زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۱۴۸- ۱۴۱

مقاله پژوهشی

کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر عملکرد کرم ابریشم

مسعود علی پناه[1*]، حسن فیضی[1]، عبدالعظیم نصیری[2]، ذبیح‌الله عابدیان[2]

۱- گروه تولیدات گیاهی دانشگاه تربت حیدریه، تربیت حیدریه، ایران

۲- کارشناس مرکز توسعه نوغانداری خراسان رضوی، تربت حیدریه، ایران

*مسئول مکاتبات: m.alipanah@torbath.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2021.687838

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۲

چکیده

نانوذره دی اکسید تیتانیوم به واسطه خواص ویژه الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی که دارد، بیشترین کاربرد را در بین نانوذرات فلزی به خود اختصاص داده دارای خاصیت آنتی‌باکتریال خیلی قوی بوده و بطور وسیعی بعنوان ماده پاک کننده محیطی استفاده می‌شود. با توجه به اینکه پرورش کرم ابریشم در منطقه تربت حیدریه یکی از صنایع اصلی کشاورزی محسوب می‌شود و تعداد زیادی کشاورز از این طریق امرار معاش می‌کنند، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر خصوصیات رشدی و عملکرد کرم ابریشم بصورت آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۰، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در رژم غذایی کرم‌های ابریشم بود. صفات مورد اندازه‌گیری شامل درصد زنده مانی سن چهارم و پنجم، وزن پیله، وزن قشر پیله و درصد قشر پیله بود. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش درصد زنده‌مانی و عملکرد پیله و قشر پیله شد. وزن پیله‌ها ۳/۳۰ و ۳/۸۵ درصد به ترتیب در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد ($p < ۰/۰۵$). وزن قشر ابریشم و نسبت قشر ابریشم در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۱۰/۴۰ و ٦/۲۷ درصد بیشتر بود ($p < ۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد در حالی که استفاده از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش عملکرد پیله و غشا پیله می‌شود ولی غلظت‌های بیشتر تاثیری بر این صفات ندارد.

کلمات کلیدی: نانوذرات، کرم ابریشم، پیله، تربت حیدریه، نوغانداری.

مقدمه

کرم ابریشم متعلق به راسته‌ی لیپوپترا و تیره بوبیسیده هستند. بومبسیده متامورفیز کامل دارند که شامل چهار مرحله تخم، لاروی، شفیره و بالغ است (۱۰). کرم ابریشم *Bombyx mori* منحصراً از برگ درختان توت برای تغذیه استفاده می‌کند (۱). این حشره لارو از مواد غذایی جذب شده برای فراهم آوردن انرژی برای رشد، توسعه و متامورفیز استفاده می‌کند که در طول آن کرم‌های ابریشم مقدار زیادی پروتئین ابریشم را سنتز و ترشح می‌کنند (۹). نانوذرات اندازه بسیار کوچکی در حد ۱-۱۰۰ نانومتر دارند و دارای بعضی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی هستند که در اندازه بزرگتر آنها دیده نمی‌شود. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

جزو جدیدترین نانوذرات و نانومواد تجاری بوده و دارای خاصیت آنتی‌باکتریال خیلی قوی می‌باشد. نهمین عنصر فراوان و دومین فراوان‌ترین فلز گذار در پوسته زمین، عنصر تیتانیوم است. نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs) به‌واسطه خواص ویژه الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی که دارد، بیشترین کاربرد را در بین نانوذرات فلزی به خود اختصاص داده است. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بطور وسیعی بعنوان ماده پاک‌کننده محیطی استفاده می‌شود (۵، ۱۴). برخی تحقیقات در زمینه کاربرد نانوذرات TiO_2 برای افزایش مقاومت کرم ابریشم به بیماری‌ها صورت گرفته است. به عنوان مثال، در یک تحقیق لی و همکاران (۲) نشان داد که افزودن نانوذرات TiO_2 در جیره می‌تواند باعث افزایش مقاومت لارو کرم ابریشم به عفونت BmNPV شود همچنین میزان بقا این حشرات را نیز افزایش می‌دهد. بعلاوه نانوذرات TiO_2 بطور معنی‌داری باعث کاهش تجمع ROS NV در لارو کرم ابریشم تحت عفونت BmNPV می‌شود. همچنین روی بیان بعضی ژن‌ها نیز موثر است لذا این محققان استفاده از نانوذرات TiO_2 را در نوغانداری مفید ارزیابی کردند (۲).

