

# Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con Nimkol-L<sup>®</sup> para el combate de *Heterotermes tenuis*

Enrique Castiglioni<sup>1</sup>  
José Djair Vendramim<sup>2</sup>  
Sérgio Batista Alves<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó la compatibilidad del Nimkol-L<sup>®</sup>, formulación comercial de extracto acuoso de hojas de nim (*Azadirachta indica*), con las cepas 1037 de *Metarhizium anisopliae* y 634 de *Beauveria bassiana*, *in vitro*. Se realizaron dos ensayos para evaluar el efecto del Nimkol-L<sup>®</sup> sobre el crecimiento vegetativo y la producción de conidios de los hongos entomopatógenos. En el primero, el producto fue incorporado en medio de cultivo sólido (PDA), en placas de Petri, en las concentraciones de 0; 0,74; 1,84; 3,68 y 18,4% i.a. En el segundo, el producto fue aplicado en la superficie del medio PDA contenido en las placas, en las concentraciones de 0; 0,2; 0,5; 1 y 5% i.a. Con base en las variables estudiadas, el Nimkol-L<sup>®</sup> fue caracterizado aplicando el modelo T de clasificación de productos. Se evaluó también el efecto del Nimkol-L<sup>®</sup> sobre la germinación de los conidios. El Nimkol-L<sup>®</sup> fue compatible con *M. anisopliae* (1037) hasta 1% i.a. y con *B. bassiana* (634) hasta 1,84% i.a. Entre 0,2 y 1% i.a., el Nimkol-L<sup>®</sup> no inhibió significativamente la germinación de los conidios. En concentraciones de 5% i.a. o mayores, el Nimkol-L<sup>®</sup> afectó significativamente todas las variables estudiadas, para ambas cepas.

**Palabras clave:** Extractos vegetales, nim, hongos entomopatógenos, interferencia.

**ABSTRACT.** Compatibility between *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with Nimkol-L<sup>®</sup> in the control of *Heterotermes tenuis*. The compatibility of Nimkol-L<sup>®</sup>, a commercial formula of neem leaves aqueous extract (*Azadirachta indica*), with strain 1037 of *Metarhizium anisopliae* and strain 634 of *Beauveria bassiana*, was tested *in vitro*. Two experiments were developed for testing the effect of Nimkol-L<sup>®</sup> on vegetative growth and conidia production of entomopathogenic fungi. In the first one, the product was incorporated on a solid culture media (PDA), in Petri dishes, at concentrations of 0, 0.74, 1.84, 3.68, and 18.4% a.i. In the second experiment, the product was applied on the surface of PDA media within the dishes, at concentrations of 0, 1.2, 0.5, 1 and 5% a.i. Based on the variables studied, Nimkol-L<sup>®</sup> was characterized according to the T model for product classification. The effect of Nimkol-L<sup>®</sup> on the germination of conidia was also measured. Nimkol-L<sup>®</sup> was compatible with *M. anisopliae* (1037) up to 1% a.i., and with *B. Bassiana* (634) up to 1.84% a.i. The germination of conidia was not significantly inhibited by Nimkol-L<sup>®</sup>, between 0.2 and 1% a.i. At concentrations equal or higher than 5% a.i., Nimkol-L<sup>®</sup> significantly affected all the variables measured in both strains.

**Key words:** Botanical extracts, neem, enthomopathogenic fungi, interference.

## Introducción

La termita subterránea *Heterotermes tenuis* es una de las plagas más importantes de la caña de azúcar en el Estado de São Paulo, Brasil. Pizano (1995) indica que esta plaga se encuentra diseminada en el Brasil, oca-

sionando daños en aquel cultivo. Las termitas atacan las socas recién plantadas, dañando las yemas y provocando, como consecuencia, fallas en la implantación. En la planta adulta no existe un método económico y

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, E.E.M.A.C., Ruta 3 km 363, CP 60.000, Paysandú, Uruguay, bbcast@fagro.edu.uy

<sup>2</sup> Depto. Entomología, Fitopatología e Zoología Agrícola - ESALQ/USP, C.P. 9 - CEP: 13418-900 - Piracicaba, SP, Brasil. jdvendra@esalq.usp.br

eficiente de control, siendo los perjuicios, en estos casos, todavía mayores por la pérdida de peso y reducción drástica del rebrote.

