

Caracterização de Baculovírus Patogênico ao Mandarová-da-mandioca (ErelGV) Procedente de Cruzeiro do Sul, Acre

Foto: Murilo Fanzolin



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 322

Caracterização de Baculovírus Patogênico ao Mandarová-da- mandioca (ErelGV) Procedente de Cruzeiro do Sul, Acre

William Sihler
Marcio Martinello Sanches
Rosana Falcão
Murilo Fanzolin
Joelma Lima Vidal Estrela
Marlinda Lobo de Souza

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica – PqEB – Av. W5 Norte
Caixa Postal 02372 – Brasília, DF – Brasil – CEP: 70770-917
Fone: (61) 3448-4700 / Fax: (61) 3340-3624
Home page: <http://www.cenargen.embrapa.br/>
E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: Maria Isabela Lourenço Barbirato
Secretário-Executivo: Thales Lima Rocha
Membros: Daniela Aguiar de Souza Kols
 Lígia Sardinha Fortes
 Lucas Machado de Souza
 Márcio Martinelli Sanches
 Rosameres Rocha Galvão
Suplentes: Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes
 João Batista Tavares da Silva

Revisão de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica: Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Editoração eletrônica e tratamento das imagens: José Cesamildo Cruz Magalhães

1ª edição (*online*)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Caracterização de Baculovírus patogênico ao mandaró-da-mandioca (ErelGV) procedente de Cruzeiro do Sul, Acre / William Sihler... [et al.] – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2016.

21 p. : il. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 322).

1. Baculovírus. 2. Mandioca. I. Sihler, William. II. Sanches, Marcio Martinello. III. Falcão, Rosana. IV. Fanzolin, Murilo. V. Estrela, Joelma Lima Vidal. VI. Souza, Marlinda Lobo de. VII. Título. VIII. Série.

630 – CDD 21

© Embrapa 2016

Sumário

Resumo.....	05
Abstract.....	07
Introdução.....	09
Material e Métodos.....	11
Resultados e Discussão.....	14
Conclusões.....	17
Referências Bibliográficas.....	18

Caracterização de Baculovírus Patogênico ao Mandarová-da-mandioca (ErelGV) Procedente de Cruzeiro do Sul, Acre

William Sihler¹

Marcio Martinello Sanches²

Rosana Falcão³

Murilo Fanzolin⁴

Joelma Lima Vidal Estrela⁵

Marlinda Lobo de Souza⁶

Resumo

Baculovírus são vírus em forma de bastão, envelopados, com DNA dupla fita circular, sendo que a maioria das espécies infecta insetos da ordem Lepidóptera. Devido ao seu potencial como agentes de controle de pragas na agricultura e em florestas, eles têm sido empregados com sucesso como bioinseticidas. O mandarová-da-mandioca (*Erinnyis ello*) é uma importante praga da mandioca e da seringueira com alta capacidade de migração. Neste trabalho, é apresentada a caracterização de um Baculovírus com ocorrência em populações de *Erinnyis ello* em área privada (agricultura familiar) no município de Cruzeiro do Sul, Acre (Latitude -7,55086; Longitude -72,72570). Inicialmente partículas virais foram purificadas de larvas com sintomas de infecção por meio de ultracentrifugação em gradiente de sacarose. Após tratamento para microscopia eletrônica seguido de contraste com acetato de uranila 2%, as partículas foram fotografadas utilizando-

se microscópio eletrônico JEOL 1011. O vírus de forma ovalada que apresenta apenas um vírion por envelope e com tamanho inferior a 0,5 μm , foi identificado como sendo do gênero *Betabaculovirus* (extinto gênero *Granulovirus*). Em seguida, o DNA viral foi extraído por meio de ciclos de fenol e clorofórmio, digerido com diferentes enzimas de restrição e submetido a eletroforese em gel de agarose. A análise dos perfis de restrição obtidos com as enzimas *Bam* HI e *Hind* III revelou um total de sete e três fragmentos de DNA, respectivamente. Em decorrência da clivagem com *Pst* I, foram identificados oito fragmentos molares e três submolares. Por fim, após digestão com *Eco* RI, foram observados vinte e um fragmentos molares, estando também presentes algumas bandas submolares. A comparação do perfil de restrição do DNA do isolado ErelGV coletado no Acre ao descrito para os isolados ErelGV provenientes de Santa Catarina (Itajai/Jaguaruna) revelou alta similaridade entre eles.

