	285 ± 24 (16)	23,7 ± 1,7 (16)	40 ± 4 (16)
<i>M. bubastus</i>	5,3 ± 0,4 (19)	141 ± 15 (20)	3,75 ± 0,1 (21)	338 ± 107 (20)	27 ± 3 (20)	52 ± 6 (21)
<i>M. o. oiclus</i>	6,5 ± 0,2 (27)	166 ± 4 (27)	4,3 ± 0,1 (25)	311 ± 37 (26)	23,6 ± 1,4 (27)	49 ± 4 (28)
<i>M. e. argentinus</i>	2,9 ± 0,2 (29)	65 ± 6 (30)	3,0 ± 0,1 (29)	159 ± 36 (31)	18,6 ± 1,0 (30)	20 ± 2 (32)
<i>M. h. achillaena</i>	4,4 ± 0,2 (19)	90,7 ± 4,3 (19)	3,4 ± 0,1 (19)	225,4 ± 15,6 (17)	16,4 ± 1,6 (17)	20 ± 2 (16)
<i>O. geyeri</i>	11,1 ± 1 (20)	218 ± 18 (20)	3,0 ± 0,1 (20)	746 ± 40 (18)	13,6 ± 0,6 (18)	54 ± 5 (17)
<i>P. luteata</i>	4,8 ± 0,4 (23)	130 ± 13 (23)	4,9 ± 0,1 (23)	233 ± 21 (22)	18,8 ± 1,3 (22)	29,2 ± 4,1 (22)
<i>R. a. speculifera</i>	6,7 ± 0,2 (111)	148 ± 3 (108)	3,7 ± 0,1 (106)	342 ± 68 (102)	17,1 ± 0,6 (100)	35 ± 2 (100)

Os valores do módulo de Young, extensão de ruptura, tensão de ruptura e tenacidade são semelhantes aos da literatura, principalmente para as espécies da superfamília Bombycoidea aqui tratadas (Saturniidae e Sphingidae), mas os valores das espécies de Papilionoidea, *H. a. capys*, *M. e. argentinus* e *M. h. achillaena* são inferiores a outras espécies. O módulo Young médio da seda de Papilionoidea, Psychidae, Saturniidae e Sphingidae, com base nos dados deste trabalho e dados da literatura, são 3,8, 21,4, 5,3 e 5,9 GPa, respectivamente.

Se tratando a nível de família, a extensibilidade na ruptura mostrou tendência similar à observada na extensão antes da inflexão, assim como a segunda inflexão. As médias da extensibilidade antes da inflexão permaneceram entre os valores de 3 a 4,31 %, mostrando-se muito mais baixa em *H. a. capys*, *M. e. argentinus* e *O. geyeri*, pertencentes à Tineidae e à superfamília Papilionoidea, se tornando maior *P. luteata*, pertencentes a família Saturniidae. O segundo ponto de inflexão, presente somente nas curvas do tipo II, entre 5 e 6 % para Colomban *et al.* (2012), deslocou-se, em média, de 8,2 e 15,1 % de deformação, não mostrando tendência entre as sedas das espécies, mas mostrou padrão semelhante á extensão na ruptura. Vale ressaltar que nas curvas de Colomban *et al.* (2012) foram ignoradas as parte inicial da curva de tensão-deformação antes da inflexão, quando a máquina de ensaio está começando a tracionar a fibra, por isso a extensão antes da inflexão está abaixo de 2 %, assim como a segunda inflexão que está entre 5 e 6 %.

Com base nos dados deste trabalho e da literatura, a tensão média de ruptura foi em torno de 380 MPa para Saturniidae. As tensões de ruptura entre Saturniidae e Sphingidae apresentaram valores próximos aos da literatura, mas abaixo da média. Papilionoidea, em particular, apresentou valores relativamente baixos, com média de 209 MPa, em relação a outras espécies de Lepidoptera, o que provavelmente é característico de sedas de borboletas. *O. geyeri* apresentou altos valores médios de tensão de ruptura (746 MPa), como outras espécies da literatura, porém menores que *E. minuscula* e *E. variegata* (ver Tabela 4).

Tabela 4 – Dados de resultados de testes de deformação por tração em fibras de seda individuais deste trabalho e da literatura. Os números entre parênteses representam o tamanho da amostra usado no cálculo da média.

Superfamília/ Família	Espécie	Módulo de Young (GPa)	Extensão de ruptura (%)	Tensão de ruptura (MPa)	Tenacidade (MJ/m ³)	Refer.
Papilionoidea/ Papilionidae	<i>Heraclides anchisiades capys</i>	4,1 ± 0,3 (18)	17,1 ± 1,4 (19)	244 ± 82 (18)	25 ± 3 (19)	Este trabalho
Papilionoidea/ Nymphalidae	<i>Morpho epistrophus argentinus</i>	2,9 ± 0,2 (29)	18,6 ± 1,0 (30)	159 ± 36 (31)	20 ± 2 (32)	Este trabalho
	<i>Morpho helenor achillaena</i>	4,4 ± 0,2 (19)	16,4 ± 1,6 (17)	225,4 ± 15,6 (17)	20 ± 2 (16)	Este trabalho
Bombycoidea/ Bombycidae	<i>Bombyx mori</i>	8,8 ± 5,5	21,8 ± 0,5	427,6 ± 11	66 ± 2	Teshome <i>et al.</i> ,2012 Malay <i>et al.</i> , 2016 Fang <i>et al.</i> , 2016 Guo <i>et al.</i> , 2018
		6,9 ± 1,6	24,6 ± 7,9	495 ± 105	187 ± 33	
		9,6 ± 0,6	38,5 ± 6,4	690 ± 20	86,5 ± 40	
		11,7 ± 2,2	21,9 ± 4,9	635 ± 108	101 ± 34	
Bombycoidea/ Sphingidae	<i>Madoryx bubastus</i>	5,3 ± 0,4 (19)	27 ± 3 (20)	338 ± 107 (20)	52 ± 6 (21)	Este trabalho
	<i>Madoryx o. oiclus</i>	6,5 ± 0,2 (27)	23,6 ± 1,4 (27)	311 ± 37 (26)	49 ± 4 (28)	Este trabalho
Bombycoidea/ Saturniidae	<i>Antheraea assama</i>	4,6 ± 1,1	29,2 ± 10,7	390 ± 70	68 ± 31	Malay <i>et al.</i> , 2016 Guo <i>et al.</i> , 2018
		5,3 ± 0,4	51,1 ± 6,4	495 ± 48	141 ± 28	
	<i>Antheraea mylitta</i>	3,9 ± 0,2	29,9 ± 5,9	380 ± 200	139 ± 28	Fang <i>et al.</i> , 2016
	<i>Antheraea pernyi</i>	4,7 ± 1,4	28,1 ± 9,2	385 ± 80	69,5 ± 23	Malay <i>et al.</i> , 2016 Fang <i>et al.</i> , 2016 Guo <i>et al.</i> , 2018
4,5 ± 0,3		55,9 ± 5,3	490 ± 20	148 ± 16		
5,0 ± 0,6		50,8 ± 7,0	426 ± 55	128 ± 33		
<i>Antheraea yamamay</i>	4,6 ± 0,6	35,6 ± 13,7	390 ± 70	920 ± 43	Malay <i>et al.</i> , 2016	

	<i>Argema mimosae</i>	8,3 ± 7,4	20,7 ± 1,0	363,4 ± 6,5	52 ± 3	Teshome <i>et al.</i> ,2012
	<i>Automeris illustris</i>	5,4 ± 0,2 (73)	24 ± 2 (67)	275 ± 10 (67)	40 ± 3 (67)	Este trabalho
	<i>Epiphora bauhiniae</i>	7,5 ± 0,3	20,8 ± 1,3	247,7 ± 6,3	34 ± 2	Teshome <i>et al.</i> ,2012
	<i>Hylesia metapyrrha</i>	4,67 ± 0,45 (18)	23,7 ± 1,7 (16)	285 ± 24 (16)	40 ± 4 (16)	Este trabalho
	<i>Pseudautomeris luteata</i>	4,8 ± 0,4 (23)	18,8 ± 1,3 (22)	233 ± 21 (22)	29,2 ± 4,1 (22)	Este trabalho
	<i>Rhodinia fugax</i>	4,1 ± 1,2	23,2 ± 1,2	430 ± 10	58 ± 3	Malay <i>et al.</i> , 2016
	<i>Rothschildia aurota speculifera</i>	6,7 ± 0,2 (111)	17,1 ± 0,6 (100)	342 ± 68 (102)	35 ± 2 (100)	Este trabalho
	<i>Samia cynthia pryeri</i>	4,7 ± 1,3	24,1 ± 5,2	530 ± 150	78 ± 23	Malay <i>et al.</i> , 2016
	<i>Samia cynthia ricini</i>	4,6 ± 1,6 4,1 ± 0,6	31,6 ± 9,7 34,2 ± 12,5	425 ± 115 284 ± 88	82 ± 34 61 ± 33	Malay <i>et al.</i> , 2016 Guo <i>et al.</i> , 2018
	<i>Samia ricini</i>	6,3 ± 0,3	47,4 ± 6,1	560 ± 20	156 ± 24	Fang <i>et al.</i> , 2016
	<i>Saturnia jonasii</i>	7,1 ± 2,6	19,3 ± 13	370 ± 100	50 ± 40	Malay <i>et al.</i> , 2016
Lasiocampoidea / Lasiocampidae	<i>Gonometa postica</i>	8,1 ± 0,5	41,3 ± 1,4	310 ± 37	76 ± 8	Teshome <i>et al.</i> ,2012
Noctuoidea/ Notodontidae	<i>Anaphe panda</i>	6,3 ± 0,8	17,7 ± 0,7	365 ± 51	43 ± 7	Teshome <i>et al.</i> ,2012
Tineoidea/ Psychidae	<i>Eumeta minuscula</i>	25	-	-	-	Yoshioka <i>et al.</i> ,2019
	<i>Eumeta variegata</i>	28,1 ± 2,1	32 ± 3	2000 ± 200	364 ± 44	Yoshioka <i>et al.</i> ,2019
	<i>Oiketicus geyeri</i>	11,1 ± 1 (20)	13,6 ± 0,6 (18)	746 ± 40 (18)	54 ± 5 (17)	Este trabalho

Figura 23 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de *A. illustris* (A), *H. a. capys* (B).