Los productos más eficientes para el control de termitas subterráneas permanecen activos en el suelo por períodos prolongados. Sin embargo, después de la prohibición del uso de organoclorados, se están investigando nuevos productos y estrategias (Macedo *et al.* 1995). Según estos autores, los nuevos productos y el empleo de trampas artificiales están gradualmente substituyendo los relevamientos convencionales, aumentando la eficiencia y la practicidad del control y disminuyendo los costos.

El control asociado de termitas, con la utilización simultánea de uno o más métodos de combate, es una alternativa que está siendo explorada en la actualidad. Los productos fitosanitarios pueden mejorar su efecto si son utilizados simultáneamente con hongos entomopatógenos, contribuyendo a incrementar la eficiencia del combate (Moino Júnior 1998).

La acción estresante de ciertos compuestos puede afectar la resistencia del comportamiento observada naturalmente en las termitas, alterando sus hábitos de limpieza. El producto puede actuar de forma sinérgica, permitiendo que una mayor cantidad de conidios pueda germinar e iniciar el proceso de la enfermedad, como fue constatado por Moino Júnior (1998) para imidacloprid y *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, en estudios con *H. tenuis*.

En pruebas de laboratorio, se verificó la eficacia de control de Nimkol-L<sup>®</sup> (extracto acuoso comercial de hojas de nim a 10%) sobre *H. tenuis*, el cual logró una mortalidad superior al 80% a los tres días, con 0,5 a 1% de ingrediente activo (Castiglioni y Vendramim 2003). La acción de este producto sobre *H. tenuis*, solo y en asociación con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, fue verificada en ensayos de laboratorio y en trampas de cartón en pruebas de campo (Castiglioni *et al.* En preparación).

La acción de los productos fitosanitarios sobre los entomopatógenos puede variar en función de la especie y la raza del patógeno, de la naturaleza química de los productos y de las concentraciones utilizadas. Estos productos pueden actuar inhibiendo el crecimiento vegetativo, la conidiogénesis y la esporulación de los microorganismos, así como causar mutaciones genéticas, factores que pueden llevar a la disminución de

la virulencia de una plaga determinada (Alves *et al.* 1998). El uso combinado de trampas atrayentes con patógenos para intensificar el contacto de la plaga con las toxinas, y garantizar el efecto de control, es recomendado por algunos autores, según Martius (1998).

La estrategia de control de *H. tenuis* por medio de trampas de cartón impregnadas con insecticidas y hongos entomopatógenos debe considerar los posibles efectos fungitóxicos de los productos que se utilizarán (Moino Júnior 1998).

Según Alves *et al.* (1998), faltan informaciones relativas a las interacciones entre entomopatógenos y agroquímicos en condiciones de campo. Sin embargo, como los estudios *in vitro* exponen al máximo el microorganismo a la acción del producto químico, brindan confiabilidad sobre los resultados de selectividad.

Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar la compatibilidad *in vitro* del Nimkol-L<sup>®</sup>, formulación de extracto de hojas de nim, con los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, para su uso en trampas para el control de termitas.

## Materiales y métodos

Los experimentos fueron realizados en el Laboratorio de Patología de Insectos del Departamento de Entomología, Fitopatología e Zoología Agrícola de la Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Brasil.

Se utilizaron las cepas 634 de *B. bassiana* y 1037 de *M. anisopliae*, producidas en placas de Petri con medio de cultivo específico para esporulación MC<sup>3</sup>, a partir del material almacenado en el banco de patógenos del Laboratorio.

El producto comercial evaluado fue Nimkol-L<sup>®</sup>, extracto acuoso de hojas de nim (*Azadirachta indica*) en formulación líquida, a 10% de concentración de material vegetal, sin especificación de ingredientes activos (suministrado por Quinabra, Química Natural Brasileira Ltda., Brasil). La recomendación para dosis de campo es una dilución de 1/10 en agua.

