

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPUS DE CHAPADÃO DO SUL

MURILO BITTARELLO NICHELE

Metarhizium anisopliae e *Bacillus pumilus*: **EFEITO DA EXPOSIÇÃO
SOBRE O DESENVOLVIMENTO E PERFORMANCE DE CONTROLE**

CHAPADÃO DO SUL – MS

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPUS DE CHAPADÃO DO SUL

Metarhizium anisopliae e *Bacillus pumilus*: **EFEITO DA EXPOSIÇÃO
SOBRE O DESENVOLVIMENTO E PERFORMANCE DE CONTROLE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa

CHAPADÃO DO SUL-MS

2026



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

AUTOR(A): **Murilo Bittarello Nichele.**

ORIENTADOR(A): **Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa.**

Aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências do Componente Curricular Não Disciplinar TCC, para obtenção do grau de BACHAREL EM AGRONOMIA, pelo curso de Bacharelado em Agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Chapadão do Sul.

Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa
Presidente da Banca Examinadora e Orientador

Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro
Membro da Banca Examinadora

Profa. Dra. Meire Aparecida Silvestrini Cordeiro
Membro da Banca Examinadora

Chapadão do Sul, 24 de junho de 2026.

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Luis Gustavo Amorim Pessoa, Professor do Magistério Superior**, em 24/06/2026, às 21:54, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Meire Aparecida Silvestrini Cordeiro, Professora do Magistério Superior**, em 25/06/2026, às 06:08, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Elisângela de Souza Loureiro, Professora do Magistério Superior**, em 25/06/2026, às 07:45, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Certificado 6489088 - SEI 23455.000496/2026-16 / pg. 1



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6489088** e o código CRC **4CDF1956**.

COORDENAÇÃO DE GESTÃO ACADÊMICA DO CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL

Avenida Engenheiro Douglas Ribeiro Pantaleão, nº 5167

Fone:

CEP 79560-000 - Chapadão do Sul - MS

Referência: Processo nº 23455.000496/2026-16

SEI nº 6489088

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me conceder força, sabedoria, perseverança e a sua Presença em meu viver ao longo desta caminhada acadêmica.

Aos meus pais Cláudio Pedro Nichele e Lucilene Bittarello Nichele, e à minha irmã Mirela Bittarello Nichele, por todo amor, apoio, dedicação e incentivo ao longo da minha vida. Obrigado por nunca medirem esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos, pelos ensinamentos, valores transmitidos e por estarem ao meu lado em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis. Esta conquista também é de vocês.

Aos meus avós, Vilmar Miguel Bittarello e Nair Ribeiro Bittarello, pelo amor, cuidado, apoio e pelos ensinamentos transmitidos ao longo da minha vida. Obrigado por serem exemplo de dedicação, humildade e perseverança, contribuindo de forma especial para minha formação pessoal e para esta conquista.

À minha família, pelo amor, apoio e incentivo em todos os momentos, sendo fundamental para que eu chegasse até aqui.

Dedico também aos meus orientadores, Luis Gustavo Amorim Pessoa e Elisângela de Souza Loureiro, pelos ensinamentos, paciência e contribuição para minha formação acadêmica e profissional.

E a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória e contribuíram para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela vida, pela saúde e por me conceder força, sabedoria e perseverança durante toda esta caminhada acadêmica. Sua Presença foi essencial em todos os momentos da minha vida. Se não tenho a Ti não tenho nada!

Aos meus pais, Cláudio Pedro Nichele e Lucilene Bittarello Nichele, expresso minha mais profunda gratidão por todo amor, apoio e dedicação ao longo da minha vida. Obrigado por acreditarem em mim e estarem sempre me apoiando em cada etapa da minha trajetória. Nada disso seria possível sem vocês.

À minha irmã, Mirela Bittarello Nichele, pelo carinho, amizade, incentivo e companheirismo, tornando essa caminhada mais leve e especial.

Aos meus avós, Vilmar Miguel Bittarello e Nair Ribeiro Bittarello, por todo amor, cuidado e pelos ensinamentos construídos ao longo da minha vida. Sou grato pelo exemplo de humildade, dedicação e perseverança que sempre carregarei comigo.