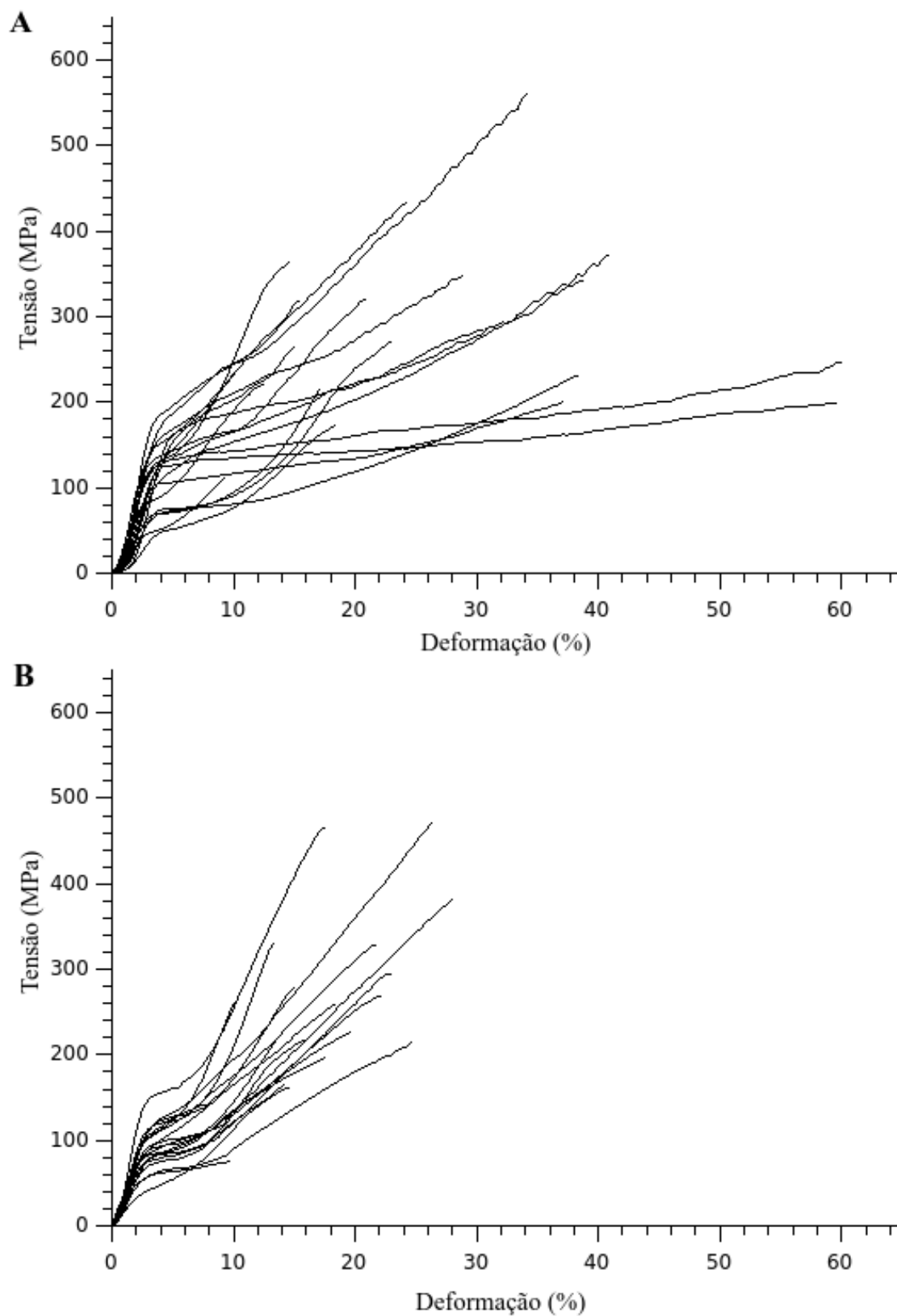


Figura 24 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de *H. metapyrrha* (A), *M. bubastus* (B).

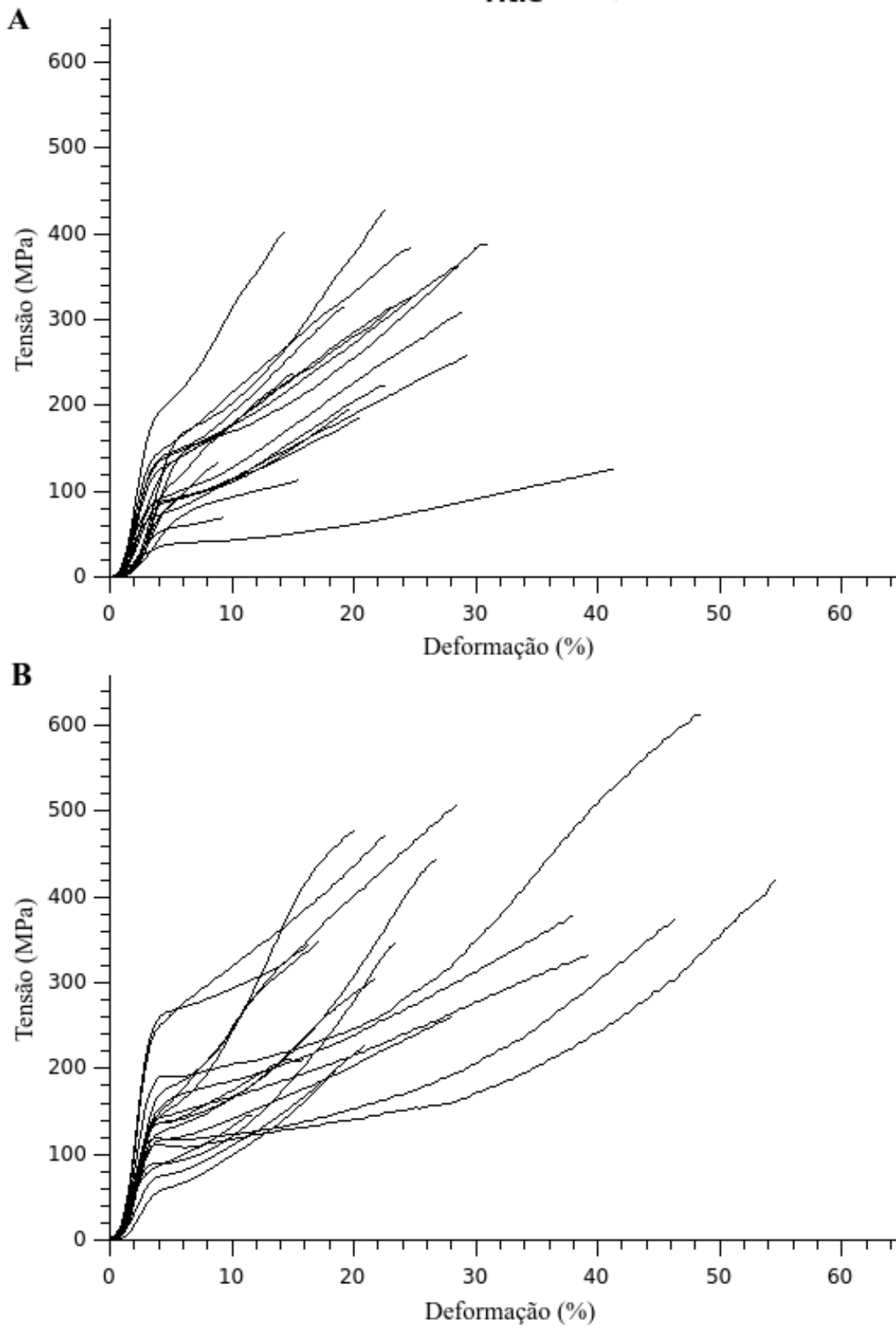


Figura 25 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de *M. o. oiclus* (A), *M. e. argentinus* (B).

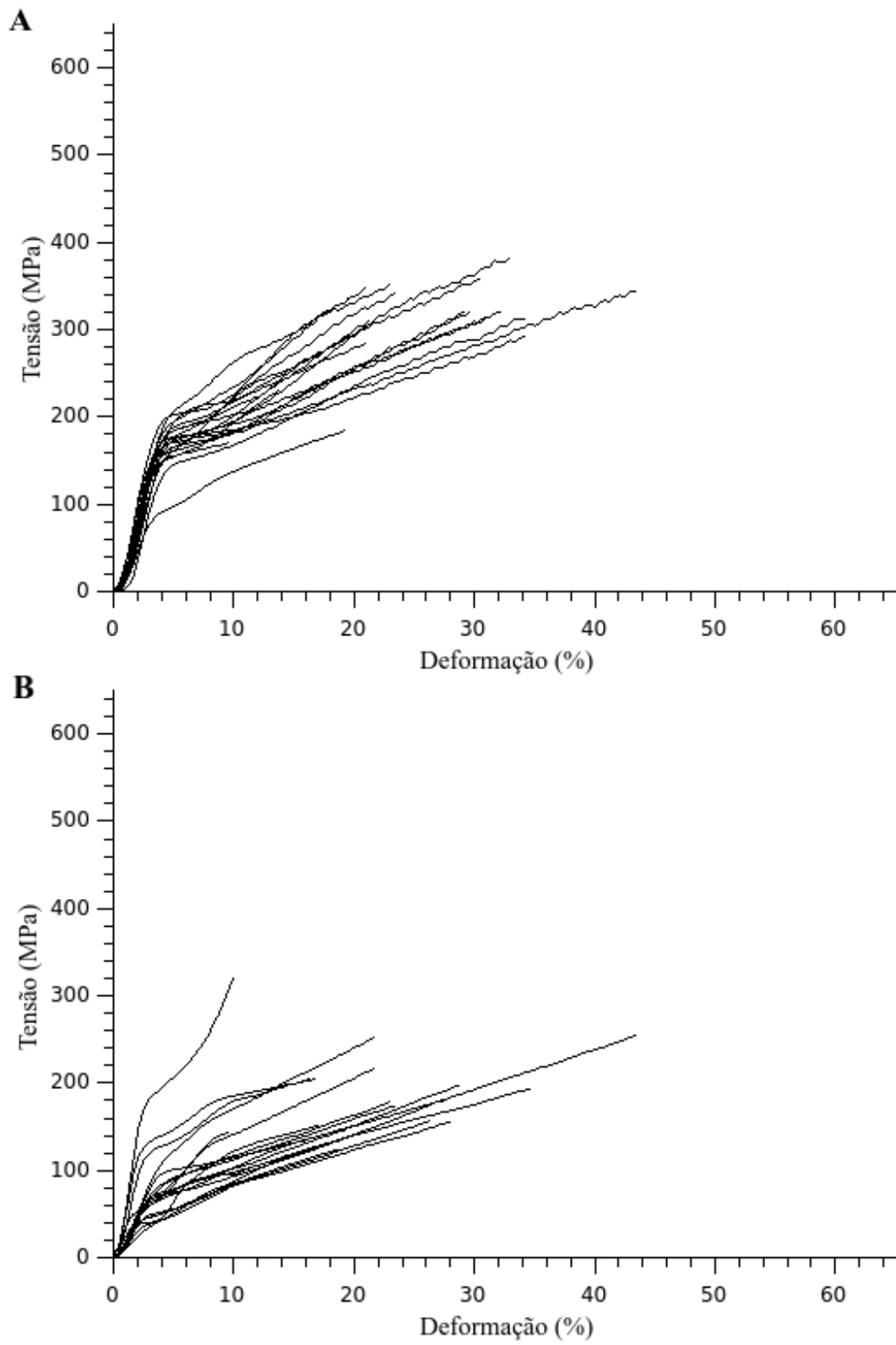


Figura 26 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de *M. h. achillaena* (A), *O. geyeri* (B).