در تحقیق دیگری نشان داده شده که نانوذرات TiO_2 می‌توانند باعث افزایش مقاومت لارو کرم ابریشم به سم فوکسیم (یک نوع سم آفت کش) شود و بعلاوه حتی در صورتی که حشره تحت تاثیر این آفت کش قرار گرفت بدلیل اثرات نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با افزایش متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین کرم ابریشم مقاومت نشان دهد ضمن اینکه این محققان پیشنهاد کردند که ممکن است نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برای افزایش تولید ابریشم مورد استفاده قرار گیرد (۲).

در سایر تحقیقات مشخص شده است که تغذیه کرم ابریشم با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند از یک طرف کارایی خوراک را افزایش دهد و سنتز پروتئین ابریشم را بهبود بخشد (۷) و از طرف دیگر روی کیفت ابریشم تولیدی تاثیر داشته باشد (۷). همچنین پیشنهاد شده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم که روی رشد و توسعه کرم ابریشم اثر دارد (۳، ٤) و توانایی آنتی ویروسی کرم ابریشم را افزایش می‌دهد (۸).

با توجه به اینکه پرورش کرم ابریشم در منطقه تربت حیدریه یکی از صنایع اصلی کشاورزی محسوب می‌شود و تعداد زیادی کشاورز از این طریق امرار معاش می‌کنند برای احیا و توسعه این صنعت نیاز به افزایش عملکرد و افزایش مقاومت کرم ابریشم در مقابل عوامل بیماریزا می‌باشد. از طرف دیگر استفاده از نانوذرات در کشاورزی بطور روزافزون در حال افزایش است و نتایج کاربرد آنها در کشاورزی نشان داده است که می تواند باعث افزایش عملکرد، افزایش مقاومت به خشکی و افزایش مقاومت با آفات گردد لذا با توجه به تحقیقات صورت گرفته به نظر می‌رسد استفاده از نانوذارت بخصوص نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند در جهت افزایش تولید ابریشم و نیز افزایش مقاومت این حشرات در مقابل آفتکش‌های بکار برده شده در توتستان‌ها مفید باشد. لذا این طرح به منظور بررسی اثرات افزودن نانوذارت دی اکسید تیتانیوم روی خصوصیات رشد و تولید کرم ابریشم و مشخص کردن بهترین سطح افزودن این نانوذرات در جیره کرم ابریشم انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سالن پرورش کرم ابریشم اداره توسعه نوغانداری تربت حیدریه انجام شد و برای انجام تحقیق از هیبرید چینی که در منطقه بطور معمول پرورش داده می شود استفاده گردید. شرایط پرورش شامل دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با ۱۲ ساعت نور و

۱۲ ساعت تاریکی بود وتغذیه با برگ درخت توت کن موچی سه بار در روز انجام شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر تهیه شد و به برگ‌های جمع آوری شده قبل از استفاده توسط کرم‌ها برای هر تیمار با روش اسپری نانوذرات اضافه شد و بعد از اینکه برگ‌ها در معرض هوا رطوبت خود را از دست دادند مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و چهار تیمار شاهد (غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات)، و غلظت‌های ۵، ۱۰ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم انجام شد. برای هر تکرار تعداد ۵۰ کرم در نظر گرفته شد. نانوذرات AEROXIDE® TiO_2 P25 بودند که تولید شرکت Degussa GmbH بود. متوسط اندازه نانذرات ۲۱ نانومتر، سطح ویژه آنها ۵۰ متر مربع بر گرم و با خلوص ۹۹/۵ درصد بود.

در طول آزمایش صفات مختلف شامل درصد زمانی و مصرف برگ در سن چهارم و پنجم و درصد پیله روی، وزن پیله، وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله برای هر گروه محاسبه شد. داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم افزارSAS مورد تجزیه قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن صورت گرفت.