A toda minha família, que de alguma forma esteve presente me apoiando, incentivando e contribuindo para que eu pudesse alcançar mais esta conquista.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa e Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro, pela confiança, orientação, paciência e pelos conhecimentos compartilhados durante o desenvolvimento deste trabalho. A contribuição de vocês foi fundamental para minha formação acadêmica e profissional.

À Professora Dra. Meire Aparecida Silvestrini Cordeiro, agradeço pelo apoio, ensinamentos e incentivo ao longo da minha trajetória acadêmica e pela oportunidade de fazer parte do grupo PET Agroflorestal. Sua contribuição foi muito importante para minha formação profissional e pessoal.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, Kayky Gomes de Medeiros, Pedro Bithencorte, Wilker Kelvin, Gabriel Cândido Silva, Gabriella Silva de Gregori, João Pablo Weigert, Augusto Ferreira Batista, Fernanda Ganassim, Evelyn Boff, Evelyn Lacerda e Thiago Gonçalves, pela amizade, apoio e pelos momentos compartilhados ao longo dessa trajetória.

Ao grupo PET Agroflorestal do Campus de Chapadão do Sul, pelas oportunidades de aprendizado, experiências vividas e conhecimentos compartilhados durante a graduação.

À UFMS, campus de Chapadão do Sul, e a todos os professores, colegas e pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação acadêmica, pessoal e profissional.

Por fim, agradeço a todos que fizeram parte desta trajetória e contribuíram para que este sonho se tornasse realidade.

EPÍGRAFE

“Entrega ao Senhor as tuas obras, e teus
desígnios serão estabelecidos”.
(PROVÉRBIOS 16:3)

Metarhizium anisopliae e *Bacillus pumilus*: EFEITO DA EXPOSIÇÃO SOBRE O DESENVOLVIMENTO E PERFORMANCE DE CONTROLE.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da interação entre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* e o biofungicida à base de *Bacillus pumilus*. No primeiro bioensaio analisou-se a compatibilidade do fungo entomopatogênico com diferentes doses do biofungicida (100, 400 e 800 mL ha⁻¹), em 3 intervalos de tempo, 24, 48 e 72 horas antes e após a inoculação do fungo, avaliando o crescimento e a produção de conídios de *M. anisopliae*. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. Para análise dos parâmetros foram confeccionadas 4 placas, cada uma contendo 3 colônias de *M. anisopliae*. No segundo bioensaio, avaliou-se a performance do biofungicida (nas três doses) e do fungo entomopatogênico (suspensão de 1,0×10⁶ conídio mL⁻¹), em separado ou em mistura (biofungicida + fungo) pulverizadas sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda*, sendo analisado a mortalidade e a eficiência de cada tratamento. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, utilizando-se 30 lagartas por tratamento. Não foi verificado crescimento do fungo inoculado 24, 48 e 72 horas após a aplicação das doses de *B. pumillus*. Com a inoculação antes da aplicação do biofungicida, independente da dose, verificou-se redução no crescimento das colônias e na produção de conídios, exceto a produção de conídios após 72 horas. Ao se testar a bioatividade dos diferentes tratamentos com e sem mistura entre *M. anisopliae* e *B. pumillus* sobre as lagartas, não se verificou diferenças significativas nas taxas de mortalidade observadas, com a eficiência variado de 0,0 a 21,7%. Conclui-se que houve efeito das diferentes doses de *B. pumillus* no desenvolvimento de *M. anisopliae* e não houve interferência na performance do fungo quando misturado com o biofungicida, nas doses testadas, sobre a mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Fungo-entomopatogênico, Fungicida-microbiológico, Compatibilidade-microbiológica; *Spodoptera frugiperda*.