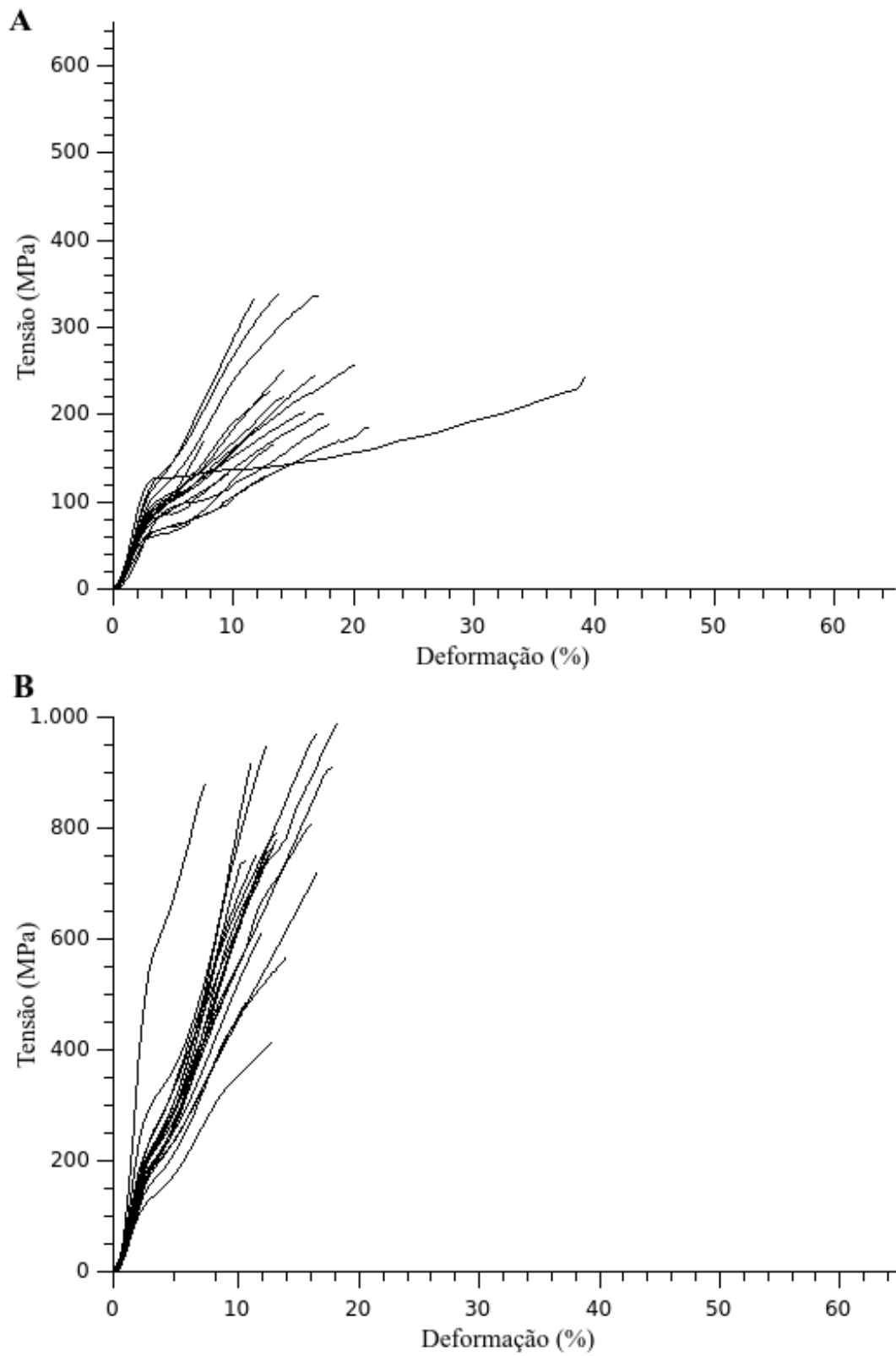
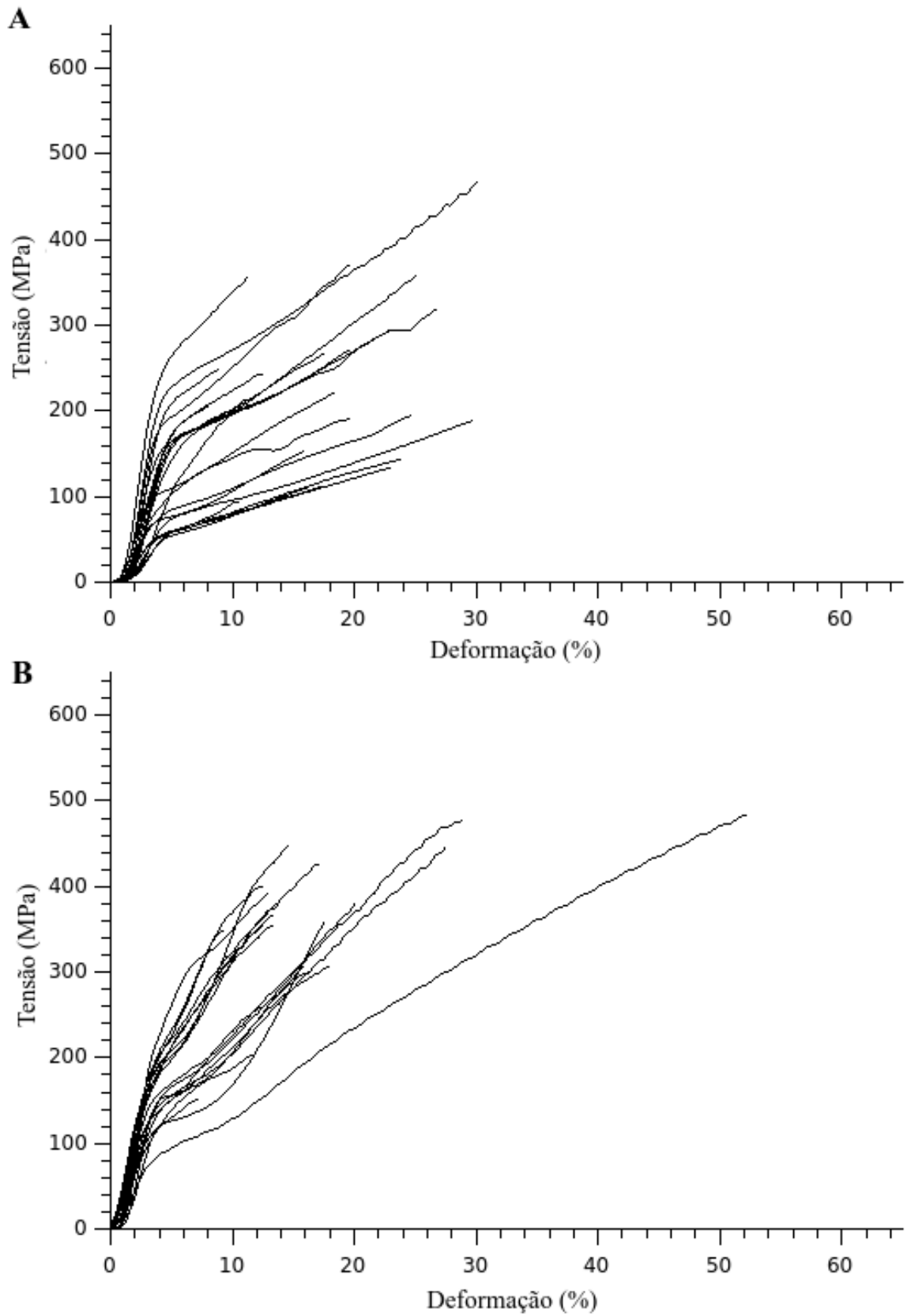


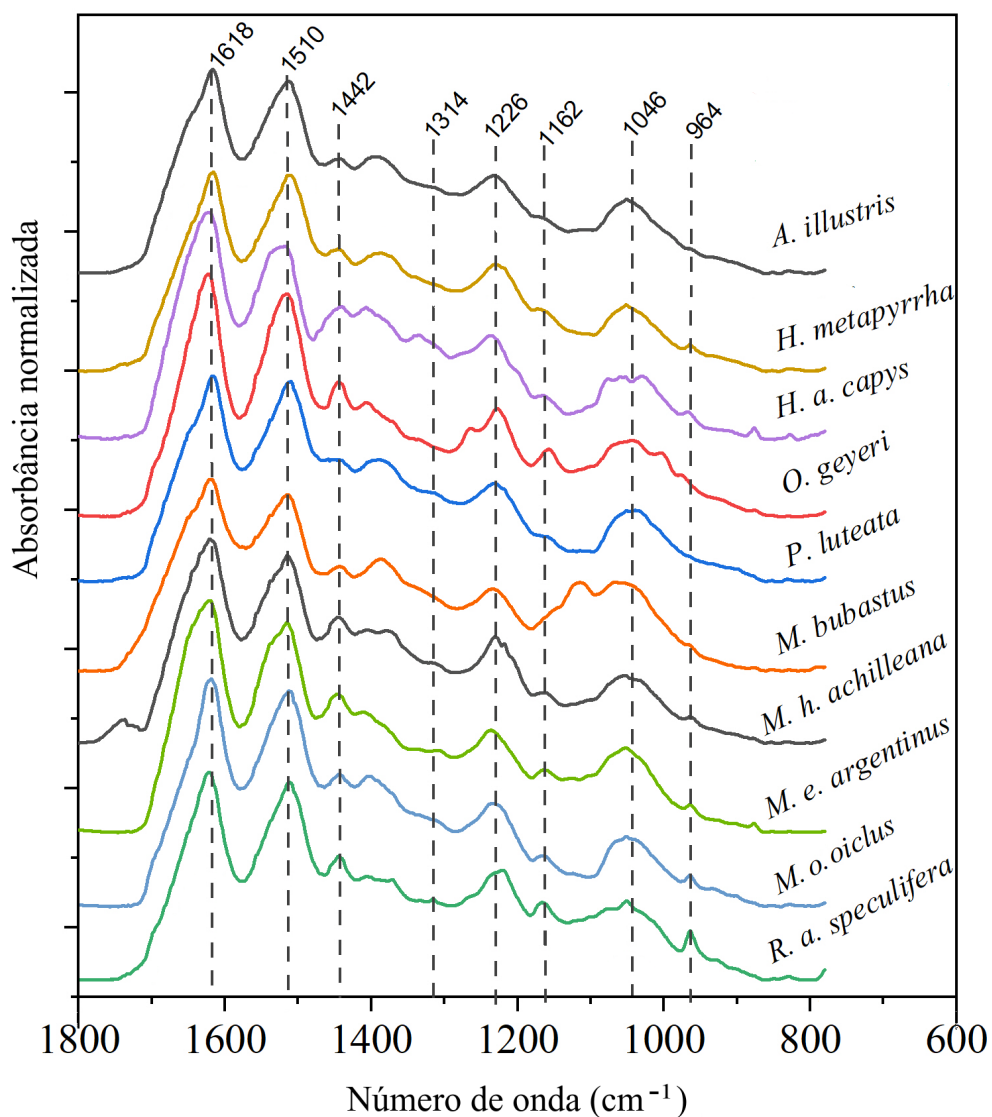
Figura 26 – Curvas obtidas nos ensaios de tensão-deformação de *P. luteata* (A), *R. a. speculifera* (B).



4.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, por reflexão total atenuada (ATR – FTIR), foi usada para identificar e quantificar oxalato de cálcio, folhas- β (A)_n, folhas- β (AG)_n, taninos e compostos fenólicos e serina, como em Boulet-Audet *et al.* (2015). No entanto, houve um deslocamento na banda de sericina de 1384 até 1403 cm^{-1} que foi ampliada de 1354 para 1420 cm^{-1} . Neste trabalho, a área da banda serina foi calculada de 1354 a 1420 cm^{-1} . Os espectros são mostrados na Figura 28, e os resultados das medições estão resumidos na Tabela 5.

Figura 28 – Espectros de infravermelho das sedas das espécies analisadas.



Todos os trabalhos feitos até agora se concentraram apenas na subfamília Saturniinae (Saturniidae), que tem uma distribuição mais ampla. Analisamos os primeiros membros da subfamília, quase exclusivamente neotropical, Hemileucinae: *A. illustris*, *H. metapyrrha* e *P. luteata*. De acordo com as análises de Boulet-Audet *et al.* (2015) e Guo *et al.* (2018), a maioria dos Saturnídeos eram pobres em folhas- β (AG)_n: Hemileucinae mostrou a mesma tendência que os Saturniidae. Todas as espécies, com exceção de *O. geyeri*, apresentaram baixa intensidade na banda de folhas- β (AG)_n. A intensidade da banda de compostos fenólicos do tanino foi muito diferente para espécies do mesmo gênero, no caso de *M. bubastus* e *M. o. oiclus*.

A concentração relativa de oxalato foi maior entre as sedas de *A. illustris*, *M. bubastus*, *M. o. oiclus* e *R. a. speculifera*, isso provavelmente se deve a grande espessura da parede do casulo ou ao casulo ser envelopado entre folhas de vegetação, o que supostamente diminuiria a concentração de oxigênio com o passar do tempo caso o oxalato não estivesse presente realizando manutenção do ar dentro do casulo (ROY *et al.*, 2012). Observando os dados de outras espécies (CHEN *et al.*, 2012 a - b; BOULET-AUDET *et al.*, 2015), os casulos de *Argema mimosae*, *Cricula trifenestrata*, *Saturnia cachara*, e *Saturnia simla* possuem uma malha aberta e baixa concentração de oxalato, enquanto *Gonometa postica* que possui espessura da parede do casulo mais alta entre as outras espécies estudadas, na literatura, possui também uma concentração alta de oxalato. Porém, talvez seja necessário considerar outras características da arquitetura do casulo para entender como esta pode influenciar na concentração de oxalato, *P. luteata*, embora tenha o casulo selado com folhas, possui uma malha fechada, mas bastante fina. *H. metapyrrha* possui a parede com malha aberta somente em algumas regiões, isso pode explicar sua concentração relativamente baixa de oxalato entre os Saturniidae analisados.

Tabela 5 – Áreas das bandas provenientes das análises de infravermelho.