Palavras-chave: *Baculovirus*, caracterização, *Erinnyis ello*, mandarová-da-mandioca, controle biológico.

¹ Biólogo, mestre em Biologia Molecular, analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, mestra em Ciências Genômicas e Biotecnologia, analista da Embrapa Agroenergia.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Acre.

⁵ Engenheira-agrônoma, mestra em Entomologia, coordenadora da Embrapa Acre.

⁶ Bióloga, doutora em Virologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Characterization of a Baculovirus Pathogenic to Cassava Hornworm (ErelGV) from Cruzeiro do Sul, Acre

Abstract

Baculoviruses are rod-shaped enveloped viruses with circular double-stranded DNA, with the majority of species infecting insects of the order Lepidoptera. Due to its potential as pest control agents in agriculture and forests, they have been successfully used as bioinsecticides. The hornworm (*Erinnyis ello*) is an important pest of cassava and rubber tree with high capacity of migration. In this work it is presented the characterization of a baculovirus with occurrence in *Erinnyis ello* populations in area of small farms in Cruzeiro do Sul, State of Acre, Brazil (Latitude -7,55086; Longitude -72,72570). The viral particles were purified from larvae with symptoms of infection through ultracentrifugation in sucrose gradient. After treatment and negative staining with uranyl acetate 2%, the particles were visualized using a JEOL 1011 transmission electron microscope. The virus with ovoid cylindrical occlusion body, which presented only one virion per envelope and size less than 0,5 μm , was identified as member of genus Betabaculovirus (formerly Granulovirus). The viral DNA was extracted through phenol/chloroform cycles, digested with different restriction enzymes and submitted to agarose gel electrophoresis. The analysis of restriction patterns obtained with the enzymes Bam HI and Hind III revealed a total of seven and three DNA fragments, respectively. As a result of the cleavage with Pst I, eight molar

fragments and three submolar fragments were identified. Finally, after digestion with Eco RI twenty one fragments were observed, with some submolar bands being also present. The comparison of the DNA restriction pattern from ErelGV isolated in Acre with the pattern described for ErelGV isolated from Itajai/Jaguaruna, SC, showed a high similarity between them.

Keywords: Baculovirus, characterization, *Erinnyis ello*, hornworm, biological control.

Introdução

O mandarová-da-mandioca (*Erinnyis ello*) Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Sphingidae) é uma praga importante de várias plantas da família Euphorbiaceae e está entre as principais pragas da seringueira e da mandioca, podendo consumir grande quantidade de folhas em poucos dias. Sua ocorrência é cíclica e pode ocasionar danos severos (OLIVEIRA; CRUZ, 2010). O ciclo biológico do *E. ello* pode variar de 32 a 49 dias, conforme as condições ambientais, sendo que o grande potencial de desfolhamento se concentra no quarto e quinto instares do estágio larval (AGUIAR et al., 2010). No Brasil, essa praga ocorre principalmente durante os períodos de setembro a fevereiro, com ataques diferenciados conforme as regiões e normalmente associados às altas temperaturas e ao início da estação chuvosa, podendo não ocorrer em determinados anos agrícolas (FAZOLIN et al., 2007a).

Os danos causados pela praga atingem diretamente a produção da mandioca. Ela pode ocorrer durante todo o ano, variando a intensidade do ataque. A fêmea pode depositar até 1800 ovos durante o seu ciclo de vida, e durante as fases de desenvolvimento a lagarta consome, em média, 1.107 cm² de área foliar, o equivalente a 12 folhas bem desenvolvidas, sendo que 75% dessa área é consumida no 5º instar (SCHMITT, 2002). Conforme descrito por Bellotti e colaboradores (1999), as infestações causam a redução da produção de raízes na ordem de 26 a 45% com um só ataque, e de 47 a 74% com dois ataques, podendo variar em função da variedade, da idade das plantas, da fertilidade do solo e das condições ambientais.