Metarhizium anisopliae and *Bacillus pumilus*: EFFECT OF EXPOSURE ON
DEVELOPMENT AND CONTROL PERFORMANCE.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the interaction between the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and a biofungicide based on *Bacillus pumilus*. In the first bioassay, the compatibility of the entomopathogenic fungus with different doses of the biofungicide (100, 400, and 800 mL ha⁻¹) was assessed at three time intervals (24, 48, and 72 hours before and after fungal inoculation), evaluating the growth and conidia production of *M. anisopliae*. The experimental design was completely randomized. For parameter analysis, four Petri dishes were prepared, each containing three colonies of *M. anisopliae*. From these, six colonies were randomly selected for data collection, which were subjected to analysis of variance, and the means were compared using the Scott-Knott test. In the second bioassay, the performance of the biofungicide (at the three doses) and the entomopathogenic fungus (suspension of 1.0×10^6 conidia mL⁻¹), applied separately or in combination (biofungicide + fungus), was evaluated by spraying onto *Spodoptera frugiperda* larvae. Mortality and treatment efficiency were analyzed. The experimental design was completely randomized, using 30 larvae per treatment. No fungal growth was observed at 24, 48, and 72 hours after application of *B. pumilus* doses. When inoculation occurred prior to the application of the biofungicide, regardless of the dose, a reduction in colony growth and conidia production was observed, except for conidia production at 72 hours. When evaluating the bioactivity of the different treatments, with and without the mixture of *M. anisopliae* and *B. pumilus* on larvae, no significant differences were found in mortality rates, with efficiency ranging from 0.0 to 21.7%. It was concluded that different doses of *B. pumilus* affected the development of *M. anisopliae*, but did not interfere with the performance of the fungus when mixed with the biofungicide, at the tested doses, regarding the mortality of *S. frugiperda* larvae.

Keywords: Entomopathogenic-fungus, Microbiological-fungicide,
Microbiological-compatibility; *Spodoptera frugiperda*.

LISTA DE FIGURAS

	Página
01. MORTALIDADE DIÁRIA ACUMULADA (%) DE LAGARTAS DE <i>S. FRUGIPERDA</i> EM FUNÇÃO DAS DIFERENTES DOSES DE <i>B. PUMILLUS</i> E SUAS MISTURAS COM O FUNGO <i>M. ANISOPLIAE</i>	20

LISTA DE TABELAS

	Página
01. RESPECTIVOS TRATAMENTOS E DOSES DO FUNGICIDA MICROBIOLÓGICO UTILIZADAS.....	14
02. CRESCIMENTO VEGETATIVO (CM) DE <i>M. ANISOPLIAE</i> EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE <i>B. PUMILUS</i> , 24, 48 E 72 HORAS APÓS A INOCULAÇÃO DO FUNGO.....	17
.....	
03. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS ($\times 10^7$) DE <i>M. ANISOPLIAE</i> EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE <i>B. PUMILUS</i> , 24, 48 E 72 HORAS APÓS A INOCULAÇÃO DO FUNGO.....	17
.....	
04. MORTALIDADE TOTAL (%) E EFICIÊNCIA (%) DOS DIFERENTES TRATAMENTOS SOBRE LAGARTAS DE <i>SPODOPTERA FRUGIPERDA</i>	18
.....	

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
2.1 EXPOSIÇÃO DE <i>M. anisopliae</i> À <i>B. pumilus</i>	14
2.2 PERFORMANCE DE <i>M. anisopliae</i> SOBRE LAGARTAS	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÃO.....	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1. INTRODUÇÃO

O Brasil figura entre os líderes mundiais na aplicação do controle biológico de pragas, destacando-se pela utilização intensiva de agentes microbiológicos nos sistemas de produção agrícola (Parra et al., 2023; IMARC GROUP, 2026).

Os microrganismos correspondem à maior parcela dos agentes de controle biológico utilizados, representando cerca de 80% dos bioinsumos empregados no país, sendo aplicados em mais de 194 milhões de hectares nos cultivos de soja, cana-de-açúcar, milho, algodão, café, feijão e hortaliças, evidenciando a rápida expansão desse mercado nos últimos anos (Parra *et al.*, 2022; MAPA, 2025).