Espécie	Ca(COO) ₂ cristais minerais	Folhas-β (A) _n	Folhas-β (AG) _n	Taninos e compostos fenólicos	Serina
	(740–800 cm ⁻¹)	(931–983 cm ⁻¹)	(984–1006 cm ⁻¹)	(1094–1135 cm ⁻¹)	(1354–1420 cm ⁻¹)
<i>A. illustris</i>	86,81	26,98	9,92	31,28	848
<i>H. a. capys</i>	38,75	168	2,95	11,91	689
<i>H. metapyrrha</i>	45,6	119	0,03	8,49	985
<i>M. bubastus</i>	230	47,33	5,41	655	942
<i>M. o. oiclus</i>	106	164	3,40	17,39	867
<i>M. e. argentinus</i>	33,36	132	0,02	13,45	479
<i>M. h. achillaena</i>	40,53	108	0,03	19,03	773
<i>O. geyeri</i>	64,95	79,01	156	9,56	626
<i>P. luteata</i>	69,81	8,09	0,01	16,51	1055
<i>R. a. speculifera</i>	281	489	0,02	26,29	432

4.4 ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS E REGRESSÃO MULTILINEAR

Não houve correlação entre a intensidade da banda de absorção no infravermelho dos compostos fenólicos do tanino e as propriedades mecânicas das fibras de seda. A deformação na ruptura não apresentou qualquer dependência nas intensidades da banda de absorção de infravermelho ao nível de $p = 0,05$. A tensão na inflexão mostrou correlação com as bandas de folhas-β (A)_n e serina sendo responsáveis por 78,6 % da variância desta propriedade. O módulo de Young correlacionou-se com a intensidades de banda de infravermelho de folhas-β (A)_n, folhas-β (AG)_n e serina, com esses preditores sendo responsáveis por 93,3 % da variância desta propriedade mecânica. embora análises excluindo os dados de algumas espécies (em especial a seda de *H. metapyrrha*) tenham mostrado alta correlação da tensão na inflexão, com a intensidades de banda de infravermelho de folhas-β (A)_n, folhas-β (AG)_n e serina tem correlação (de até 93,3 %), essa correlação não se manteve (anexo 4). A tensão na

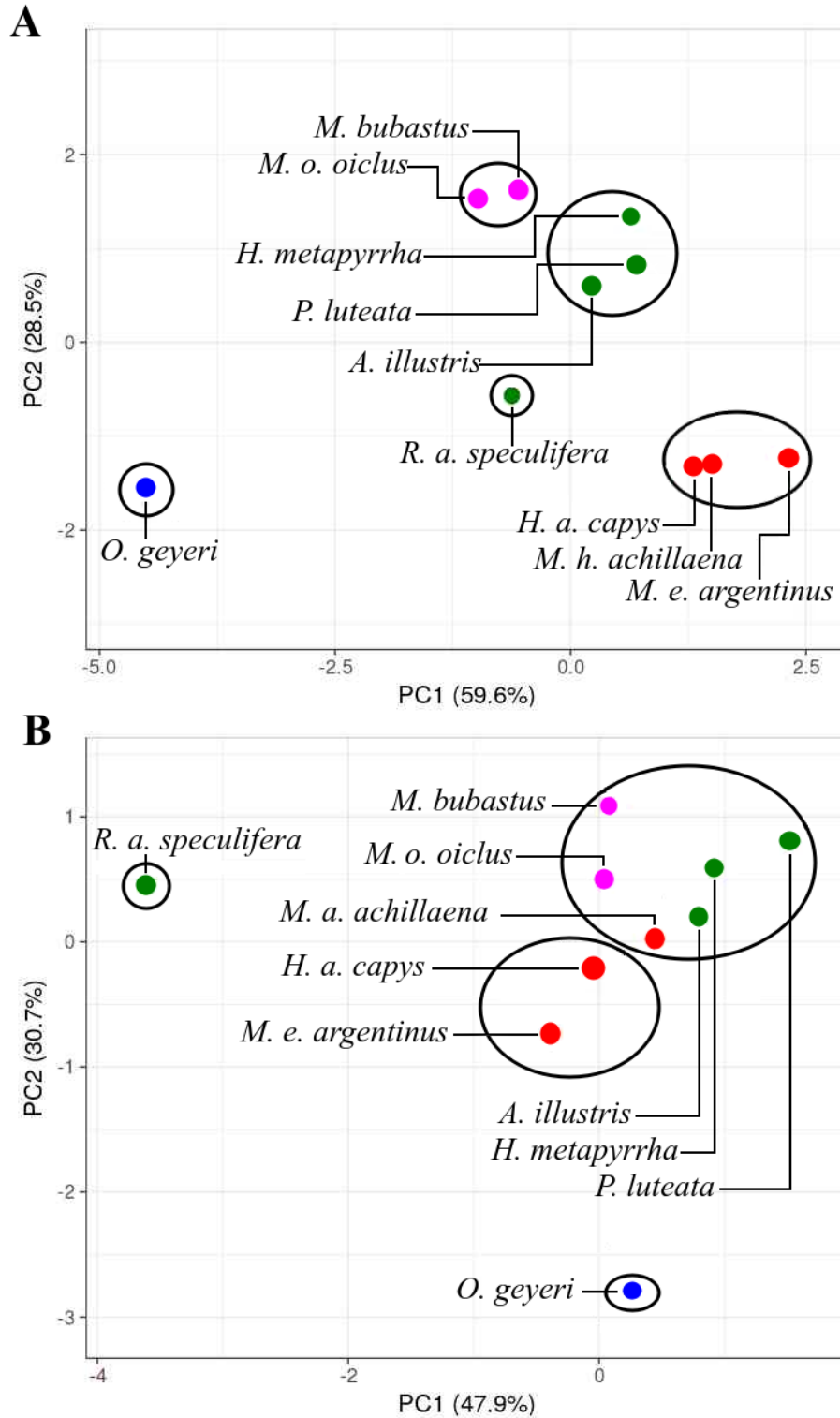
inflexão se correlacionou com as bandas de oxalato e folhas- β (AG)_n, sendo responsáveis por 74,9 % da variância desta propriedade. Embora as folhas- β (AG)_n possuam correlação com essa propriedade, o oxalato provavelmente não tem contribuição, pois está localizado na camada de sericina, onde contribui pouco para as propriedades mecânicas em geral. É provável que tenha ocorrido alguma falha na coleta dos dados da seda de *H. metapyrrha*. A tensão de ruptura se correlacionou com todas as bandas, com esse preditor sendo responsável por 99,3 % da variância. Finalmente, a tenacidade da seda aumenta proporcionalmente com a intensidade das bandas de infravermelho atribuídas aos cristais de oxalato, folhas- β (AG)_n e serina, com esses dois preditores sendo responsáveis por 75,6 % da variância.

Os resultados mostram claramente que as propriedades mecânicas das fibras de seda estão intimamente relacionadas à sua estrutura interna, como o conteúdo da folha- β (FANG *et al.*, 2016). Pelas medições deste trabalho, o ponto de inflexão do teste de tração é em média em torno de 3,6 %, com uma incerteza de 0,4 %. Considerando este ponto fixo, pode-se inferir que existe uma correlação direta entre o módulo de Young e a tensão na inflexão, e é o que as correlações observadas demonstram, excluindo os dados da seda de *H. metapyrrha*, todas as variáveis ligadas ao módulo de Young são as mesmas que influenciaram na tensão na inflexão. Resultados anteriores mostram que um alto conteúdo de estruturas de folhas- β está associado à alta cristalinidade, resultando em um alto módulo de Young para fibras de seda (GUO *et al.*, 2018). Assim, se um módulo inicial for maior, ele proporcionará uma maior resistência à ruptura (FANG *et al.*, 2016). Serina, glicina e alanina são os três principais aminoácidos da fibroína (COLOMBAN *et al.*, 2012), e a serina é bastante abundante em sericina, mas como sericina pode representar menos de 8 % do material total de seda (FU *et al.*, 2011), é mais provável que a banda de FTIR de serina observada é principalmente devido à fibroína. Assim, pode-se deduzir que a serina atua nas regiões cristalinas e/ou amorfas da fibra e influenciam nas propriedades mecânicas observadas. Compósitos de seda inorgânicos demonstraram propriedades mecânicas como aumento da tenacidade e módulo de Young, atuando como agentes de reforço (KHARLAMPIEVA *et al.*, 2010); como o oxalato de cálcio está localizado na camada de sericina, esse material atua como reforço apenas nessa camada e não no núcleo de fibroína.

A PCA e a análise de agrupamentos dos dados de propriedades mecânicas, apresentados na Figura 29A, distinguiram melhor os táxons de Lepidoptera, enquanto a PCA das medições da banda de infravermelho, na Figura 29B, embora semelhante na distinção dos táxons, foi menos precisa. A análise de ambos os *clusters* agrupou, ao menos próximos,

Papilionoidea e Bombycoidea e isolou Tineoidea. Na PCA das propriedades mecânicas, as famílias com um par de espécies analisadas permaneceram aos pares, e todos esses pares foram posicionados próximos uns dos outros, mostrando que as sedas dessas espécies apresentam maior semelhança entre si, em relação a *O. geyeri*, da superfamília Psychidae. Na PCA dos dados FTIR, ao contrário do que seria de esperar, *A. illustris*, *H. metapyrrha* e *P. luteata* não ficaram próximas à *R. a. speculifera*, que pertencem à mesma família. Isso se deve principalmente a *R. a. speculifera* ter bandas de absorção intensa de folhas- β (A)_n e oxalato de cálcio, sendo esta última banda menos importante para as propriedades mecânicas que agruparam Saturniidae no PCA das propriedades mecânicas.

Figura 29 – Análise de componentes principais e agrupamento dos dados dos ensaios mecânicos (A) e dados das áreas das bandas de infravermelho (B). Papilionoidea são representados por pontos vermelhos, pontos verdes para Saturniidae, magenta para Sphingidae, e azul para Psychidae. Os grupos selecionados pela análise de agrupamento estão circundados.



5 CONCLUSÕES

As sedas das mariposas selvagens apresentaram fibras mais espessas em relação às sedas das borboletas *H. a. capys*, *M. e. argentinus*, *M. h. achillaena* e *O. geyeri*. Provavelmente, a razão disso se deve à necessidade de economia energética para a sobrevivência dessas espécies com hábito gregário ou nômade, pois ao espalharem sua seda pelo substrato gastam muitos metros de seda. É possível inferir que quanto maior o uso durante a vida do inseto, menor é a área de secção transversal de sua seda. Os casulos de parede mais espessa, ou envelopados em folhas, mostram tendência a possuir maior concentração de oxalato de cálcio, em relação a outras espécies com casulo mais aberto. Porém, mais estudos são necessários para entender se essas tendências são gerais entre os lepidópteros.

Os valores do módulo de Young e da tração na ruptura foram semelhantes aos da literatura, para espécies da superfamília Bombycoidea, mas os valores das espécies de Papilionoidea foram inferiores aos das demais espécies de Lepidoptera. De acordo com nossos resultados e dados da literatura, o módulo de Young médio das sedas de Papilionoidea, Psychidae, Saturniidae e Sphingidae, com base nos dados deste trabalho e dados da literatura, são 3,8, 21,4, 5,3 e 5,9 GPa, respectivamente. A resistência à tração média foi em torno de 380 MPa para a família Saturniidae. Papilionoidea apresentou valores relativamente baixos (média de 201 MPa) em comparação com outras espécies de Lepidoptera, o que é provavelmente característico de sedas de borboletas. Embora as propriedades das sedas de Papilionoidea tenham se mostrado inferiores, um trabalho mais abrangente é necessário para verificar a generalização desta informação. A seda da espécie *O. geyeri* apresentou boas propriedades mecânicas, como outras espécies da família Psychidae analisadas na literatura. No geral, em muitos dos compostos, relacionados na literatura, folhas- β e serina se mostraram importantes para o comportamento mecânico.