Em plantações de seringueira, ocorrência severa da praga foi observada em seringais do Vale da Ribeira, no Estado de São Paulo, em 1983, causando desfolhamento de até 70% das plantas. No início do ataque, as lagartas devoram as folhas e os ramos novos. Em alta população, destroem as folhas maduras e os ramos mais finos (OLIVEIRA; CRUZ, 2010).

A área plantada com a cultura da mandioca no Acre atingiu 43.844 hectares em 2015, auferindo uma renda de R\$ 331.840.000,00 (IBGE, 2016). A região no Território da Cidadania do Vale do Juruá é conhecida pela tradição na produção de farinha de mandioca, sendo responsável por aproximadamente 50% da produção total de mandioca no estado. Estima-se que milhares de pequenos produtores dediquem-se a essa atividade econômica na região, produzindo a farinha de mandioca há décadas em unidades de produção familiar conhecidas como casas de farinha. Vários entraves foram apontados como ameaça ao fortalecimento desse arranjo produtivo local, destacando-se, dentre eles, a grande incidência de *Erinnyis ello*, mandarová-da-mandioca (FAZOLIN et al., 2007a).

No Acre, a lagarta do mandarová vem ocorrendo em mandioca desde meados de 1980 na região de Cruzeiro do Sul. Em 1993 e 1998, ocorreram novos surtos com perdas estimadas em 50-60% na produtividade. Surtos menos severos ocorreram também nos anos de 2002 e 2007 (FAZOLIN et al., 2007a). Em 2014 ocorreu o primeiro surto de mandarová em seringueiras no estado do Acre, nas regiões de Epitaciolândia e Capixaba. Observou-se elevado nível populacional das lagartas e grande parte das árvores totalmente desfolhadas (Embrapa Acre, 2014).

Os métodos utilizados no controle do mandarová podem ser cultural, químico, físico ou biológico (AGUIAR et al., 2010). Em meados de 1980, um vírus (*Baculovirus erinnyis*) patogênico ao mandarová foi utilizado como biopesticida em lavouras de mandioca, em programa estabelecido pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI (SCHMITT, 1985). O vírus foi classificado como *Erinnyis ello Granulovirus* (ErelGV), atual gênero Betabaculovírus da família Baculoviridae (SCHMITT, 1985). Os granulovírus produzem pequenas oclusões de forma oval, chamadas grânulos, com cerca de 0,3 a 0,5 μm de comprimento. Os corpos de oclusão possuem em geral apenas um vírion, raramente dois, sendo que os vírions apresentam apenas um nucleocapsídeo por envelope (FEDERICI, 1997).

O *Erinnyis ello granulovirus* (ErelGV) tem demonstrado ser uma alternativa viável, segura e econômica para o controle do mandarová (SCHMITT, 2002). A alta virulência deste vírus foi também verificada no ano de 1985 na região do Vale do Juruá (Acre) em condições de campo, causando 90% de mortalidade, comprovada em condições de laboratório, levando também a 90% de mortalidade após nove dias de infecção. A partir dessa constatação, foram realizadas ações de capacitação de pequenos produtores a fim de possibilitar o reconhecimento das lagartas infectadas, coleta e produção do extrato para utilização imediata ou armazenamento sob congelamento (FAZOLIN et al., 2007b).

O ciclo de infecção do Baculovírus no inseto é amplamente conhecido. A infecção da lagarta pelo vírus inicia-se com a ingestão das partículas virais juntamente com as folhas da planta hospedeira (mandioca ou seringueira). Aproximadamente quatro dias após a ingestão do vírus, surgem os primeiros sintomas da doença, que são descoloração da lagarta, perda dos movimentos e da capacidade de se alimentar. No estágio final da infecção, por volta de nove dias, as lagartas mortas apresentam comportamento de geotropismo negativo, ou seja, são encontradas dependuradas nos pecíolos das folhas. Após a morte do inseto, os grânulos são liberados no ambiente devido à lise da cutícula larval, causando a infecção de outros insetos (SCHMITT, 1985).