O país apresenta crescimento expressivo no número de produtos biológicos registrados. Ao final de 2025, foram registrados mais de 900 produtos biológicos no país (AGROFIT, 2025), sendo liberados 162 novos bioinsumos somente nesse ano (MAPA, 2025). Do total de produtos biológicos, aqueles à base do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* representam parcela significativa, com mais de 150 produtos registrados no Brasil, sendo recomendados para o manejo de diversas pragas, presentes em culturas como cana-de-açúcar, alface, pastagens, laranja, algodão, milho, soja e diversas outras culturas agrícolas (AGROFIT, 2026).

Além da ação no controle de insetos-praga, estudos recentes demonstram que *M. anisopliae* pode atuar como endófito e promotor de crescimento vegetal, favorecendo a absorção de nutrientes, a indução de resistência a patógenos e insetos-praga, bem como o aumento da tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos, ampliando sua importância dentro do manejo integrado de pragas (Vega, 2023).

Outros microrganismos que também têm importante papel no controle biológico de pragas e doenças são as bactérias. O gênero *Bacillus* é o mais utilizado, sendo encontrado em diversos ambientes, como substratos do solo, superfície de plantas, grãos armazenados, rizosfera e insetos mortos (EMBRAPA, 2020). Podem agir de forma direta produzindo antibióticos, metabólitos, competindo por espaço e nutrientes e produzindo enzimas que degradam os componentes celulares, e indireta, beneficiando a planta (Tiwari *et al.*, 2019; Riceto, 2021). Outras vantagens desse gênero são a formação de endósporos, estruturas de resistência que conferem maior sobrevivência em condições ambientais adversas e maior estabilidade nas formulações comerciais, além da produção de lipopeptídeos, enzimas hidrolíticas, compostos voláteis antimicrobianos e mecanismos de antibiose capazes de suprimir diversos fitopatógenos, bem como induzir resistência sistêmica nas plantas (Dobrzyński *et al.*, 2023; Vasques *et al.*, 2024; Gayithri *et al.*, 2026).

Em relação à espécie de bactéria utilizada na pesquisa, *Bacillus pumilus* é encontrada atualmente em 15 produtos comerciais registrados, sendo recomendada principalmente para o controle de doenças de final de ciclo, como mancha-parda (*Septoria glycines*), mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*) e cretamento-foliar-de-cercospora (*Cercospora kikuchii*), na cultura da soja, além de aplicações em outras culturas agrícolas (AGROFIT, 2026).

Dentre as espécies de *Bacillus* que atuam no manejo de fitopatógenos, destaca-se *B. pumilus*. É encontrada principalmente no solo e na rizosfera, apresentando potencial no controle de doenças fúngicas de plantas. Sua ação ocorre predominantemente de forma preventiva, dificultando o estabelecimento e o progresso de patógenos, sendo também considerada uma bactéria promotora de crescimento vegetal (PGPR), contribuindo para o desenvolvimento radicular, maior absorção de nutrientes e maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (Riceto, 2021; Dobrzyński *et al.*, 2023; Vasques *et al.*, 2024).

Pragas manejadas com fungos entomopatogênicos, como *M. anisopliae*, podem ocorrer simultaneamente às doenças das plantas causadas por fungos fitopatogênicos, frequentemente manejadas com produtos microbiológicos à base de *B. pumilus*, favorecendo o contato entre esses microrganismos benéficos no campo. O uso combinado ou sequencial de bioinsumos tem se tornado cada vez mais comum dentro do manejo integrado de pragas (MIP) e doenças (MID), principalmente pela busca por sistemas mais sustentáveis e pela redução do uso de produtos fitossanitários químicos convencionais (Parra, 2023; Vasques *et al.*, 2024).

Dessa forma, a compatibilidade entre diferentes agentes biológicos é um fator determinante para o sucesso do manejo dos problemas fitossanitários e deve ser cuidadosamente avaliada. Interações entre microrganismos podem resultar em efeitos sinérgicos, neutros ou antagônicos, afetando diretamente o crescimento, a esporulação, a sobrevivência e a eficiência de controle dos agentes envolvidos. Dessa forma, não é possível generalizar a compatibilidade entre espécies distintas, mesmo de origem biológica, sendo necessário conhecer o comportamento específico de cada microrganismo durante o preparo de calda, formulação comercial, aplicação conjunta e aplicação sequencial no campo (Dobrzyński *et al.*, 2023; Vasques *et al.*, 2024).