نتایج

میانگین درصد زنده‌مانی و پیله‌روی برای سنین چهارم و پنجم برای سطوح مختلف نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم در جدول ۱ آمده است. همچنین میانگین شاخص‌های تغذیه‌ای سنین ٤ و ۵ برای تیمارهای مختلف نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم به‌ترتیب در جداول ۲ و ۳ ارائه گردیده است. میانگین صفات عملکرد پیله و رشد برای تیمارهای مختلف به ترتیب در جداول ٤ و ۵ آمده است. با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که درصد زنده مانی در سن ۵ بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی در سن ٤ بیشترین درصد زنده مانی مربوط به تیمار سوم یعنی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بود و تیمارهای شاهد و ۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم کمترین درصد زنده‌مانی را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$).

بررسی درصد پیله‌روی نشان داد که بیشترین مقدار پیله‌روی مربوط به تیمار ۵ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم است ($p < ۰/۰۵$). این امر را می‌توان مرتبط با افزایش مقاومت کرم ابریشم با تیمار نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم دانست. وزن لارو کرم ابریشم قبل از پیله رفتن در تیمارهای مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان نداد هر چند میانگین وزن لاروها برای تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر از نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم (٤/۲۳ گرم) بالاترین مقدار بود (جدول ۵).

همانگونه که در جدول ٤ مشاهده می شود، نرخ رشد در سنین چهارم و پنجم برای تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بالاترین مقدار بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد بود ($p < ۰/۰۵$). این نتایج نشان می‌دهد مقادیر کمتر دی‌اکسیدتیتانیوم بهترین اثر را روی نرخ رشد دارد ولی با افزایش مقدار نانوذرات بدلیل اثرات سمی این ماده در بخش‌های مختلف بدن نرخ رشد کاهش می‌یابد.

جدول۱- اثر سطوح مختلف نانوذرات دی اکسیدتیتانیوم بر درصد زنده مانی در سن٤ و ٥ و درصد پیله‌روی کرم ابریشم

غلظت TiO_2 (mg/l)	رفتن به پیله (درصد)	زنده مانی سن پنجم (درصد)	زنده مانی سن چهارم (درصد)
شاهد	۹۷/۱۹b	۹۳/۸۷	۹۱/۳٤c
٥	۹۹/٥۸a	۹٤/۳٦	۹۲/٦٦c
۱۰	۹٦/۷۸b	۹٤/٥٤	۹٤/٦۸b
٥۰	۹٦/۱۹b	۹٤/۹۳	۹۸/۰۰a
۱۰۰	۹۷/٥۰b	۹٤/۱۷	۹٤/۰۰b

میانگین‌های با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($p < ۰/۰٥$).

جدول۲- اثر استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر میانگین برخی شاخص‌های تغذیه‌ای سن چهارم لاروی

غلظت TiO_2 (mg/l)	قابلیت هضم (درصد)	مصرف (درصد)	هضم (گرم)	مدفوع (گرم)	مصرف (گرم)
شاهد	٤۹	٤۸	۰/۳٥	۰/۳٦	۰/۷۱
٥	٥۰	٤٦	۰/۳٥	۰/۳٥	۰/٦۹
۱۰	٥۱	٤۹	۰/۳۸	۰/۳٦	۰/۷٤
٥۰	٤۹	٤۸	۰/۳٥	۰/۳۷	۰/۷۲
۱۰۰	٥۳	٥۰	۰/۳۹	۰/۳٥	۰/۷٤

جدول ۳- اثر استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر میانگین برخی شاخص‌های تغذیه‌ای سن پنجم لاروی

غلظت TiO_2 (mg/l)	قابلیت هضم (درصد)	مصرف	هضم (گرم)	مدفوع (گرم)	مصرف (گرم)
شاهد	٤٦/۲٦	٦۸/۱٤	۳/۲۹	۲/۸٤	٦/۳۱
٥	٤٤/٥٦	٦٤/٤۷	۳/۲۲	۲/٥۸	٥/۸۰
۱۰	٤۲/٤۲	٦٦/۷٤	۳/٤٦	۲/٥٥	٦/۰۱
٥۰	۳۸/۳۷	٦۲/۱۲	۳/٤٥	۲/۱٤	٥/٥۹
۱۰۰	٤۳/٥۳	٦۲/۷٥	۳/۰٥	۲/٦۰	٥/٦٥