Neste trabalho, é apresentada a caracterização de um isolado de Baculovírus com ocorrência em populações de *Erinnyis ello* no município de Cruzeiro do Sul, no Acre.

Material e Métodos

Coleta das lagartas

As larvas de mandarová-da-mandioca (*Erinnyis ello*) que apresentavam o sintoma característico da infecção por Baculovírus (Figura 1) foram

coletadas em área privada (agricultura familiar) no município de Cruzeiro do Sul, Acre (Latitude -7,55086; Longitude -72,72570) no ano de 1999. Foram utilizados recipientes plásticos com capacidade de 200 mL, dotados de tampa rosqueável. O material foi inicialmente levado para uma sala de extração, onde as lagartas foram colocadas em grupos de dois a cinco indivíduos, em cadinho com capacidade de 55 mL, adicionando-se aproximadamente 5,0 mL de água destilada. Em seguida, procedeu-se à maceração com pistilo até que fosse obtida uma massa homogênea. O líquido assim obtido foi coado em gaze, obtendo-se um extrato viscoso pronto para ser utilizado ou armazenado sob congelamento. Parte desse material foi encaminhada ao CENARGEN para identificação do vírus.

Purificação de partículas virais

Grânulos foram purificados de acordo com Maruniak (1986). Lagartas infectadas foram trituradas em tampão de homogeneização (ácido ascórbico 1%; SDS 2%; Tris 0,01 M pH 7,8; EDTA 0,001 M pH 8,0). Após filtragem em camadas de gaze com lã de vidro e centrifugação a 10.000 rpm por 15 minutos, a 4°C (rotor Sorvall SS 34), foram feitas lavagens do macerado por centrifugação em tampão TE (Tris-HCl 10 mM pH 8,0 e EDTA 1 mM pH 8,0). Em seguida, a amostra foi aplicada em gradiente de sacarose de densidade 1,17 a 1,26 g/mL e submetida a ultracentrifugação a 24.000 rpm, por 40 minutos a 4°C (rotor Sorvall AH 627). A banda de grânulos formada no terço inferior do tubo foi coletada e diluída de tampão TE. Após centrifugação a 12.000 rpm, por 15 minutos, a 4°C (rotor Sorvall SS 34), o *pellet* contendo os grânulos foi suspenso em água e armazenado a -20°C.

Extração de DNA viral

O processo de purificação do DNA foi feito de acordo com Sambrook et al. (1989). Inicialmente um total de 250 µL de solução alcalina 3X, pH 10,9 (0,3 M de Na₂CO₃, 0,51 M de NaCl e 0,03 M de EDTA em 50 mL de água destilada) foi adicionada a 500 µL da suspensão

de grânulos purificados, sendo as amostras mantidas a 37°C para dissolução da granulina. Após 30 minutos, foram adicionados 25 µL de SDS 20% e 12,5 µL da enzima Proteinase K (20 mg/mL), seguido de incubação a 37°C durante a noite. Após a centrifugação das amostras, o sobrenadante foi submetido a ciclos de igual volume de fenol saturado com cloreto de sódio 5 M (1:1), fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). Finalmente foi feita a precipitação da fase aquosa, contendo o DNA, a -20°C, após adição de dois volumes de etanol 95% e 10% do volume final de acetato de sódio 3 M, pH 5,2.

Clivagem de DNA viral com enzimas de restrição

Os perfis de restrição das amostras de DNA viral foram obtidos pela clivagem com as enzimas *Bam* HI, *Eco* RI, *Hind* III e *Pst* I, de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen). O sistema de digestão, para cada enzima, foi feito em um volume de reação de 40 µL contendo 1,5 mg de DNA molde (ErelGV), 1U da enzima e 4 µL do tampão (10X). As reações de digestão ocorreram sob temperatura de 37°C em banho-maria.