Estudos recentes demonstram que produtos à base de *Bacillus* spp. podem apresentar ação inibitória sobre fungos entomopatogênicos devido à produção de metabólitos antimicrobianos, lipopeptídeos e compostos voláteis com efeito fungistático ou fungicida. Em bioensaio anterior, verificou-se que o biofungicida à base de *B. pumilus* não foi compatível com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* (Ferreira, 2023 – resultados não publicados),

interferindo em seu crescimento vegetativo e produção de conídios em uma simulação de aplicação conjunta.

Diante do exposto, esse trabalho objetivou verificar o efeito da exposição do fungo *M. anisopliae* a diferentes doses da bactéria *B. pumilus*, em diferentes períodos de tempo, além de verificar a performance das misturas dessas diferentes doses com o fungo quando aplicados sobre insetos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 EXPOSIÇÃO DE *M. anisopliae* À *B. pumilus*

Foram realizados bioensaios no Laboratório de entomologia no campus de Chapadão do Sul, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, com a utilização de produtos comerciais a base do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* (isolado IBCB 425) (Ma) e do fungicida microbiológico à base de *B. pumilus* (isolado CNPSO 3203) (Bio).

Foram confeccionadas placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo meio de cultura nutritivo batata-dextrose-água (BDA) solidificado, foram utilizados os diferentes tratamentos deste estudo, conforme descritos na (Tabela 1).

Tabela 1: Respective tratamentos e doses recomendadas utilizadas do fungicida microbiológico.

Tratamento	Dose do fungicida microbiológico*
Testemunha	Sem adição do produto
Tratamento 1	100 mL.ha ⁻¹ (dose mínima)
Tratamento 2	400 mL.ha ⁻¹ (dose média)
Tratamento 3	800 mL.ha ⁻¹ (dose máxima)

* Segundo Agrofite (2025) – informações contidas na bula do produto testado.

Os tratamentos foram pulverizados com auxílio de uma torre de Potter adaptada, com pressão de 1 atm, sendo utilizado volume de aplicação de 2 mL de uma suspensão contendo as diferentes doses do fungicida microbiológico, das seguintes formas:

- primeiramente com o fungicida microbiológico e, posteriormente, o entomopatógeno (após a evaporação do excesso de água das caldas aplicadas);
- primeiramente com o entomopatógeno e, posteriormente, o fungicida microbiológico.

Os tratamentos foram aplicados 24, 48 e 72 horas antes e após a inoculação do fungo.

Para a análise do crescimento vegetativo e da produção de conídios, foram confeccionadas 4 placas, cada uma contendo 3 colônias de *M. anisopliae*. Dessas, 3 colônias foram selecionadas aleatoriamente para a coleta dos dados, conforme metodologia descrita por Alves et al. (1998).

Após a inoculação do fungo e aplicação dos tratamentos, as placas de Petri foram incubadas por 7 dias em câmara tipo BOD a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Após este período, 6 colônias foram aleatoriamente escolhidas para as avaliações Alves et al. (1998). Inicialmente foi efetuada a medição do diâmetro médio das colônias (em centímetros) e posteriormente a contagem dos conídios produzidos. As colônias medidas foram retiradas das placas, juntamente com o meio de cultura e transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada (ADE) mais espalhante adesivo (Tween 80 a 0,1%), sendo então feitas as diluições necessárias na suspensão fúngica original para a contagem do número de conídios em câmara de Neubauer (Alves *et al.*, 1998).

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. Os dados referentes ao crescimento vegetativo e produção de conídios foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$, sendo submetidos a análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

2.2 PERFORMANCE DE *M. anisopliae* SOBRE LAGARTAS

A criação de *Spodoptera frugiperda* foi realizada com base em metodologias adaptadas de Parra (2001), Pinto *et al.* (2019) e Ramos *et al.* (2022). Após a eclosão, as lagartas foram individualizadas em recipientes plásticos contendo dieta artificial a base de feijão branco (Greene *et al.* 1976) e mantidas em câmara climatizada do tipo BOD, sob temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A dieta foi substituída periodicamente para garantir condições adequadas ao desenvolvimento larval.