## Crecimiento de colonias y producción de conidios

Se llevaron a cabo dos experimentos de compatibilidad del Nimkol-L<sup>®</sup> con los entomopatógenos. En el primero, el producto fue adicionado al medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) todavía líquido, a una temperatura próxima a los 40°C. Las concentraciones

<sup>3</sup> Composición del medio MC: fosfato de potasio: 0,36 g; fosfato de sodio: 1,05 g; sulfato de magnesio: 0,60 g; cloruro de potasio: 1,00 g; glucosa: 10,00 g; nitrato de sodio: 1,58 g; extracto de levadura: 5,00 g; agar: 20,00 g; agua destilada: 1000,00 ml.

evaluadas fueron 0; 0,74; 1,84; 3,68 y 18,4% de i.a., equivalentes a 0, 740, 1 840, 3 680 y 18 400 ppm, respectivamente. Posteriormente, el medio fue vertido en placas de Petri. Después de la solidificación del medio con el producto, los entomopatógenos fueron inoculados con alza de platina en tres puntos por placa, en tres placas por tratamiento, en cámara de flujo laminar. En el segundo experimento, las concentraciones evaluadas fueron 0; 0,2; 0,5; 1 y 5% de i.a., equivalentes a 0, 200, 500, 1 000 y 5 000 ppm, respectivamente. Para cada tratamiento, se vertió 1 ml del producto sobre la superficie del medio de cultivo en las placas. Una vez seca la superficie, se procedió a la inoculación de los entomopatógenos, de idéntica forma que en el primer experimento. Los diferentes rangos de concentraciones empleados en el medio de cultivo de los ensayos respondieron a dos hipótesis de contacto de los insectos con el producto. En la hipótesis de menor contacto, se estimó la concentración en la superficie del sustrato. En la hipótesis de mayor contacto, se estimó la mayor cantidad de producto que los insectos podrían contactar, una vez calculada la absorción del mismo en el cartón de las trampas.

Después de la inoculación, las placas fueron mantenidas a  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , humedad relativa de  $70 \pm 5\%$ , y fotofase de 12 h, por un período de cinco días en el primer experimento, y de seis días en el segundo. Al término de estos períodos, se midió el diámetro medio de las colonias y se contaron los conidios producidos por colonia, en cámara de Neubauer (Alves *et al.* 1998). Para esto, las colonias fueron recortadas del medio de cultivo con un sacabocados y colocadas en tubos de vidrio de 9,0 cm x 3,0 cm, en los cuales fueron hechas las disoluciones necesarias en agua destilada estéril con Tween<sup>®</sup> 80 (concentración 80%, 0,01% v/v). Se procedió a la agitación en agitador de tubos, marca Marconi, modelo 162, y agitador de ultrasonido modelo 450 (E/MC Corp. RAI Research Division) y se utilizó un pincel para el desprendimiento completo y la suspensión de los conidios.

### Clasificación de la toxicidad del Nimkol-L<sup>®</sup> para los hongos entomopatógenos

Para clasificar la compatibilidad del producto con los entomopatógenos, se utilizó el modelo T (Alves *et al.* 1998), desarrollado para caracterizar la compatibilidad de hongos entomopatógenos con productos insecticidas en estudios *in vitro*, en medio de cultivo sólido. Para ello, se calcularon los valores porcentuales

promedio de esporulación y crecimiento vegetativo de las colonias de los hongos con relación al testigo (100%), aplicándose enseguida, para cada concentración del producto, la siguiente fórmula:

$$T = [20(CV) + 80(ESP)]/100$$

Donde:

T = valor corregido del crecimiento vegetativo y esporulación para clasificación del producto;

CV = porcentaje de crecimiento vegetativo relativo al testigo;

ESP = porcentaje de esporulación relativo al testigo;

### Germinación de conidios

Considerando la importancia de la germinación de los conidios de los entomopatógenos para la contaminación eficiente de los insectos, se evaluó el efecto negativo del Nimkol-L<sup>®</sup> sobre este proceso, utilizando metodología similar a la del estudio de Neves *et al.* (2001).

Para evaluar el efecto en la germinación de los conidios, se prepararon disoluciones del producto en las concentraciones de 0; 0,2; 0,5; 1 y 5% de i.a., en agua destilada estéril con 0,01% de Tween<sup>®</sup> 80 (concentración 80%). Conidios de las cepas de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037) fueron adicionados a las disoluciones de Nimkol-L<sup>®</sup>, y se procedió a su agitación. Una hora después, partes alícuotas de 0,1 ml de cada concentración fueron extendidas en placas de Petri con alza de Drigalsky en la superficie de medio agua-agar a 2%. Las placas fueron mantenidas a  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , humedad relativa de  $70 \pm 5\%$ , y fotofase de 12 h, por 24 h. Después de ese período, se evaluó el porcentaje de conidios germinados, contando al azar, cuatro veces, 100 conidios por tratamiento.