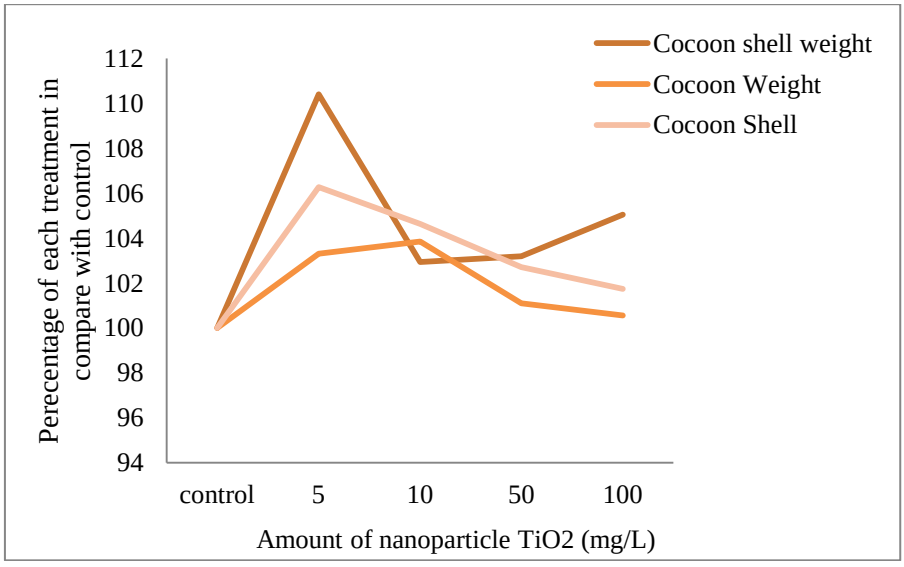
جدول ٤- اثر استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر صفات رشد

غلظت TiO_2 (mg/l)	نرخ رشد در سن پنجم	نرخ رشد در سن چهارم	وزن کرم قبل از پیله رفتن (گرم)
شاهد	٥٨٥/١٣ab	٤٨٥/١٣ab	٤/١٤
٥	٦١٤/٧٨a	٥١٤/٧٨a	٤/٢٣
١٠	٦٠٠/٥٥ab	٥٠٠/٥٠ab	٤/١٦
٥٠	٥٩٣/٥١ab	٤٩٣/١٣ab	٤/٠٩
١٠٠	٥٨٩/٢٥ab	٤٩٥/٥٨ab	٤/١٣

میانگین‌های با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($p < ٠/٠٥$).

جدول٥- اثر استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر صفات عملکرد پیله

غلظت TiO_2 (mg/l)	نسبت قشر پیله (درصد)	وزن قشر پیله (درصد)	وزن پیله (گرم)
شاهد	٢٠/٧٢c	٠/٣٧٦b	١/٨٢b
٥	٢٢/٠٢a	٠/٤١٤a	١/٨٨a
١٠	٢١/٦٨ab	٠/٣٨٧ab	١/٨٩a
٥٠	٢١/٢٨ab	٠/٣٨٨ab	١/٨٤ab
١٠٠	٢١/٠٨ab	٠/٣٩٥ab	١/٨٣b



شکل ١- مقایسه اثر کاربرد سطوح مختلف نانوذراتTiO_2 بر صفات وزن پیله، وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله بشکل درصد تغییرات در این صفات در مقایسه با شاهد