Após a pupação, realizou-se a sexagem das pupas, que foram transferidas para unidades de reprodução contendo proporções equilibradas entre machos e fêmeas, com predominância destas para favorecer a oviposição. Os adultos receberam dieta pastosa a base de lêvedo de cerveja e mel (em proporções iguais) e permaneceram sob as mesmas condições ambientais. As posturas foram coletadas diariamente e os ovos mantidos em recipientes separados até a eclosão.

As lagartas neonatas foram individualizadas com auxílio de pincel de cerdas finas e transferidas para recipientes contendo dieta artificial. O ciclo foi repetido até a obtenção de três

gerações em laboratório, visando reduzir possíveis efeitos residuais de tratamentos anteriores e fatores de estresse da população inicial coletada em campo, evitando interferências nos resultados experimentais (Parra, 2001; Pinto *et al.*, 2019; Ramos *et al.*, 2022).

Os testes de performance de *M. anisopliae* englobaram 8 tratamentos (uma suspensão fúngica (Ma) contendo $1,0 \times 10^6$ conídios/mL; 3 doses do fungicida microbiológico – Tabela 1 – mais as misturas do fungo Bio 100 + Ma; Bio 400 + Ma; Bio 800 + Ma; 3 doses do fungicida microbiológico Bio 100 + Bio 400 + Bio 800; testemunha), cada um contendo 30 insetos. Como alvo biológico dessas aplicações foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda*, com tamanho entre 0,7 e 1,0 cm de comprimento.

As lagartas foram pulverizadas, em torre de Potter adaptada, com pressão de 1 atm, com 1,0 mL da suspensão fúngica. Após, foram individualizadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) e mantidas em câmara climatizada tipo BOD a $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas, adicionando-se diariamente dieta artificial para alimentação. As avaliações foram efetuadas diariamente até o final do desenvolvimento dos insetos, quando possível, sendo calculada a porcentagem de mortalidade diária, total e a eficiência de cada tratamento pela fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. Para análise da porcentagem de mortalidade total das lagartas os dados foram transformados em $\arcsen (x/100)^{1/2}$, sendo submetidos a análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo *M. anisopliae* inoculado 24, 48 e 72 horas após a aplicação de *B. pumilus*, não apresentou desenvolvimento, não ocorrendo crescimento e produção de conídios. Quando a inoculação ocorreu 24, 48 e 72 horas antes da aplicação de *B. pumilus*, verificou-se desenvolvimento do fungo, com crescimento vegetativo e produção de conídios (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Crescimento vegetativo (cm) de *M. anisopliae* em função da aplicação de *B. pumilus*, 24, 48 e 72 horas após a inoculação do fungo

Tratamento**	24 horas	48 horas	72 horas	CV (%)
Testemunha	3,36 a	3,36 a	3,36 a	—
100 mL ha ⁻¹	2,00 bA	1,87 bA	1,67 bA	4,91
400 mL ha ⁻¹	2,65 bA	1,92 bB	1,52 bC	3,81
800 mL ha ⁻¹	2,47 bA	1,80 bB	1,70 bB	0,83
CV (%)	5,05	2,56	2,87	—

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, 5% de probabilidade.

**Diferentes doses de *B. pumilus*.

Tabela 3. Produção de conídios ($\times 10^7$) de *M. anisopliae* em função da aplicação de *B. pumilus*, 24, 48 e 72 horas após a inoculação do fungo

Tratamento**	24 horas	48 horas	72 horas	CV (%)
Testemunha	24,16 a	24,16 a	24,16 b	—
100 mL ha ⁻¹	0,48 bB	0,17 bB	91,60 aA	18,51
400 mL ha ⁻¹	0,52 bB	0,74 bB	76,25 aA	19,86
800 mL ha ⁻¹	1,93 bB	2,14 bB	95,00 aA	20,81
CV (%)	33,52	33,00	13,64	—

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, 5% de probabilidade.