Los experimentos fueron dispuestos en diseño completamente al azar; posteriormente, se analizaron los resultados por regresión polinomial, para obtener las ecuaciones de mejor ajuste.

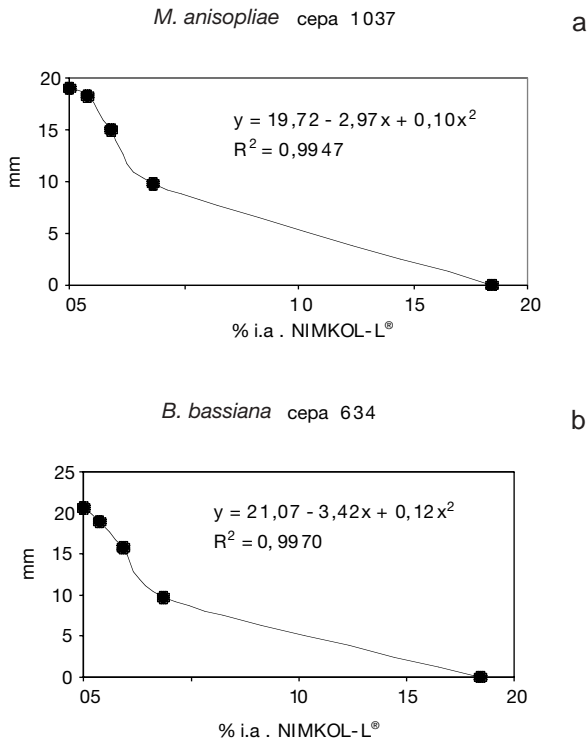
## Resultados y discusión

### Crecimiento de colonias y producción de conidios

Los estudios de compatibilidad indicaron que el efecto del Nimkol-L<sup>®</sup> sobre el crecimiento vegetativo de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* fue dependiente de la concentración.

Cuando el producto fue incorporado al medio de cultivo para los hongos, el crecimiento de las colonias

no fue significativamente afectado en la menor concentración evaluada (0,74% i.a.). Con el aumento de la concentración, el crecimiento vegetativo de los entomopatógenos fue menor, hasta la total inhibición en la mayor concentración evaluada (18,4% i.a.) (Fig. 1). La inhibición completa de los hongos indica el alto poder fungicida del Nimkol-L® en esa concentración.

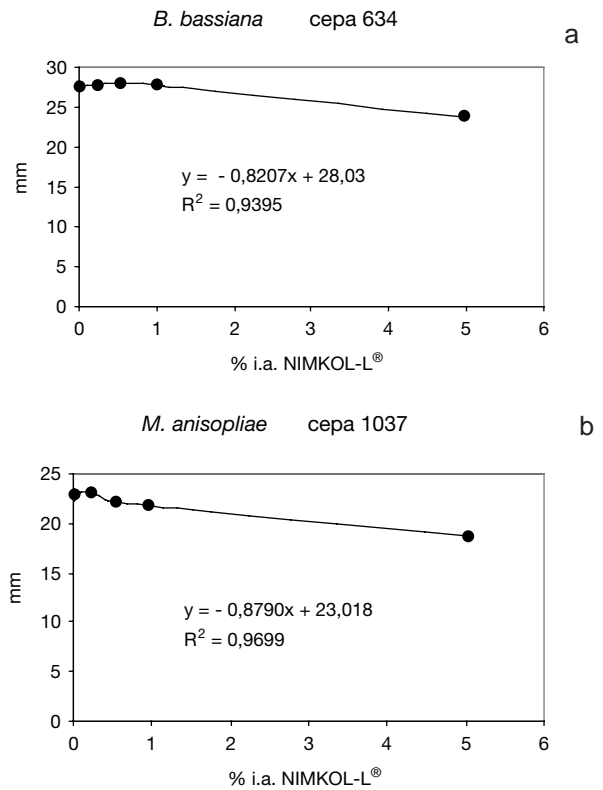


**Figura 1.** Diámetro (mm) de las colonias de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037), cinco d.p.i., en diferentes concentraciones de Nimkol-L® adicionado al medio de cultivo PDA (26 ± 0,5°C, HR 70 ± 5, fotofase 12 h).