REFERÊNCIAS

- ASHTON, N. N.; ROE, D. R.; WEISS, R. B.; CHEATHAM, T. E.; STEWART, R. J. Self-Tensioning Aquatic Caddisfly Silk: Ca^{2+} - Dependent Structure, Strength, and Load Cycle Hysteresis. **Biomacromolecules**. [S.l.], v. 14, n. 10, p. 3668-3681, Out. 2013. DOI: dx.doi.org/10.1021/bm401036z.
- BARBER, J. R.; LEAVELL, B. C.; KEENER, A. L.; BREINHOLT, W.; CHADWELL, B. A.; MCCLURE, C. J. W.; HILL, G. M.; KAWAHARA, A. Moth Tails Divert Bat Attack: Evolution of Acoustic Deflection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. [S.l.], v. 112, n. 9, p. 2812-2816, Mar. 2015. DOI: 10.1073/pnas.1421926112.
- BENJWAL, P.; BALANI, K. Multi-Length Scale Hierarchy in Natural Materials. In: BALANI, K.; VERMA, V.; AGARWAL, A.; NARAYAN, R. (ed.). **Biosurfaces: A Materials Science and Engineering Perspective**. Hoboken: Wiley, 2015. Cap. 5, p. 146-150.
- BLANDIN, P. **The Systematics of the genus Morpho. Fabricius, 1807 (Lepidoptera: Nymphalidae: Morphinae)** Canterbury: Hillside books, 2007. p. 277.
- BONATTO, L. D.; DE AZEVEDO FILHO, W. S.; FRONZA, E. **Saturnídeos: Guia ilustrado das mariposas de Bento Gonçalves**. Porto Alegre: EVANGRAF, 2019. p. 158.
- BOULET-AUDET, M.; VOLLRATH, F.; HOLLAND, C. Identification and Classification of Silks Using Infrared Spectroscopy. **Journal of Experimental Biology**. [S.l.], v. 218, p. 3138-3149, Jul. 2015. DOI: 10.1242/jeb.128306.
- BRAGULLA, H. H.; HOMBERGER, D. G. Structure and Functions of Keratin Proteins in Simple, Stratified, Keratinized and Cornified Epithelia. **Journal Of Anatomy**, [S.l.], v. 214, n. 4, p. 516-559, Abr. 2009. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01066.x.
- BRANCO, M.; SANTOS, M.; CALVÃO, T.; TELFER, G.; PAIVA, M.-P. Arthropod Diversity Sheltered in *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae) Larval Nests. **Insect Conservation and Diversity**. [S.l.], v. 1, n. 4, p. 215–221. Out. 2008. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2008.00028.x
- BROWN, S. A.; RUXTON, G. D.; HUMPHRIES, S. Physical Properties of *Hydropsyche siltalai* (Trichoptera) Net Silk. **Journal of the North American Benthological Society**. [S.l.], v. 23, n. 4, p. 771–779. Dez. 2004. DOI: http://dx.doi.org/10.1899/0887-3593(2004)023<0771:PPOHST>2.0.CO;2.
- BRUNET, P. C. J.; COLES, B. C. Tanned Silks. **Proceedings of the Royal Society B**. [S.l.], v. 187, p. 133-170. Set. 1974. DOI: https://doi.org/10.1098/rspb.1974.0067.
- BUSTOS, E. N. **Mariposas de la Ciudad de Buenos Aires y Alrededores**. Buenos Aires: Vazquez Mazzini Editores, 2010. p. 262.
- CHEN, F.; PORTER, D.; VOLLRATH, F. Silkworm Cocoons Inspire Models for Random Fiber and Particulate Composites. **Physical Review**. [S.l.], v. 82, n. 4, p. 041911, Out. 2010. DOI: 10.1103/PHYSREVE.82.041911.

CHEN, F.; PORTER, D.; VOLLRATH, F. Structure and Physical Properties of Silkworm Cocoons. **Journal of The Royal Society Interface**, [S.l.], v. 9, n. 74, p. 2299-2308, Maio 2012 - a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2011.0887>.

CHEN, F.; PORTER, D.; VOLLRATH, F. Morphology and Structure of Silkworm Cocoons. **Materials Science and Engineering: C**. [S.l.], v. 32, n. 4, p. 772–778. Maio 2012 - b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.01.023>.

CHEN, Y.; KOH, L.-D.; LI, D.; JI, B.; HAN, M.-Y.; ZHANG, Y.-W. On the Strength of β -Sheet Crystallites of *Bombyx mori* Silk Fibroin. **Journal of The Royal Society Interface**. [S.l.], v. 11, n. 96, p. 1–8. Abr. 2014. DOI: 10.1098/rsif.2014.0305.

COLLIN, M. A.; CAMAMA, E.; SWANSON, B. O.; EDGERLY, J. S.; HAYASHI, C. Y. Comparison of Embiopteran Silks Reveals Tensile and Structural Similarities across Taxa. **Biomacromolecules**. [S.l.], v. 10, n. 8, p. 2268-2274, Ago. 2009. DOI: 10.1021/bm900449p.

COLOMBAN, P.; DINH, H. M.; BUNSELL, A.; MAUCHAMP, B. Origin of the Variability of the Mechanical Properties of Silk Fibres: 1 - The Relationship Between Disorder, Hydration and Stress/Strain Behaviour. **Journal of Raman Spectroscopy**. [S.l.], v. 43, n. 3, p. 425-432, Mar. 2012. DOI: 10.1002/jrs.3044.

COX, L. C.; POTTER, A. P. Aerial Dispersal Behavior of Larval Bagworm, *Thyridopteryx ephemaeriformis* (Lepidoptera: Psychidae). **Canadian Entomologist**. [S.l.], v. 118, n. 6, p. 525-536, Jun. 1986.

CRAIG, C. L. Evolution of Arthropod Silks. **Annual Review of Entomology**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 231-267, Jan. 1997. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.231>.

DANKS, H. V. The Roles of Insect Cocoons in Cold Conditions. **European Journal Of Entomology**, [S.l.], v. 101, n. 3, p. 433-437. Set. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.14411/eje.2004.062>.

DAVIS, D. R. **Bagworm Moths of the Western Hemisphere (Lepidoptera: Psychidae)**. Washington: Bulletin (United States National Museum), 1964. p. 244.

DAVIS, D. R.; QUINTERO, D. A.; CAMBRA, R. A. T.; AIELLO, A. Biology of a New Panamanian Bagworm Moth (Lepidoptera: Psychidae) with Predatory Larvae, and Eggs Individually Wrapped in Setal Cases. **Annals of the Entomological Society of America**. [S.l.], v. 101, n. 4, p. 689–702, Jul. 2008. DOI: [http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746\(2008\)101\[689:BOANPB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746(2008)101[689:BOANPB]2.0.CO;2).

DENG, T.; CHENG, L.; PENG, Y.; TONG, X.; GUO, N.; LI, Z.; ZHAO, T.; DAI, F. Structure and Properties of *Bombyx Mandarina* Silk Fiber and Hybrid Silk Fiber. **Journal of Natural Fibers**. [S.l.], v. 18, n. 3, p. 330–342, Jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/15440478.2019.1623743>.

DIAMANTE DO SUL: Produção de sericicultura contempla 100 produtores contribuindo para o desenvolvimento da agricultura familiar. Disponível em: <https://www.diamantedosul.pr.gov.br/noticias/item/12-producao.html>. Acesso em: 15 abr. 2020.

- DUARTE, M.; MARCONATO, G.; SPECHT, A.; CASAGRANDE, M. M. Lepidoptera. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. E. R.; DE CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos. 2012. p. 626–682.
- DYAR, H. G. Life Histories of Some North American Moths. **Proceedings United States National Museum**. Washington, v. 23, n. 1203, p. 255-288. 1901.
- FANG, G.; SAPRU, S.; BEHERA, S.; YAO, J.; SHAO, Z.; KUNDU, S. C.; CHEN, X. Exploration on Tight Structural Mechanical Relationship in Mulberry and Non-Mulberry Silkworm Silks. **Journal of Materials Chemistry B**. [S.l.], v. 4, n. 24, p. 4337–4347, Jun. 2016. DOI: 10.1039/C6TB01049K.
- FANG, G.; TANG, Y.; QI, Z.; YAO, J.; SHAO, Z.; CHEN, X. Precise Correlation of Macroscopic Mechanical Properties and Microscopic Structures of Animal Silks—using *Antheraea pernyi* silkworm silk as an example. **Journal of Materials Chemistry B**. [S.l.], v. 5, n. 30, p. 6042–6048, Jul. 2017. DOI: 10.1039/c7tb01638g.
- FEDIČ, R.; ŽUCOREV, M.; SEHNAL, F. The Silk of Lepidoptera. **Journal of Insect Biotechnology and Sericology**. [S.l.], v. 71, n. 1, p. 1–15, Jan 2002. DOI: <https://doi.org/10.11416/jibs2001.71.1>.
- FORSAYETH, R. W. Life History of Sixty Species of Lepidoptera Observed in Mhow, Central India. **Transactions of the Entomological Society of London**. London, v. 32, p. 377-419. Dez. 1884.
- FREDDI, G.; SVILOKOS, A. B.; ISHIKAWA, H.; TSUKADA, M. Chemical Composition and Physical Properties of *Gonometa rufobrunnae* Silk. **Journal of Applied Polymer Science**. [S.l.], v. 488, n. 1, p. 99–106, Abr. 1993. DOI: 10.1002/app.1993.070480110.
- FREDDI, G.; GOTOH, Y.; MORI, T. TSUTSUI, I.; TSUKADA, M. Chemical Structure and Physical Properties of *Antheraea assama* Silk. **Journal of Applied Polymer Science**. [S.l.], v. 52, p. 775–781, Maio 1994. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.1994.070520608>.
- FU, C.; PORTER, D.; SHAO, Z. Moisture Effects on *Antheraea pernyi* Silk's Mechanical Property. **Macromolecules**. [S.l.], v. 42, n. 20, p. 7877–7880, Out. 2009. DOI: 10.1021/ma901321k.
- FU, C.; PORTER, D.; CHEN, X.; VOLLRATH, F.; SHAO, Z. Understanding the Mechanical Properties of *Antheraea Pernyi* Silk—From Primary Structure to Condensed Structure of the Protein. **Advanced Functional Materials**. [S.l.], v. 21, n. 4, p. 729–737, Jan. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.201001046>.
- FU, C.; WANG, Y.; GUAN, J.; CHEN, X.; VOLLRATH, F.; SHAO, Z. Cryogenic Toughness of Natural Silk and a Proposed Structure–Function Relationship. **Materials Chemistry Frontiers**. [S.l.], v. 3, n. 11, p. 2507–2513, Out. 2019. DOI: 10.1039/C9QM00282K.
- GHEYSENS, T.; COLLINS, A.; RAINA, S.; VOLLRATH, F.; KNIGHT, D. P. Demineralization Enables Reeling of Wild Silkworm Cocoons. **Biomacromolecules**. [S.l.], v. 12, n. 6, p. 2257–2266, Jun. 2011. DOI: 10.1021/bm2003362.
- GUO, C.; ZHANG, J.; JORDAN, J. S.; WANG, X.; HENNING, R. W.; YARGER, J. L. Structural Comparison of Various Silkworm Silks: An Insight into the Structure–Property

Relationship. **Biomacromolecules**. [S.l.]. v. 19, n. 3, p. 906–917, Fev. 2018. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b01687.

HAMILTON, C. A.; ST LAURENT, R. A.; DEXTER, K.; KITCHING, I. J.; BREINHOLT, J. W.; ZWICK, A.; TIMMERMANS, M. J. T. N.; BARBER, J. R.; KAWAHARA, A.; Y. Phylogenomics Resolves Major Relationships and Reveals Significant Diversification Rate Shifts in the Evolution of Silk Moths and Relatives. **BMC Evolutionary Biology**. [S.l.], v. 19, n. 1, p. 158-173. Mar. 2019. DOI: 10.1186/s12862-019-1505-1.

HERBISON-EVANS, D.; CROSSLEY, S. Butterfly House: Sphingidae of Australia. Sphingidae of Australia. 2014. Disponível em: <http://lepidoptera.butterflyhouse.com.au/sphi/sphingidae.html>. Acesso em: 10 out. 2021.

HOLLAND, C., VOLLRATH, F.; RYAN, A. J.; MYKHAYLYK, O. O. Silk and Synthetic Polymers: Reconciling 100 Degrees of Separation. **Advanced Materials**. [S.l.], v. 24, n. 1, p. 105-109. Jan. 2011. DOI: 10.1002/adma.201103664.

HUANG, W; LING, S; LI, C.; OMENETTO, F.; KAPLAN, D. Silkworm Silk-Based Materials and Devices Generated Using Bio-Nanotechnology. **Chemical Society Reviews**. [S.l.]. v. 47, n. 17, p. 6486–6504, Mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8cs00187a>.

ISHII, S.; INOKUCHI, J.; KANAZAWA; TOMIZAWA, C. Studies on the Cocoon of the Oriental Moth, *Monema (Cnidocampa) flavescens*, (Lepidoptera: Limacodidae) III. Structure and Composition of the Cocoon in Relation to Hardness. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**. [S.l.], v. 28, n. 4, p. 269-273. 1984. DOI: <https://doi.org/10.1303/jjaez.28.269>.