**Diferentes doses de *B. pumilus*.

Nessa forma de exposição, independente da dose de *B. pumilus*, dentro de cada período de aplicação, houve redução no crescimento das colônias de *M. anisopliae*, em relação a tratamento testemunha (sem aplicação). Entre as doses, não foi observado efeito significativo nesse parâmetro (Tabela 2).

Em relação ao crescimento vegetativo, nos três períodos de tempo avaliados para cada dose de *B. pumilus*, apenas a de 100 mL ha⁻¹ não apresentou efeito significativo. Nas demais observou-se redução significativa nesse parâmetro, nos três períodos de tempo, para a dose de 400 e, entre 24 e os demais períodos, para a dose de 800 (Tabela 2).

A produção de conídios dentro de cada período de inoculação, independente da dose de *B. pumilus*, reduziu significativamente, em relação a testemunha, exceto quando houve aplicação do biofungicida 72 horas após a inoculação do fungo. Nesse caso, todas as doses

testadas de *B. pumilus* testadas promoveram incremento na produção de conídios, significativamente superior a testemunha (Tabela 3).

Houve efeito da exposição de *M. anisopliae* em relação ao tempo de aplicação do biofungicida. Verificou-se, para todas as doses, valores significativamente superiores para o tempo de 72 horas em relação aos demais (Tabela 3). Outro efeito observado, quando das avaliações da produção de conídios em microscópio óptico, foi a redução no tamanho dessas estruturas quando *M. anisopliae* foi exposto ao biofungicida.

Ao se testar a bioatividade dos diferentes tratamentos, com e sem mistura entre *M. anisopliae* e *B. pumilus*, sobre lagartas de *S. frugiperda*, não se verificaram diferenças nas taxas de mortalidade observadas, com eficiência variando de 0,0 a 21,7% (Tabela 4), evidenciando baixa sensibilidade das lagartas a essa espécie de fungo.

Tabela 4. Mortalidade total (%) e eficiência (%) dos diferentes tratamentos sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Tratamento**	Mortalidade Total (%)	Eficiência (%)
Testemunha	23,3 a	—
Bio 100 mL ha ⁻¹	36,7 a	17,4
Bio 400 mL ha ⁻¹	16,7 a	0,0
Bio 800 mL ha ⁻¹	33,3 a	13,0
Bio 100 mL ha ⁻¹ + Ma	26,7 a	4,3
Bio 400 mL ha ⁻¹ + Ma	33,3 a	13,0
Bio 800 mL ha ⁻¹ + Ma	26,7 a	4,3
Ma	40,0 a	21,7
CV (%)	49,42	—

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, 5% de probabilidade.

**Ma (*M. anisopliae*); Bio 100 (*B. pumilus* na dose de 100 mL ha⁻¹); Bio 400 (*B. pumilus* na dose de 400 mL ha⁻¹); Bio 800 (*B. pumilus* na dose de 800 mL ha⁻¹).

Esse resultado pode estar relacionado às características da cutícula de *S. frugiperda*, especialmente à composição do complexo lipídico presente na epicutícula, formado por hidrocarbonetos, ácidos graxos, ésteres e ceras, que atua como uma barreira física e química à adesão, germinação e penetração dos conídios. Além disso, alguns desses compostos podem apresentar efeito fungistático ou fungicida, reduzindo a eficiência da infecção pelo entomopatógeno. Dessa forma, a composição química da superfície cuticular representa um

importante fator de resistência natural de *S. frugiperda* à infecção por fungos entomopatogênicos, podendo explicar as baixas taxas de mortalidade observadas neste estudo. Também ficou evidente que os efeitos negativos verificados pela exposição do fungo a bactéria no bioensaio de compatibilidade, não apresentaram reflexos significativos na mortalidade das lagartas.