Eletroforese em gel de agarose

O gel foi preparado em uma concentração de 0,8% de agarose em tampão TAE 1X (0.04 M Tris-acetato, 0.001 M EDTA, pH 8.0) de acordo com Sambrook et al., 1989. Após a solidificação, o gel foi submergido na cuba contendo TAE 1X e as amostras contendo os fragmentos de DNA, suspensas em tampão contendo azul de bromofenol e glicerol, foram introduzidas nos poços. Foram também utilizados os marcadores moleculares λ/*Hind* III e λ/*Pst* I. Após corrida eletroforética, com voltagem constante de 80 V, o gel foi imerso em solução de TAE 1X contendo 0.5 mg/mL de brometo de etídeo. Finalmente, para análise das bandas, o gel foi visualizado e fotografado em sistema transiluminador-UV e fotodocumentador (LAB Trade).

Microscopia Eletrônica de Transmissão

O tratamento de partículas virais (grânulos de ErelGV) para microscopia eletrônica de transmissão foi feito de acordo com Bozzola e Russell, 1992. Os grânulos purificados foram inicialmente fixados em tampão de cacodilato de sódio 0,1 M e glutaraldeído 2,5%. Após tratamento com tampão de pós-fixação contendo tetróxido 1%, o material foi submetido a uma série de desidratações em etanol 30%, 70%, 90% e 100%, e acondicionado em resina *spurr*. Em seguida, o bloco foi cortado em seções finas com ultramicrótomo (navalha de diamante) e colocado sobre telinhas de cobre. Finalmente, as telinhas com as amostras foram coradas com acetato de uranila 2% e visualizadas em microscópio eletrônico de transmissão Jeol 1011.

Resultados e Discussão

As larvas de *Erinnyis ello*, coletadas no município de Cruzeiro do Sul (Acre), apresentaram sintomas típicos de infecção por Baculovírus (Figura 1), tais como corpo flácido, mudança de coloração, perda dos movimentos e geotropismo negativo (FEDERICI, 1997; LAPOINT et al., 2012). Após a morte do inseto, ocorreu intensa lise da cutícula larval e dispersão das partículas virais.



Figura 1. Larvas de *Erinnyis ello* com sintomas de infecção por Baculovírus.

A análise ultraestrutural dos vírus purificados revelou a presença de partículas com forma ovalada, contendo apenas um vírion por corpo de oclusão e com tamanho variando de 0,3 a 0,5 μm . O vírus foi identificado como sendo do gênero *Betabaculovirus* (extinto gênero *Granulovirus*) da família *Baculoviridae* (Figura 2).

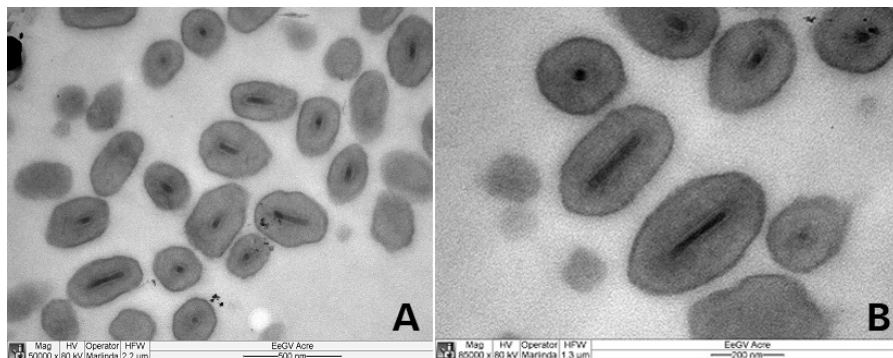


Figura 2. Micrografias eletrônicas dos corpos de oclusão. Grânulos com formato ovalado contendo apenas um único vírion. (A): Aumento 50.000X; (B): Aumento 85.000X.

A análise dos perfis de restrição do isolado de *Erinnyis ello* GV (Figura 3) coletado no Acre, obtido com as enzimas *Bam* HI e *Hind* III, revelou um total de sete e três fragmentos, respectivamente. Na clivagem com *Pst* I, foram identificados oito fragmentos molares e três submolares. Na digestão com *Eco* RI foram observados vinte e um fragmentos de DNA, estando presentes algumas bandas submolares.