KAWAHARA, A. Y.; PLOTKIN, D.; ESPELAND, M.; MEUSEMANN, M.; TOUSSAINT, E. F. A.; DONATH, A.; GIMNICH, F.; FRANDSEN, P. B.; ZWICK, A.; DOS REIS, M.; BARBER, J. R.; PETERS, R. S.; LIU, S.; ZHOU, X.; MAYER, C.; PODSIADLOWSKI, L.; STORER, C.; YACK, J. E.; MISOF, M.; BREINHOLT, J. W. Phylogenomics Reveals the Evolutionary Timing and Pattern of Butterflies and Moths. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. [S.l.], v. 116, n. 45, p. 22657-22663. Out. 2019. DOI: 10.1073/pnas.1907847116.

KETEN, S.; XU, Z.; IHLE, B.; BUEHLER, M. J. Nanoconfinement Controls Stiffness, Strength and Mechanical Toughness of β -sheet Crystals in Silk. **Nature Materials**. [S.l.], v. 9, n. 4, p. 359-367. Mar. 2010. DOI: 10.1038/nmat2704.

KHARLAMPIEVA, E.; KOZLOVSKAYA, V.; GUNAVIJAYA, P.; SHEVCHENKO, V. V.; VAYA, R.; NIKE, R. R.; KAPLAN, D. L.; TSUKRUK, V. V. Flexible Silk–Inorganic Nanocomposites: From Transparent to Highly Reflective. **Advanced Functional Materials**. [S.l.], v. 20, p. 840-846, fev. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.200901774>.

KITCHING, I. J.; ROUGERIE, R.; ZWICK, A.; HAMILTON, C.; ST LAURENT, R. A.; NAUMANN, S.; MEJIA, L. B.; KAWAHARA, A. Y. A Global Checklist of the Bombycoidea (Insecta: Lepidoptera). **Biodiversity Data Journal**. [S.l.], v. 6, p. e22236. Fev. 2018. DOI: 10.3897/BDJ.6.e22236.

KUNZ, R. I.; BRANCALHÃO, R. M. C.; RIBEIRO, L. F. C.; NATALI, M. R. M. Silkworm Sericin: **Properties and Biomedical Applications**. [S.l.], v. 2, p. 1-19. Nov. 2016. DOI:

LANE, D. A.; MOULDS, M. S. The Life History of the Hawk Moth *Langia tropicus* Moulds (Lepidoptera: Sphingidae) Together with New Distribution Records for the species. **Australian Entomologist**. [S.l.], v. 37, n. 1, p. 13-20, Mar. 2010.

LEITE, L. A. R.; CASAGRANDE, M. M.; MIELKE, O. H. H. Morfologia, Comportamento, Parasitismo e Mecanismos de Defesa dos Imaturos de *Heraclydes anchisiades capys* (Hübner) (Lepidoptera, Papilionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. [S.l.], v. 54, n. 2, p. 22657-22663. Jun. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000200011>.

LEMAIRE, C. **Les Attacidae américains (=Saturniidae): Attacinae**. Neuilly-sur-Seine: Édition C. Lemaire. 1978. p. 238.

LEMAIRE, C. **The Attacidae of America: Hemileucinae**. Part A. Keltern: Goecke & Evers. 2002. 688 p.

LIMA, A. C. **Insetos do Brasil: Lepidóptera**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia. Série Didática, n. 5. 1945, p.376.

LIMA, A. C. **Insetos do Brasil: Lepidóptera**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia. Série Didática, n. 6. 1950, p. 420.

LIMA, G. B.; VILA-VERDE, G.; DUARTE, K. S.; PEREIRA, R. C.; PALUCH, M. Aspectos Biológicos e Morfológicos de *Rothschildia aurota speculifera* (Walker) (Lepidoptera: Saturniidae): uma Mariposa Diapausante. **Biotemas**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 1-15, jun. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2021.e77600>.

MACNULTY, B. J. Outline Life Histories of Some West African Lepidoptera. III. Sphingidae. **Proceedings and transactions of the British Entomological and Natural History Society**. London, v. 3, n. 1, p. 95-122. Mai. 1970. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/94355#page/158/mode/2up>. Acesso em: 2 out. 2021.

MALAY, A. D.; SATO, R.; YAZAWA, K.; WATANABE, H.; IFUKU, N.; MASUNAGA, H.; HIKIMA, T.; GUAN, J.; MANDAL, B. B.; DAMRONGSAKKUL, S.; NUMATA, K. Relationships Between Physical Properties and Sequence in Silkworm Silks. **Scientific Reports**. [S.l.], v. 6, n. 27573, Jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep27573>.

MALLET, J. **Taxonomy of Lepidoptera: the Scale of the Problem**. 2014. Disponível em: <https://www.ucl.ac.uk/taxome/lepnos.html>. Acesso em: 24 nov. 2021.

METSALU, T.; VILO, J. Clustvis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research*, 43(W1):W566–W570, 2015. DOI: 10.1093/nar/gkv468.

MIELKE, O.; CASAGRANDE, M. M. Catálogo Bibliográfico dos Taxa Superiores da Ordem Lepidoptera. **Revista Brasileira de Zoologia**. [S.l.], v. 23, n. 1, p. 1-41, Mar. 2006. DOI: 10.1590/S0101-81752006000100001.

MINNO, M. C.; EMMEL, T. C. Notes on the Peculiar Life History of *Madoryx pseudothyreus*, a Cocoon-Building Hawkmoth in the Florida Keys (Lepidoptera: Sphingidae). **Tropical Lepidoptera**. [S.l.], v. 1, n. 2, p. 89-30, Nov. 1990.

MONDAL, M.; TRIVEDY, K.; NIRMAL KUMAR, S. The Silk Proteins, Sericin and Fibroin in Silkworm, *Bombyx mori* Linn. - A Review. **Caspian Journal of Environmental Sciences**. [S.l.], v. 5, n. 2, p. 63-76, Nov. 2007.

MOTH IDENTIFICATION: Hawk Moth (Sphingidae). Hawk Moth (Sphingidae). 2020. Disponível em: <https://www.mothidentification.com/hawk-moth/page/2>. Acesso em: 12 out. 2021.

OKADA, S.; WEISMAN, S.; TRUEMAN, H. E.; MUDIE, S. T.; HARITOS, V. S.; SUTHERLAND, T. D. An Australian Webspinner Species Makes the Finest Known Insect Silk Fibers. **Macromolecules**. [S.l.], v. 43, n. 3, p. 271-275, Jul. 2008. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2008.06.007.

OMENETTO, F.; KAPLAN, D. From Silk Cocoon to Medical Miracle. **Scientific American**, [s.l.], v. 303, n. 5, p. 76-77, nov. 2010. Springer Science and Business Media LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/scientificamerican1110-76>.

PANDA, B.; SIDHU, M. S.; MUNJAL, P.; SOKHI, S.; SINGH, K. P. Time-Resolved Nano-Newton Force Spectroscopy in Air and Vacuum Using a Load Cell of Ultra Micro-Balance. **Review of Scientific Instruments**. [S.l.], v. 90, n. 4, Apr. 2019. DOI: 10.1063/1.5086260.

PEIGLER, R. S. Wild Silks of the World. **American Entomologist**. [S.l.], v. 39, n. 3, p. 151-162, Jul. 1993. DOI: <https://doi.org/10.1093/ae/39.3.151>.

PÉREZ-RIGUEIRO, J.; VINEY, C.; LLORCA, J.; ELICES, M. Silkworm Silk as an Engineering Material. **Journal of Applied Polymer Science**, [S.l.], v. 70, n. 10, p. 2439-2447. Dec. 1998. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19981219\)70:12<2439::AID-APP16>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19981219)70:12<2439::AID-APP16>3.0.CO;2-J).

PITTAWAY, A. R.; KITCHING, I. J. Sphingidae of the Eastern Palaearctic. 2000. Disponível em: <https://tpittaway.tripod.com/china/>. Acesso em: 2 out. 2021.

PROTEOPEDIA. Fibroin. Disponível em: <https://proteopedia.org/wiki/index.php?title=Fibroins&action=history>. Acesso em: 26 Maio 2020.

REBOLEIRA, A. S. P. S.; ENGHOFF, H. Mud and Silk in the Dark: A New Type of Millipede Moulting Chamber and First Observations on the Maturation Moults in the Order Callipodida. **Arthropod Structure & Development**. [S.l.], v. 45, n. 3, p. 301–306, Maio 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.asd.2016.04.001>.

REDDY, N.; YANG, Y. Morphology and Tensile Properties of Silk fibers Produced by Uncommon Saturniidae. **International Journal of Biological Macromolecules**. [S.l.], v. 46, n. 4, p. 419-424, Maio 2010 - a. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2010.02.013.

REDDY, N.; YANG, Y. Structure and Properties of Cocoons and Silk Fibers Produced by *Hyalophora cecropia*. **Journal of Materials Science**. [S.l.], v. 45, n. 16, p. 4414–4421, Ago. 2010 - b. DOI: 10.1007/s10853-010-4523-3.

REDDY, N.; YANG, Y. Structure and Properties of Ultrafine Silk Fibers Produced by *Theriodopteryx ephemeraeformis*. **Journal of Materials Science**. [S.l.], v. 45, n. 24, p. 6617-6622, Jul. 2010 - c. DOI: 10.1007/s10853-010-4752-5.

REDDY, N.; YANG, Y. Investigation of the Structure and Properties of Silk Fibers Produced by *Actias lunas*. **Journal of Polymers and the Environment**. [S.l.], v. 20, n. 3, p. 659–664, Maio 2012. DOI: 10.1007/s10924-012-0482-x.

REDDY, N.; JIANG, Q.; YANG, Y. Structure and Properties of Cocoons and Silk Fibers Produced by *Attacus atlas*. **Journal of Polymers and the Environment**. [S.l.], v. 21, n. 1, p. 16–23, Nov. 2012. DOI: 10.1007/s10924-012-0549-8.

REDDY, N.; JIANG, Q.; YANG, Y. Investigation of the Properties and Potential Medical Applications of Natural Silk Fibers Produced by *Eupackardia calleta*. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**. [S.l.], v. 24, n. 4, p. 460-469, Mar. 2013 - a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09205063.2012.690712>.

REDDY, N.; JIANG, Q.; YANG, Y. Properties and Potential Medical Applications of Silk Fibers Produced by *Rothschildia lebeau*. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**. [S.l.], v. 24, n. 7, p. 820–830, Mar. 2013 - b. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09205063.2012.719756>.

REDDY, N.; JIANG, Q.; YANG, Y. Structure and Properties of Cocoons and Silk Fibers Produced by *Attacus atlas*. **Journal of Polymers and the Environment**. [S.l.], v. 21, n. 1, p. 16–23, Nov. 2013 - c. DOI: 10.1007/s10924-012-0549-8.

REGIER, J. C.; SMITTER, C.; DAVIS, D. R.; HARRISON, T. L.; SOHN, J.-C.; CUMMINGS, M. P.; ZWICK, A.; MITTER, K. T. A Molecular Phylogeny and Revised Classification for the Oldest Ditrypsian Moth Lineages (Lepidoptera: Tineoidea), with Implications for Ancestral Feeding Habits of the Mega-Diverse Ditrypsia. **Systematic Entomology**. [S.l.], v. 40, n. 2. Oct. 2014. DOI: 10.1111/syen.12110.

ROY, M.; MEENA, S. K.; KUSURKAR, T. S.; SINGH, S.K.; SETHY, N. K.; BHARGAVA, K.; SARKAR, S.; DAS, M. Carbondioxide Gating in Silk Cocoon. **Biointerphases**. [S.l.], v. 7, n. 1, p. 45, Dec. 2012. DOI: 10.1007/s13758-012-0045-7.

RUBINOFF, D.; HAINES, W. P. Web-Spinning Caterpillar Stalks Snails. **Science**. [S.l.], v. 309, n. 5734, p. 575, Jul. 2005. DOI: 10.1126/science.1110397.

SEN, K.; BABU, M. K. Studies on Indian Silk. I. Macrocharacterization and Analysis of Amino Acid Composition. **Journal of Applied Polymer Science**. [S.l.], v. 92, p. 1080–1097, Feb. 2004 - a. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.13609>.