Cuando el producto fue adicionado en la superficie del medio de cultivo, las concentraciones evaluadas fueron menores y, por lo tanto, el efecto negativo sobre el crecimiento vegetativo fue también menor (Fig. 2).

Para las dos cepas evaluadas en ambos métodos de contacto con el producto, hubo respuesta negativa en función de la concentración del Nimkol-L®, como lo indican las ecuaciones de regresión. El efecto inhibitorio en el crecimiento de las colonias fue mayor cuando el producto fue incorporado al medio de cultivo, en función del contacto de los hongos con una mayor cantidad de Nimkol-L®.

El Nimkol-L® afectó negativamente la conidiogénesis de ambas cepas evaluadas. El efecto fue evidente cuando el producto se incorporó al medio de culti-

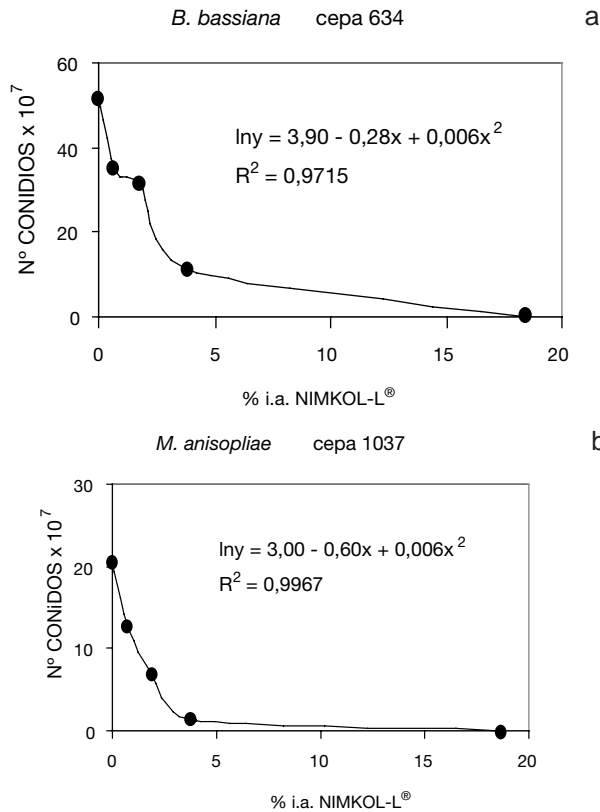


**Figura 2.** Diámetro (mm) de las colonias de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037), seis d.p.i., en diferentes concentraciones de Nimkol-L® adicionado en la superficie del medio de cultivo PDA (26 ± 0,5°C, HR 70 ± 5, fotofase de 12 h).

vo para los hongos. Las ecuaciones de regresión polinomial de segundo grado no presentaron buen ajuste con las curvas de inhibición encontradas, y se encontró un mejor ajuste con ecuaciones logarítmicas. La acción inhibitoria del Nimkol-L® fue alta en la concentración de 3,68% de i.a. y total en la concentración de 18,4% de i.a., para ambas cepas (Fig. 3).

Cuando el extracto fue adicionado a la superficie del medio de cultivo y los entomopatógenos estuvieron en contacto con una menor concentración del producto, la acción negativa sobre la producción de conidios fue menor (Fig. 4). La ecuación de regresión de segundo grado presentó buen ajuste tanto para *M. anisopliae* como para *B. bassiana*. Del análisis gráfico de las curvas de respuesta, puede observarse una tendencia a una mayor acción inhibitoria del Nimkol-L® sobre la cepa 1037 de *M. anisopliae* que sobre la cepa 634 de *B. bassiana*.