بحث

هر چند که تیمار شاهد کمترین درصد زنده مانی در هر دو سن را نشان داد. نتایج یک تحقیق روی کرم-های ابریشمی که تحت تاثیر بیماری پوکسیم قرار گرفته بودند، نشان داد که افزودن نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم باعث افزایش زنده مانی در کرم‌های ابریشم می‌شود به نحوی که در این لاروها علائم بیماری مشاهده نمی‌گردد (۲). سایر تحقیقات نیز نشان داده است که استفاده از نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم علاوه بر کاهش تلفات، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کرم‌ابریشم و مقاومت این حشره به بیماری‌های مختلف می‌شود (۸، ۱۳). بنابراین افزایش زنده‌مانی را می‌توان به افزایش مقاومت این حشره در برابر عوامل نامساعد محیطی مرتبط دانست. بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای در سن چهارم و پنجم لاروی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی برای میزان مصرف، میزان مدفوع، میزان هضم، قابلیت مصرف و قابلیت هضم وجود ندارد. نتایج تحقیق نای و همکاران نشان داد اگرچه مصرف برگ با تیمار نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم در سن پنجم کاهش داشت، ولی مقدار هضم و درصد هضم بالاتر مربوط به کرم‌هایی بود که از تیمار ۵ دی‌اکسیدتیتانیوم تغذیه شده بودند (۷).

در سایر تحقیقات مشخص شده است که نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم در مقادیر کم می‌تواند روی ارگان-های مختلف اثرگذار باشد ولی مقادیر بیشتر این نانوذرات اثر سمی دارد (۱۳).

نتایج مربوط به سه صفت اصلی نوغانداری یعنی وزن پیله، وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله نشان می‌دهد که استفاده از نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم روی این صفات تاثیر معنی‌داری ایجاد می‌کند به نحوی که بیشترین وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله مربوط به تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بود (جدول ۵). برای صفت وزن پیله نیز استفاده از مقادیر ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات دی-اکسیدتیتانیوم باعث بیشترین افزایش عملکرد شده است ($p < ۰/۰۵$). در حالی‌که تیمار شاهد در هر سه صفت عملکرد پایینی را نشان داد. در سایر تحقیقات نیز استفاده از نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم به طور مشابهی باعث افزایش عملکرد در این صفات گردیده است (۷، ۱۳). در شکل ۱ مشاهده می‌شود که افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت پایین باعث افزایش در سه صفت مورد بررسی شد. تیمار با ۵ میلی‌گرم نانو ذرات باعث افزایش عملکرد ۱۰/٤، ۳/۰۳ و ٦/۲۷ درصد به ترتیب برای صفات وزن قشر پیله ابریشم، وزن پیله ابریشم و نسبت قشر ابریشم گردید، با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش در عملکرد برای این سه صفت مشاهده شد. نتایج مشابهی برای استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم روی عملکرد کرم ابریشم گزارش شده است. به عنوان مثال، نتایج یک تحقیق نشان داد که افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش وزن پیله‌ها به میزان ٤/۷٤ درصد شده است (٦). همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله در کرم ابریشم هم می‌شود (٦). در تحقیق دیگری گزارش - شد که استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش ۵/٤۷ درصد وزن پیله، ۹/۸ درصد وزن قشر پیله و ۳/٥٤ درصد نسبت قشر پیله می‌شود (۱۲).

اگرچه هنوز مکانیزم دقیق اثر نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم بر افزایش وزن و افزایش ترشح ابریشم مشخص نشده است اما تحقیقات نشان داده است که کاربرد این نانوذرات باعث تغییر در بیان برخی ژن‌ها می گردد بعنوان مثال افزایش سطح mRNA ژن‌های TF و P53 در حشراتی که با دی‌اکسیدتیتانیوم تیمار

شده‌اند مشاهده گردید. به همین دلیل به‌نظر می‌رسد که احتمالا این تغییرات بیان ژنی مسبب افزایش میزان زنده‌مانی و رشد در کرم ابریشم می‌باشد (۲).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان‌داد که استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در جیره غذایی کرم ابریشم باعث افزایش درصد زنده مانی در سن چهارم و نیز درصد پیله‌روی می‌شود. همچنین، این نانوذرات روی صفات تولیدی وزن پیله، وزن قشر پیله و نسبت قشر پیله اثر مثبت دارد. با توجه به نتایج این آزمایش می‌توان بیان داشت که استفاده از سطوح پایین نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بهترین اثر را روی افزایش صفات فوق الذکر دارد. لذا استفاده از سطوح پایین نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۵ میلی‌گرم در لیتر) برای بهبود عملکرد پرورش کرم ابریشم قابل توصیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از نتایج طرح تحقیقاتی اجراشده به شماره قرارداد ۱۰۹۰ از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تربت حیدریه می‌باشد که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Chen B., Du K., Sun C., Vimalanathan A., Liang X. Li Y., Wang B., Lu X., Li L., Shao Y. 2018. Gut bacterial and fungal communities of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*) and wild mulberry-feeding relatives. *ISM J*, 12(9): 2252-2262.