SEN, K.; BABU, M. K. Studies on Indian Silk. II. Structure–Property Correlations. **Journal of Applied Polymer Science**. [S.l.], v. 92, n. 2, p. 1098 –1115, Feb. 2004 - b. DOI: 10.1002/app.13610.

SHIMANOVICH, U.; PINOTSI, D.; SHIMANOVICH, K.; YU, N.; BOLISSETY, S.; ADAMCIK, J.; MEZZENGA, R.; CHARMET, J.; VOLLRATH, F.; GAZIT, E.; DOBSON, C. M.; SCHIERLE, G. K.; HOLLAND, C.; KAMINSKI, C. F.; KNOWLES, T. P. J. Biophotonics of Native Silk Fibrils. **Macromolecular Bioscience**, [S.l.], v. 18, n. 4, p. 1700295, jan. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/mabi.201700295>.

SIGIURA, S.; YAMAZAKI, K. The Role of Silk Threads as Lifelines for Caterpillars: Pattern and Significance of Lifeline-Climbing Behaviour. **Ecological Entomology**. [S.l.], v. 31, n. 1, p. 52-57, Mar. 2006. DOI: 10.1111/j.0307-6946.2006.00755.x.

SPECHT, A.; FORMENTINI, A. C.; CORSEUIL, E. Biology of *Automeris illustris* (Walker) (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). **Revista Brasileira de Zoologia**. [S.l.], v. 23, n. 2, p. 537-546, Jun. 2006. DOI: 10.1590/S0101-81752006000200029.

SPECHT, A.; CORSEUIL, E.; ABELLA, H. B. **Lepidópteros de Importância Médica: Principais Espécies no Rio Grande do Sul**. Pelotas: USEB, 2008. p. 220.

STATISTIC KINGDOM 2017 - a. Cluster analysis. Disponível em: <https://www.statskingdom.com/cluster-analysis.html>. Acesso em: Dez. 2021.

STATISTIC KINGDOM 2017 - b. Multiple Linear Regression Calculator. Disponível em: https://www.statskingdom.com/410multi_linear_regression.html. Acesso em: Dez. 2021.

SUTHERLAND, T. D.; YOUNG, J. H.; WEISMAN, S.; HAYASHI, C. Y.; MERRITT, D. J. Insect Silk: One Name, Many Materials. **Annual Review of Entomology**, [S.l.], v. 55, n. 1, p. 171-188, Jan. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085401>.

TESHOME, A. S.; ONYARI, J. M.; RAINA, S. K.; KABARU, J. M.; VOLLRATH, F. Mechanical and Thermal Degradation Properties of Silk from African Wild Silkmoths. **Journal of Applied Polymer Science**. [S.l.], v. 127, n. 1, p. 289-297, Maio 2012. DOI: 10.1002/APP.37873.

TSUKADA, M.; KHAN, Md. M. R.; INOUE, E.; KIMURA, G.; HUN, J. Y.; MISHIMA, M.; HIRABAYASHI, K. Physical Properties and Structure of Aquatic Silk Fiber from *Stenopsyche marmorata*. **International Journal of Biological Macromolecules**. [S.l.], v. 46, n. 1, p. 54-58, Jan. 2010. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.10.003.

UNDERWOOD, D. L. A.; SHAPIRO, A. M. Evidence for Division of Labor in the Social Caterpillar *Eucheira socialis* (Lepidoptera: Pieridae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**. [S.l.], v. 46, n. 4, p. 228-236, Set. 1999. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002650050614>.

VINCENT, J. Basic Elasticity and Viscoelasticity. In: VINCENT, J. (3 ed.). **Structural Biomaterials**. Princeton University Press: New Jersey, 2012. Cap. 1. p. 1-28.

VOLLRATH, F.; PORTER, D. Silks as Ancient Models for Modern Polymers. **Polymer**. [S.l.], v. 50, n. 24, p. 5623-5632, Nov. 2009. DOI: 10.1016/j.polymer.2009.09.068.

WEISMAN, S.; TRUEMAN, H. E.; MUDIE, S. T.; CHURCH, J. S.; SUTHERLAND, T. D.; HARITOS, V. S. An Unlikely Silk: The Composite Material of Green Lacewing Cocoons. **Biomacromolecules**. [S.l.], v. 9, p. 3065-3069, Jul. 2008. DOI: 10.1021/bm8005853 CCC: \$40.75.

YAGI, N. The Cocooning Behavior of a Saturnian Caterpillar (*Dictyoploca japonica*); A Problem in Analysis of Insect Conduct. **Journal of Experimental Zoology**. [S.l.], v. 46, n. 2, p. 245-261, 1926.

YONEMURA, N.; SEHNAL, F. The Design of Silk Fiber Composition in Moths has been Conserved for More Than 150 Million Years. **Journal of Molecular Evolution**. [S.l.], v. 63, n. 1, p. 42-53, Jun. 2006. DOI: 10.1007/s00239-005-0119-y

YOSHIOKA, T.; TSUBOTA, T.; TASHIRO, K.; JOURAKU, A.; KAMEDA, T. A Study of the Extraordinarily Strong and Tough Silk Produced by Bagworms. **Nature Communications**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 327-345, Apr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-09350-3>.

ZAHIRI, R.; KITCHING, I. J.; LAFONTAINE, J. D.; MUTAMEN, M.; Kaila, L.; HOLLOWAY, J. D.; WAHLBERG, N. A New Molecular Phylogeny Offers Hope for a Stable Family Level Classification of the Noctuoidea (Lepidoptera). **Zoologica Scripta**. [S.l.], v. 40, n. 2, p. 158-73. Mar. 2011. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2010.00459.x.

ZHOU, Z.; ZHANG, S.; CAO, Y.; MARELLI, B.; XIA, X.; TAO, T. H. Engineering the Future of Silk Materials Through Advanced Manufacturing. **Advanced Materials**. [S.l.], v. 30, n. 33, p. 1706983, Jun. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/adma.201706983>.

ŽUCOREV, M.; YONEMURA, N.; KLUDKIEWICZ, B.; SEHNAL, F.; KODRIK, D.; VIEIRA, L. C.; KUCEROVA, L.; SIRNAD, H.; KONIK, P.; SCHADOVA, H. Sericin Composition in the Silk of *Antheraea yamamai*. **Biomacromolecules**. [S.l.], v. 17, n. 5, p. 1776-1787, Abr. 2016. DOI: 10.1021/acs.biomac.6b00189.

ANEXO 1

Tabela 5 – Lista de espécies estudadas e o tipo de análise feita por cada publicação.

Famílias (5)	Gêneros (26)	Espécies (55)	Tensão - deformação	IFTR	TG	DSC	Teor de oxalato	DRX	Morfologia (MEV)
Bombycidae	<i>Bombyx</i>	<i>mori</i> Linnaeus, 1758	5, 6, 8, 14, 17, 23, 24, 26	5, 15, 20, 21, 22, 24, 26	17, 23	23	13	5, 23	4, 14, 15, 17, 20, 24, 25,26
		<i>mandarina</i> (Moore, 1875)	14, 25	21, 25	25			25	14, 15
Saturniidae (Saturniinae)	<i>Actias</i>	<i>aliena</i> (Butler, 1879)	23		23	23		23	
		<i>luna</i> (Linnaeus, 1758)	14, 16, 17	21	17			16	14, 15, 16, 17
		<i>selene</i> (Hübner, 1807)	14, 23	21	23	23			14, 15
	<i>Antherea</i>	<i>assama</i> (Westwood, 1847) ⁴	5, 23, 24	5, 20, 22, 24	23	3, 23		3, 5, 23	3, 4, 20, 23, 24
		<i>frithi</i> Moore, 1858	14	20, 21			13		13, 14, 15
		<i>mylitta</i> (Drury, 1773) ^{1 5 7}	5, 6, 7, 14	5, 20, 21, 22				5	4, 13, 14, 15, 20
		<i>oculea</i> (Neumoegen, 1883)	10						10,
		<i>pernyi</i> (Guénerin-Méneville, 1855) ⁵	1, 8, 12, 14, 23, 24	12, 15, 20, 21, 23, 24	23	23		12, 23	12, 13, 14, 15, 20, 23, 24
		<i>polyphemus</i> (Cramer, 1776)	14	15, 21			13		14, 15
<i>roylei</i> Moore, 1858	14	21			13		14, 15		

	<i>yamamai</i> Guérin-Méneville, 1861	14, 23, 26	21, 26	23	23	13	23	14, 15, 23, 26
<i>Antherina</i>	<i>suraka</i> (Boisduval 1833)		21					
<i>Archaeoattacus</i>	<i>edwardsii</i> (White, 1859)		21					
<i>Argema</i>	<i>mimosae</i> (Boisduval, 1847)	14, 17	21	17				14, 15, 17
	<i>mittrei</i> (Guérin-Méneville, 1847)		21					
<i>Attacus</i>	<i>atlas</i> (Linnaeus, 1758)	14	21			13		13, 14, 15
<i>Bunaea</i>	<i>alcione</i> (Stoll, [1780])					13		13
<i>Challosamia</i>	<i>promethea</i> Drury, 1773	14	21			13		14, 15
<i>Coscinocera</i>	<i>hercules</i> (Miskin 1875)	10						10
<i>Copaxa</i>	<i>multifenestrata</i> (Herrich-Schäffer, 1858)	10						10
<i>Cricula</i>	<i>andrei</i> Jordan, 1909	14				13		14, 15
	<i>trifenestrata</i> (Helfer, 1837)	14	21					14, 15
<i>Epiphora</i>	<i>bauhiniae</i> Guérin-Méneville, 1832	17	21	17				17
<i>Eupackardia</i>	<i>callea</i> (Westwood, 1853)	10, 18		18			18	10
<i>Graellsia</i>	<i>isabellae</i> (Graells, 1849)		21					
<i>Hyalophora</i>	<i>cecropia</i> (Linnaeus, 1758)	9	21	9		13	9	9, 13
	<i>euryalus</i> (Boisduval, 1855)	10						10
	<i>gloveri</i> (Strecker, 1872)	10, 14	21			13		10, 14, 15
<i>Loepa</i>	<i>katinka</i> (Westwood, 1848)		20					14
<i>Opodiphthera</i>	<i>eucalypti</i> (Scott, 1864)	8, 14	15, 21					14, 15
<i>Rhodinia</i>	<i>fugax</i> (Butler, 1877)	23		23	23		23	23
<i>Rothschildia</i>	<i>hesperus</i> (Linnaeus, 1758)	10						10

		<i>jacobaea</i> (Walker, 1855)		21					
		<i>lebaeu</i> (Guerin-Meneville, 1868)	10, 19	19	19			19	10, 19
	<i>Samia</i>	<i>canningi</i> (Hutton, 1860)	14,	21			13		13, 14, 15
		<i>cynthia</i> (Drury, 1773)	1, 14	21			13		14, 15
		<i>cynthia pryeri</i> (Butler, 1878)	23		23	23		23	23
		<i>cynthia ricini</i> (Boisduval, 1854)	23, 24	24	23	23		23	23, 24
		<i>ricini</i> (Anderson, 1788) ^{3 8}	5	5, 22				5	4
		<i>Saturnia</i>	<i>cachara</i> (Moore, 1872)	14	21				
	<i>jonasii</i> (Butler, 1877)		23		23	23		23	23
	<i>pavonia</i> (Linnaeus, 1758)		14	21			13		14, 15
	<i>pyretorum</i> (Westwood, 1847)			21					
	<i>pyri</i> (Denis & Schiffermüller, 1775)		14				13		13, 14, 15
	<i>simla</i> Westwood, 1847			21					14, 15
	<i>thibeta</i> Westwood, 1853			21					
Lasiocampidae	<i>Gonometa</i>	<i>postica</i> (Walker, 1855)	13, 14, 17	21			13		13, 14, 15
		<i>rufobrunea</i> (Aurivillius, 1922)		2	2	2			2
Notodontidae	<i>Anaphe</i>	<i>panda</i> (Boisduval, 1847)	17	21	17				17
Psychidae	<i>Eumeta</i>	<i>variegata</i> (Snellen, 1879)	27					27	27
	<i>Theriodopteryx</i>	<i>ephemeraeformis</i> (Haworth, 1803)	11		11			11	11

1 – BRUNET; COLES, 1974;

2 - FREDDI *et al.*, 1993;

3 - FREDDI *et al.*, 1994;

4 - SEN & BABU, 2004 – a;

5 - SEN & BABU, 2004 – b;

- 6 - DAS, 2008;
- 7 - FU *et al.*, 2009;
- 8 – CHENG *et al.*, 2010;
- 9 – REDDY; YANG, 2010 - a]
- 10 - REDDY; YANG, 2010 – b;
- 11 – REDDY; YANG, 2010 – c;
- 12 - FU *et al.*, 2011;
- 13 - GHEYSENS *et al.*, 2011;
- 14 - CHEN *et al.*, 2012 – a;
- 15 - CHEN *et al.*, 2012 – b;
- 16 – REDDY; YANG, 2012;
- 17 - TESHOME *et al.*, 2012;
- 18 - REDDY *et al.*, 2013 – a;
- 19 - REDDY *et al.*, 2013 – b;
- 20 - ZHANG *et al.*, 2013;
- 21 - BOULET-AUDET *et al.*, 2015;
- 22 - FANG *et al.*, 2016;
- 23 - MALAY *et al.*, 2016;
- 24 - GUO *et al.*, 2018;
- 25 - DENG *et al.*, 2019;
- 26 - ZHANG *et al.*, 2018;
- 27 - YOSHIOKA *et al.*, 2019.