En ensayos de laboratorio, Aguda *et al.* (1986) determinaron reducción en la producción de conidios de *M. anisopliae* en contacto con aceite de nim en concentraciones de 5% o superiores. El aceite de nim es usado, en aplicaciones de campo o invernáculo, en



**Figura 3.** Conidios por colonia (x10<sup>7</sup>) de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037), cinco d.p.i., en diferentes concentraciones de Nimkol-L® adicionado al medio de cultivo PDA (26 ± 0,5°C, HR 70 ± 5, fotofase de 12 h).

concentraciones de entre 0,5 y 2% (Schmutterer 1997). Vyas *et al.* (1992), por otro lado, no detectaron efectos negativos del extracto comercial de nim Nee-mark (derivado del aceite de nim, con 0,4 -0,5% de azadiractina) sobre el crecimiento de *M. anisopliae* var. *anisopliae* y *B. browniartii*.

**Clasificación de la toxicidad de Nimkol-L® para los hongos entomopatógenos**

La clasificación del Nimkol-L® en relación con su compatibilidad con las cepas dependió de la concentración del producto, de acuerdo con el modelo T (Cuadro 1).

Independientemente del método de incorporación del Nimkol-L® al medio de cultivo, la compatibilidad del producto con las cepas evaluadas disminuyó con el aumento de la concentración.

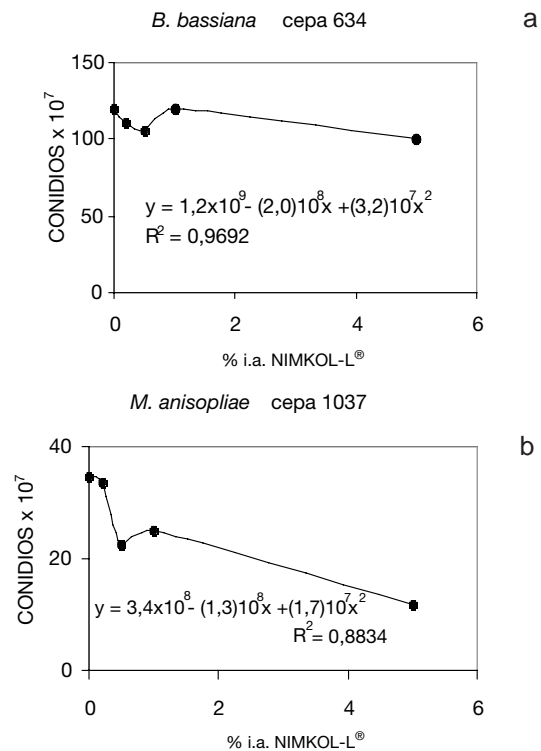
Hasta la concentración de 1% de i.a. (1 000 ppm), el producto fue compatible con ambas cepas. Sin embargo, el Nimkol-L® presentó mayor compatibilidad con la cepa 634 de *B. bassiana* que con la cepa 1037 de *M. anisopliae*, siendo compatible con la primera en

concentración de hasta 1,84% de i.a. (1 840 ppm). De esta forma, la cepa 1037 de *M. anisopliae* fue más sensible a la acción tóxica del Nimkol-L®.

Los presentes resultados difieren de los relatados por Hirose *et al.* (2001), quienes estudiaron el efecto *in vitro* del aceite de nim, en concentración de 2%, sobre las cepas CG 252 de *B. bassiana* (Embrapa - Cenargen) y CB 38 de *M. anisopliae* (Instituto Biológico de Campinas). Los autores constataron menor diámetro de las colonias y menor producción de conidios de *B. bassiana* CG 252 (-36,62% y -84,93%, respectivamente) que de *M. anisopliae* CB 38 (-36,87% y -54,35%, respectivamente).

Con respecto a la inhibición *in vitro* de esos entomopatógenos con seis fungicidas, Tedders (1981) indicó que el azufre y el zineb no inhibieron el crecimiento de las colonias de *B. bassiana* en todas las concentraciones probadas, e inhibieron el crecimiento de *M. anisopliae* en la mayor concentración. Por el contrario, el benomil inhibió más el crecimiento de *B. bassiana* que de *M. anisopliae*.

Los resultados subrayan la importancia de evaluar la compatibilidad de los productos en forma conjunta,



**Figura 4.** Conidios por colonia de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037), seis d.p.i., en diferentes concentraciones de Nimkol-L® adicionado en la superficie del medio de cultivo PDA (26 ± 0,5°C, HR 70 ± 5, fotofase de 12 h).

**Cuadro 1.** Clasificación de la compatibilidad del Nimkol-L® con *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037) en las concentraciones utilizadas.