A análise do perfil de restrição de DNA de diferentes isolados sazonais coletados na região de Itajaí/Jaguaruna (SC), incluindo o isolado ErelGV 1986, foi descrita anteriormente. A comparação do perfil de restrição do isolado ErelGV coletado no Acre com o descrito para os isolados provenientes de Santa Catarina revelou alta similaridade entre eles, com base na digestão com as enzimas *Bam* HI, *Eco* RI e *Hind* III. No entanto, não foi possível a comparação do perfil de restrição por clivagem com enzima *Pst* I, pois a digestão do DNA dos isolados sazonais com esta enzima foi parcial (COSTA et al., 2005).

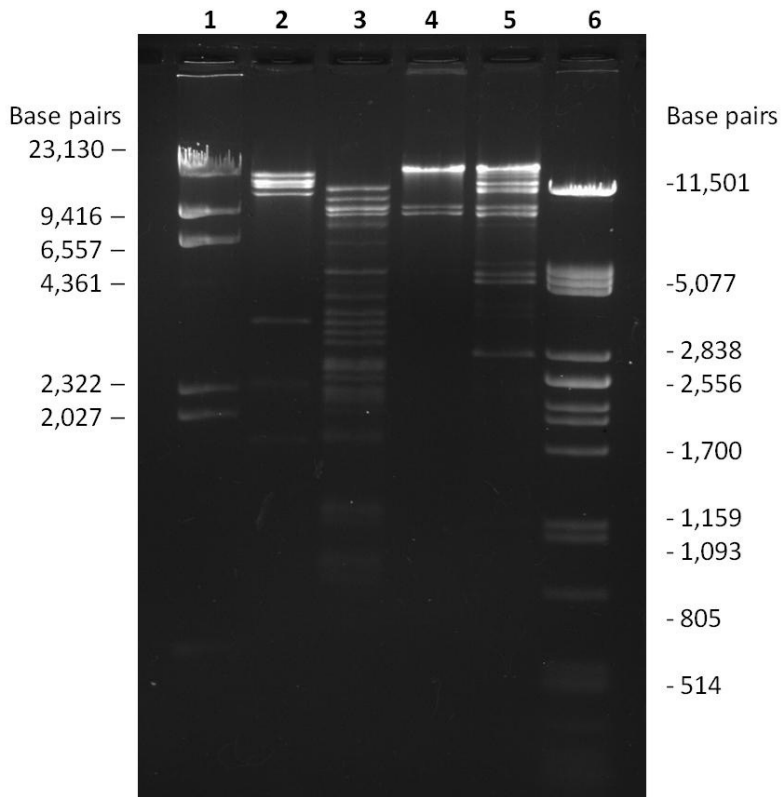


Figura 3. Perfis de restrição do isolado de ErelGV-Acre. 1 - Marcador DNA lambda/*Hind* III; 2 - DNA ErelGV clivado com *Bam* HI; 3 - DNA ErelGV clivado com *Eco* RI; 4 - DNA ErelGV clivado com *Hind* III; 5 - DNA ErelGV clivado com *Pst* I; 6 - DNA lambda clivado com *Pst* I.

O genoma completo do isolado de *Erinnyis ello Granulovirus* coletado em Santa Catarina em 1986, denominado Br-S86, foi recentemente sequenciado (ARDISSON-ARAUJO et al., 2014). Esse isolado possui o tamanho de 102,759 bp, sendo filogeneticamente mais próximo dos vírus *Choristoneura occidentalis Granulovirus* (ChocGV) e *Pieris rapae Granulovirus* (PiraGV).

A análise comparativa das sequências completas do genoma do isolado

de *Erinnyis ello Granulovirus* proveniente de Cruzeiro do Sul (Acre) e de isolados sazonais coletados na região de Itajaí/Jaguaruna (SC) encontra-se em andamento. Esses estudos permitirão a compreensão sobre a diversidade intraisolado de EeGV e a variação genotípica na população viral ao longo do tempo.

Conclusões

O vírus coletado no município de Cruzeiro do Sul, no Acre, infectando larvas de mandarová-da-mandioca foi identificado como *Erinnyis ello Granulovirus* (ErelGV), utilizando-se microscopia eletrônica de transmissão. A análise de restrição do DNA viral com diferentes enzimas revelou que esse isolado apresenta alta similaridade com o perfil do DNA dos isolados sazonais de ErelGV coletados na região de Itajaí/Jaguaruna em Santa Catarina.