ANEXO 2

Tabela – Comportamento de produção de casulos na família Sphingidae.

Subfamília	Gênero	Espécie	Produz casulo	Substrato de construção	Onde deixa o casulo	Referências
Macroglossinae	<i>Acosmeryx</i>	<i>anceus</i> (Stoll, [1781])	frouxo	folha, detritos	solo	Herbison-Evans; Crossley, 2014
		<i>miskini</i> (Murray, 1873)	frágil	folhas, terra	fenda, solo	Herbison-Evans; Crossley, 2014
		<i>naga metanaga</i> Butler, 1879	frágil	-	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Angonyx</i>	<i>testacea</i> (Walker, 1856)	áspero	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Cizara</i>	<i>sculpta</i> (R. Felder, [1874])	áspero	-	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Daphnis</i>	<i>nerii</i> (Linnaeus, 1758)	frouxo	detritos	subterrânea	Forsayeth, 1884; Pittaway; Kitching, 2000
		<i>hypothous crameri</i> Eitschberger & Melichar, 2010	frouxo	detritos	subterrânea	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Deilephila</i>	<i>e. elpenor</i> (Linnaeus, 1758)	forte	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>porcellus</i> (Linnaeus, 1758)	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Elibia</i>	<i>dolichoides</i> (R. Felder, [1874])	colado	folhas	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Eupanacra</i>	<i>b. busiris</i> (Walker, 1856)	áspero	folhas	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>mydon</i> (Walker, 1856)	colado	folhas	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Hemaris</i>	<i>f. fuciformis</i> (Linnaeus, 1758)	frouxo	detritos	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>ottonis</i> (Rothschild & Jordan, 1903)	frouxo	-	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>tityus</i> (Linnaeus, 1758)	grosso	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Hippotion</i>	<i>celerio</i> (Linnaeus, 1758)	frouxo	detritos	solo	Forsayeth, 1884; Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Hyles</i>	<i>centralasiae</i> (Staudinger, 1887)	frouxo	detritos	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>e. euphorbiae</i> (Linnaeus, 1758)	frouxo	folhas, detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>livornica</i> (Esper, 1780)	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>nicaea sheljuzkoi</i> (Dublitzky, 1928)	fraco	folhas, detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Macroglossum</i>	<i>p. prometheus</i> Boisduval, [1875]	colado	folhas	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>pyrrhosticta</i> Butler, 1875	colado	detritos	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Madoryx</i>	<i>bubastus</i> (Cramer, 1777)	frouxo	folhas	-	Nesse trabalho

		<i>o. oiclus</i> (Cramer, [1780])	frouxo	folhas	planta hospedeira	Nesse trabalho
		<i>pseudothyreus</i> (Grote, 1865)	frouxo	folhas	planta hospedeira	Minno & Emmel, 1990
	<i>Neogurelca</i>	<i>himachala</i> (Butler, [1876])	colado	folhas	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Nephele</i>	<i>hespera</i> (Fabricius, 1775)	áspero	-	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Proserpinus</i>	<i>proserpina</i> (Pallas, 1772)	frouxo	detritos	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Sphingonaepiopsis</i>	<i>kuldjaensis</i> (Graeser, 1892)	colado	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>pumilio</i> (Boisduval, [1875])	grosso, colado	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Theretra</i>	<i>alecto</i> (Linnaeus, 1758)	fraco	folhas	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>c. clotho</i> (Drury, 1773)	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>tibetiana</i> Vaglia & Haxaire, 2010	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>japonica</i> (Boisduval, 1869)	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>o. oldenlandiae</i> (Fabricius, 1775)	fraco	detritos	solo	Pittaway; Kitching, 2000
Sphinginae	<i>Acheronta</i>	<i>atropos</i> (Linnaeus, 1758)	não	-	-	MacNulty, 1970
		<i>styx</i> (Westwood, 1847)	não	-	-	Forsayeth, 1884
	<i>Agrius</i>	<i>convolvuli</i> (Linnaeus, 1758)	não	-	-	Forsayeth, 1884
	<i>Cocitius</i>	<i>antaeus</i> (Drury, 1773)	não	-	-	Dyar, 1901
	<i>Manduca</i>	<i>quinquemaculata</i> (Haworth, 1803)	não	-	-	Moth Identification, 2020
		<i>increta</i> (Walker, [1865])	não	-	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Sphinx</i>	<i>caliginus sinicus</i> (Rothschild & Jordan, 1903)	não	-	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>ligustri</i> Linnaeus, 1758	não	-	subterrâneo	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Xanthopan</i>	<i>morgani</i> (Walker, 1856)	não	-	-	MacNulty, 1970
	<i>Xanthopan</i>	<i>morgani</i> (Walker, 1856)	não	-	-	MacNulty, 1970
Smerinthinae	<i>Ambulyx</i>	<i>liturata</i> Butler, 1875	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>sericeipennis</i> Butler, 1875	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Callambulyx</i>	<i>r. rubricosa</i> Walker, 1856	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>t. tatarinovii</i> (Bremer & Grey, 1853)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Clanis</i>	<i>phalaris</i> (Cramer, [1777])	não	-	-	Forsayeth, 1884
		<i>deucalion</i> (Walker, 1856)	não	-	-	Forsayeth, 1884

	<i>Dolbina</i>	<i>inexacta</i> (Walker, 1856)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Kentrochrysalis</i>	<i>streckeri</i> (Staudinger, 1880)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Langia</i>	<i>tropicus</i> Moulds, 1983	não	-	-	Lane & Moulds, 2010
		<i>z. zenzeroides</i> Moore, 1872	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Laothoe</i>	<i>a. amurensis</i> (Staudinger, 1892)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Lophostethus</i>	<i>dumolinii</i> Angas, 1849	não	-	-	MacNulty, 1970
	<i>Marumba</i>	<i>gaschkewitschii</i> (Walker, [1865])	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>maackii maackii</i> (Bremer, 1861)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
	<i>Paonias</i>	<i>excaecata</i> (J. E. Smith, 1797)	não	-	-	Moth Identification, 2020
	<i>Phyllosphingia</i>	<i>d. dissimilis</i> (Bremer, 1861)	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000
		<i>oweni</i> (Carcasson, 1968)	não	-	-	MacNulty, 1970
	<i>Platysphinx</i>	<i>constrigilis</i> (Walker, 1869)	não	-	-	MacNulty, 1970
	<i>Polyptychus</i>	<i>dentatus</i> (Cramer, [1777])	não	-	-	Forsayeth, 1884
	<i>Smerinthus</i>	<i>kindermannii</i> Lederer, 1853	não	-	-	Pittaway; Kitching, 2000

ANEXO 3

Script de Arduíno para o motor de passo

```
#include <Stepper.h>
#include <Bounce2.h>
//motor de passo
const int stepsPerRevolution = 500;

Bounce debouncer = Bounce();
#define STEP 9

Stepper myStepper(stepsPerRevolution, 8, 9);
int k = 0;
int tempo = 16; // Muda Velocidade
// para 1cm por min usar tempo = 76
int direcao = 1; // 1 sobe, 0 desce

void setup()
{
  pinMode(STEP, OUTPUT);
  pinMode(6, OUTPUT);
  pinMode(2, INPUT);
  pinMode(3, INPUT); // Configura pino 8 como entrada e habilita pull up interno;
  debouncer.attach(3); // Informa que o tratamento de debounce será feito no pino 8;
  debouncer.interval(10); // Seta o intervalo de trepidação;
}

void loop() {
  debouncer.update(); // Executa o algoritmo de tratamento;
  int value = debouncer.read(); // Lê o valor tratado do botão;

  if (value == HIGH) {
    direcao = !direcao;
  }

  if (digitalRead(2)) {
    tempo = 5;
  }
  else {
    tempo = tempo;
  }
}
```

```
}
```

```
digitalWrite(6, direcao);  
if (k < 2001) {  
  k = k + 1;  
  //movimentaMotorPasso();  
  digitalWrite(STEP, HIGH);  
  delay(tempo);  
  digitalWrite(STEP, LOW);  
  delay(tempo);  
  digitalWrite(STEP, HIGH);  
  delay(tempo);  
  digitalWrite(STEP, LOW);  
  delay(tempo);  
}  
}
```

```
// config balaça no terminal:  
// python -m serial.tools.miniterm /dev/ttyS0  
// ctrl+T ... B 300 .... Enter
```

ANEXO 4

Dados da Regressão Multilinear

Tabela 1 - Dados de partida das propriedades mecânicas para regressão multilinear.

Espécies	Módulo de Young (GPa)	Tensão na inflexão (MPa)	Extensão na inflexão (%)	Tensão máxima (MPa)	Extensão na ruptura (%)	Tenacidade e (MJ/m ³)
<i>A. illustris</i>	5,36	119	3,53	275	24	40
<i>H. a. capys</i>	4,1	87	3,07	244	17,1	25
<i>H. metapyrrha</i>	4,7	107,8	4,5	285	23,7	40
<i>M. bubastus</i>	5,3	141	3,75	338	27	52
<i>M. o. oiclus</i>	6,5	166	4,31	311	23,6	49
<i>M. e. argentinus</i>	2,9	65	3	159	18,6	20
<i>M. h. achillaena</i>	4,4	90,7	3,4	225	16,4	20
<i>O. geyeri</i>	11,1	218	3,04	746	13,6	54,4
<i>P. luteata</i>	4,8	130	4,9	233	18,8	29,2
<i>R. a. speculifera</i>	6,7	148	3,66	342	17,1	35

Tabela 2 - Dados de partida de ATR-FTIR para regressão multilinear.

Espécies	Ca(COO) ₂	β-folhas (A) _n	B-folhas (AG) _n	Serina
<i>A. illustris</i>	86,81	26,98	9,92	848
<i>H. a. capys</i>	38,75	168	2,95	689
<i>H. metapyrrha</i>	45,6	119	0,03	985
<i>M. bubastus</i>	230	47,33	5,41	942
<i>M. o. oiclus</i>	106	164	3,4	867
<i>M. e. argentinus</i>	33,36	132	0,02	479
<i>M. h. achillaena</i>	40,53	108	0,03	773
<i>O. geyeri</i>	64,95	79,01	156	626
<i>P. luteata</i>	69,81	8,04	0,01	1055
<i>R. a. speculifera</i>	281	489	0,02	432

Tabela 3 - Regressão multilinear com todas as 10 espécies.

Propriedades mecânicas	Variável (influencia na característica = 1, não influencia = 0)				R ²
	Ca(COO) ₂	β-folhas (A) _n	B-folhas (AG) _n	Serina	
Módulo de Young	0	1	1	1	0,933
Tensão na inflexão	1	0	1	0	0,749
Extensão na inflexão	0	1	0	1	0,786
Tensão máxima	1	1	1	1	0,993
Extensão na ruptura	0	0	1	0	0,237
Tenacidade	1	0	1	1	0,756