<b>Modelo T para clasificación del Nimkol-L®, incorporado al promedio PDA</b>					
(% i.a.)	(ppm)	<i>M. anisopliae</i> 1037		<i>B. bassiana</i> 634	
		T	Clasificación	T	Clasificación
0	0	100,0	-	100,0	-
0,74	740	67,8 <sup>1</sup>	C <sup>2</sup>	71,8	C
1,84	1 840	43,3	T	64,0	C
3,68	3 680	15,8	MT	27,9	MT
18,4	18 400	0,0	MT	0,0	MT

<b>Modelo T para clasificación del Nimkol-L®, adicionado al promedio PDA</b>					
(% i.a.)	(ppm)	<i>M. anisopliae</i> 1037		<i>B. bassiana</i> 634	
		T	Clasificación	T	Clasificación
0	0	100,0	-	100,0	-
0,2	200	97,6	C	97,6	C
0,5	500	71,2	C	72,2	C
1	1 000	76,5	C	77,9	C
5	5 000	43,6	T	44,7	T

<sup>1</sup> Modelo T

<sup>2</sup> C = compatible; T = tóxico; MT = muy tóxico.

ya que puede variar en función de la especie y cepa del entomopatógeno utilizado, así como del ingrediente activo y la formulación del plaguicida.

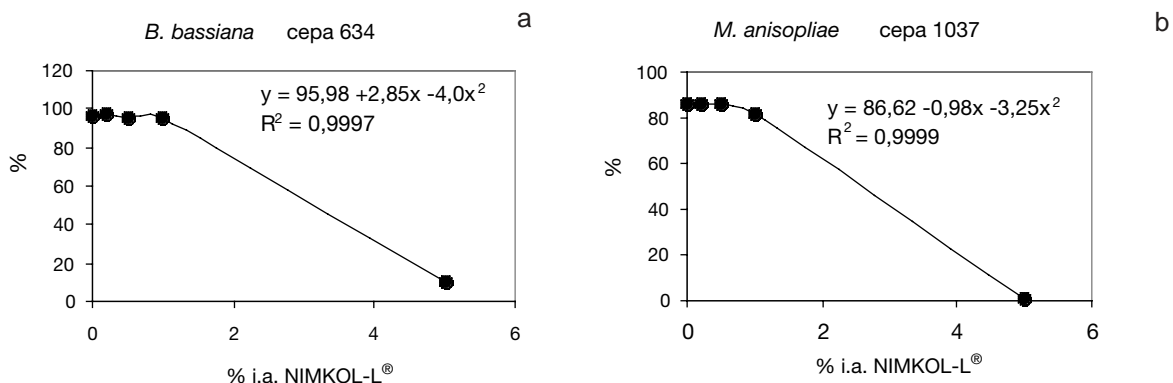
**Germinación de conidios**

El Nimkol-L® afectó la germinación de los conidios de ambas cepas sólo en la máxima concentración evaluada (5% i.a.). Los conidios germinaron de forma similar en contacto con agua destilada y con las concentraciones menores (0,2 a 1% i.a.) del producto (Fig. 5).

Los resultados de inhibición de la germinación de los conidios concuerdan con los resultados de crecimiento de colonias y número de conidios por colonia,

los cuales evidenciaron una inhibición del crecimiento de los entomopatógenos cuando la mayor concentración del producto fue incorporada en el medio de cultivo donde los hongos fueron inoculados (Figs. 1 y 3). Sin embargo, la concentración utilizada en esta situación fue superior (18,4%). El efecto inhibitorio del Nimkol-L® sobre la germinación de los conidios, en la concentración de 5% i.a., fue mayor que su efecto negativo sobre el crecimiento vegetativo y la conidiogénesis cuando el producto fue adicionado en esa concentración en la superficie del medio de cultivo sólido.

La acción fungicida de extractos y derivados de nim ha sido indicada para hongos fitopatógenos



**Figura 5.** Germinación (%) de conidios de *B. bassiana* (634) y *M. anisopliae* (1037), 24 h después de una hora de contacto con diferentes concentraciones de Nimkol-L® (26 ± 0,5°C, HR 70 ± 5, fotofase de 12 h).