Referências

AGUIAR, E. B.; LORENZI, J. O.; MONTEIRO, D. A.; BICUDO, S. J. Monitoramento do mandarová da mandioca (*Erinnyis ello* L. 1758) para o controle com Baculovírus (*Baculovirus erinnyis*). **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 4, n. 2, p. 55-59, 2010.

ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; MELO, F. L.; ANDRADE, M. S.; SIHLER, W.; BÃO, S. N.; RIBEIRO, B. M.; SOUZA, M. L. de. Genome sequence of *Erinnyis ello granulovirus* (ErelGV), a natural cassava hornworm pesticide and the first sequenced sphingid-infecting betabaculovirus. **BMC Genomics**, v. 15:856, 2014.

BELLOTTI, A. C.; SMITH, L.; LAPOINTE, L. S. Recent advances in cassava pest management. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 343-370, 1999.

BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron Microscopy Principles and Techniques for Biologists**. Jones and Bartlett Publishers, Boston, USA, 542 p., 1992.

COSTA, N. N.; CASTRO, M. E. B. de; SIHLER, W.; PEGORARO, R. A.; SOUZA, M. L. de. **Análise da estabilidade genética do *Erinnyis ello granulovirus* aplicado em Santa Catarina como bioinseticida no período de 1986 a 2000**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 110, 21 p., 2005.

Embrapa Acre. Pesquisadores detectam primeiro surto de mandarová em seringueiras no Acre. 29.08.2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2005445/pesquisadores-detectam-primeiro-surto-de-mandarova-em-seringueiras-no-acre>. Acesso em: 09 jan. 2015.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; FILHO, M. D. C.; SANTIAGO, A. C. C.; FROTA, F. S. **Manejo Integrado do Mandarová da mandioca *Erinnyis ello* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae):** Conceitos e Experiências na Região do Vale do Rio Juruá, Acre. Embrapa Acre, Rio Branco, AC, Documentos 107, 45 p., 2007a.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; FILHO, M. D. C.; SANTIAGO, A. C. C.; FROTA, F. S. **Sete Passos para Controlar o Mandarová da mandioca.** Embrapa Acre, Rio Branco, AC, Documentos, 108, 18 p., 2007b.

FEDERICI, B. A. Baculovirus pathogenesis, In: MILLER, L. K. (Ed.). **The Baculoviruses**, p. 8-59, Plenum Press, New York, 1997.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (2016). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Sistema IBGE de recuperação automática. SIDRA. <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=99&z=p&o=23&i=P>>. Acesso em: 19 maio 2016.

LAPOINT, R.; THUMBI, D.; LUCAROTTI, C. J. Recent Advances in Our Knowledge of Baculovirus Molecular Biology and Its Relevance for the Registration of Baculovirus-Based Products for Insect Pest Population Control. In: LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S. (Eds). **Integrated Pest Management and Pest Control – Current and Future Tactics. InTech.** p. 481-522, 2012.

MARUNIAK, J. E. Baculovirus structural proteins and protein and protein synthesis. In: GRANADOS, R. R.; FEDERICI, B. A. (Eds). **The**

Biology of Baculovirus, vol I. CRC Press, Florida, p. 129-146. 1986.

OLIVEIRA, A. B.; CRUZ, R. B. **Condução de seringais no Estado do Rio de Janeiro: tratos culturais e controle das principais pragas**. Informação Tecnológica online. Pesagro-Rio nº 17. 2010.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 3 Volumes, 1989.

SCHMITT, A. T. **Eficiência da aplicação de *Baculovirus erinnyis* no controle do mandarová da mandioca**. Volume 88. Florianópolis, Santa Catarina - Brasil: EMPASC, Comunicado Técnico 88. 1985.

SCHMITT, A. T. Principais insetos pragas da mandioca e seu controle. In: CEREDA, M. P. (coord.). **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**, vol. 2. São Paulo: Fundação Cargill, p. 350-357, 2002.



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**