2. Li B., Xie Y., Cheng J., Hu R., Gui S., Sang Q., Zhao X., Sheng L., Shen W., Hong F. 2012. BmNPV Resistance of Silkworm Larvae Resulting from the Ingestion of TiO2 Nanoparticles. *Biological Trace Element Research*, 150: 221–228.

3. Li F., Gu Z., Wang B., Xie Y., Ma L., Xu K., Ni M., Zhang H., Shen W.D., Li B. 2014. Effects of the biosynthesis and signaling pathway of ecdysterone on silkworm (Bombyx more) following exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Chemical Ecology*, 40: 913-922.

4. Li M., Li F., Lu Z., Fang Y., Qu J., Mao T. 2020. Effects of TiO2 nanoparticles on intestinal microbial composition of silkworm, *Bombyx mori*. *Science of the Total Environment*, 704 P.

5. Li R., Jia Y., Bu N., Wu J., Zhen Q. 2015. Photocatalytic degradation of methyl blue using Fe2O3/TiO2 composite ceramics. *Journal of Alloys Compound*, 643: 88-93.

6. Li Y.Y., Ni M., Li F.C., Zhang H., Xu K.Z., Tian J.H., Hu J.S., Wang B.B. 2016. Effects of TiO2 NPs on silkworm growth and feed efficiency. *Biological Trace Element Research*, 169: 382-386.

7. Ni M., Li F., Tian J., Hu J., Zhang H., Xu K. Z., Wang B.B., Li Y.Y., Shen W.D., Li B. 2015. Effects of Titanium dioxide nanoparticles on the synthesis of fibroin in silkworm (*Bombyx mori*). *Biological Trace Element Research*, 166: 225-235.

8. Su J., Li B., Cheng S., Zhu Z., Sang X., Gui S.X., Xie Y., Sun Q.Q., Cheng Z., Cheng J. 2014. Phoxim-induced damages of *Bombyx mori* larval midgut and titanium dioxide nanoparticles protective role under phoxim-induced toxicity. *Environmental toxicology*, 29: 1355-1366.

9. Tanaka K., Uda Y., Ono Y., Nakagawa T., Suwa M., Yamaoka R., Touhara K.m. 2009. Highly selective tuning of a silkworm olfactory receptor to a key mulberry leaf volatile. *Current Biology*, 19(11): 881-890.

10. Tian J.H., Hu J.S., Li F.C., Ni M., Li Y.Y., Wang B.B., Xu K.Z., Shen W.D., Li B. 2016. Effects of TiO2 nanoparticles on nutrition metabolism in silkworm fat body. *Biology Open*, 5(6): 764-769.

11. Wu G., Song P., Zhang D., Liu Z., Li L., Huang H., Zhao H., Wang N., Zhu Y. 2017. Robust composite silk fibers pulled

out of silkworms directly fed with nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 104: 533-538.

12. Yang-Chun W.U. 2008. Breeding of a new silkworm variety Yesanyuan with healthiness and hyper silk. *Agricultural Science and Technology,* 9(4), 132-136.

13. Zhang H., Ni M., Li F., Xu K., Wang B., Hong F., Shen W., Li B. 2104. Effects of feeding silkworm with nanoparticulate anatase TiO2 (TiO2 NPs) on its feed efficiency. *Biological Trace Element Research,* 159:224-232.

14. Zhu K., Neal N.R., Miedaner A., Frank A.J. 2007. Enhanced charge-collection efficiencies and light scattering in dye-sensitized solar cells using oriented TiO2 nanotubes arrays. *Nano Letters*, 7(1): 69-74.