(Grainge y Ahmed 1988) así como para hongos entomopatógenos (Aguda *et al.* 1986). Sin embargo, la ausencia de inhibición de la germinación de los conidios por el producto en las concentraciones menores indica la posibilidad de uso asociado del Nimkol-L® con las cepas evaluadas, siempre que no se supere la concentración compatible.

Hirose *et al.* (2001) determinaron la acción inhibitoria del aceite de nim (2%) sobre la germinación de los conidios de *B. bassiana* CG 252 (-45,72%) y de *M. anisopliae* CB 38 (-17,42%).

Los resultados del presente trabajo son similares a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (1997) con extracto acuoso de semillas de nim, compatible con *B. bassiana* en concentraciones de 0,5; 1,5 y 2,5% para germinación de los conidios. Sin embargo, contrariamente a lo observado con el crecimiento del micelio del entomopatógeno en este trabajo (Figs. 1 y 3), dichos autores no detectaron efecto negativo del extracto en concentraciones de hasta un 5%.

En conclusión, la cepa 634 de *B. bassiana* es menos sensible al Nimkol-L® que la cepa 1037 de *M. anisopliae*.

*In vitro*, el Nimkol-L® es compatible con *M. anisopliae* (1037) hasta 1% i.a. y con *B. bassiana* hasta 1,84% i.a.

En concentraciones de 5% i.a. o mayores, el Nimkol-L® reduce significativamente el crecimiento vegetativo, la conidiogénesis y la germinación de los conidios de *M. anisopliae* (1037) y *B. bassiana* (634).

## Agradecimientos

Al PEC/PG, por la Beca de Estudio del primer autor; a la bióloga Solange Aparecida Vieira, técnica del Laboratorio de Patología de Insectos (Departamento de Entomología, Fitopatología e Zoología Agrícola, ESALQ/USP), por su contribución a la planificación e instalación de los experimentos; y a la Empresa Quinabra, de Brasil, por el suministro de Nimkol-L®.

## Literatura citada

Aguda, RM; Rombach, MC; Shepard, BM. 1986. Effect of neem oil on germination and sporulation of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. International Rice Research Newsletter 11(4):34-35.

- Alves, SB; Moino Jr., A; Almeida, JEM. 1998. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. 2 ed. Piracicaba: FEALQ. p. 217-238.
- Castiglioni, E; Vendramim, JD. 2003. Evaluación de derivados de meliáceas para el control de *Heterotermes tenuis*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 68: 34-40.
- Grainge, M; Ahmed, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. New York, Wiley. 470 p.
- Hirose, E; Neves, PMOJ; Zequi, JAC; Martins, LH; Peralta, CH; Moino Jr, A. 2001. Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Tecapar, Curitiba, BR. Brazilian Archives of Biology and Technology 44(4): 419-423.
- Macedo, N; Botelho, PSM; Campos, MBS. 1995. Cupins: a grande praga dos canaviais, 1. Cupins em cana-de-açúcar: quando e como controlar. Alcool & Açúcar 15(78):32-36.
- Martius, C. 1998. Perspectivas do controle biológico de cupins (Insecta, Isoptera). Revista Brasileira de Entomologia 41(2/4):179-194.
- Moino Júnior, A. 1998. Fatores que afetam a eficiência de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no controle de *Heterotermes tenuis* (Isoptera, Rhinotermitidae). Thesis Ph. D. Piracicaba, BR. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 133 p.
- Neves, PMOJ; Hirose, N; Tchujo, PT; Moino Júnior, A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. Neotropical Entomology 30(2):263-268.
- Pizano, MA. 1995. Controle de cupins de cana-de-açúcar. In Berti Filho, E; Fontes, LR. eds. Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins. Piracicaba, FEALQ. p. 103-114.
- Rodríguez, LDA; Lagunas, TA; Riestra, DD; Rodríguez, MC; Velázquez MJ; Becerril RE; Rodríguez CS; Pacheco VE. 1997. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*) para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Manejo Integrado de Plagas 44:14-19.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. Journal of Applied Entomology 121(2):121-128.
- Tedders, WL. 1981. *In vitro* inhibition of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* by six fungicides used in pecan culture. Environmental Entomology 10:346-349.
- Vyas, RV; Jani, JJ; Yada, DN. 1992. Effect of some natural pesticides on entomogenous muscardine fungus. Indian Journal of Experimental Biology 30:435-436.