Além disso, ficou demonstrado que *B. pumilus* apresenta patogenicidade às lagartas de *S. frugiperda* (Tabela 4). Ressalta-se, entretanto, que a baixa sensibilidade observada para *S. frugiperda* não reflete a eficiência de *M. anisopliae* sobre outros insetos-praga. Esse fungo entomopatogênico está entre os principais agentes de controle biológico utilizados no Brasil, com mais de 150 produtos comerciais registrados, sendo recomendado para o manejo de diversas espécies de importância agrícola, como a cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*), o tripses (*Frankliniella occidentalis*), a cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta*), o percevejo-verde (*Nezara viridula*) e a broca-dos-citros (*Diploschema rotundicolle*), entre outras. Esses registros evidenciam que a baixa eficiência observada no presente estudo está provavelmente relacionada à menor suscetibilidade de *S. frugiperda* às condições avaliadas, e não a uma limitação do potencial entomopatogênico de *M. anisopliae*.

Em relação a mortalidade ao longo do bioensaio, esta se iniciou no 1º dia após a aplicação dos tratamentos, sendo verificada até o 27º dia, para lagartas tratadas apenas com o *M. anisopliae*. Os demais tratamentos proporcionaram o seu máximo de mortalidade antes desse período (Figura 1).

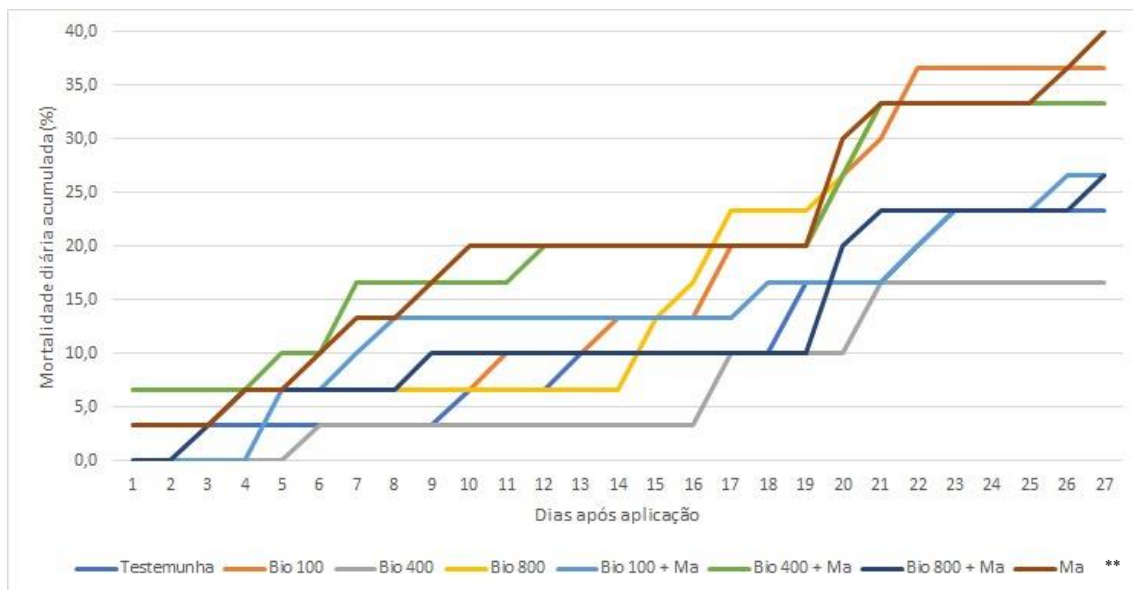


Figura 1. Mortalidade diária acumulada (%) de lagartas de *S. frugiperda* em função das diferentes doses de *B. pumillus* e suas misturas com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae*. **Ma (*M. anisopliae*); Bio 100 (*B. pumilus* na dose de 100 mL ha⁻¹); Bio 400 (*B. pumilus* na dose de 400 mL ha⁻¹); Bio 800 (*B. pumilus* na dose de 800 mL ha⁻¹).

O pico de mortalidade, considerando todos os tratamentos, foi registrado no 20º dia, com 12 óbitos contabilizados

De acordo com Aldiba e Escov *et al.* (2019), estudos *in vitro* são essenciais para o *screening* de microrganismos destinados ao controle biológico de fitopatógenos, uma vez que há variação na capacidade de promoção de crescimento e na atividade antimicrobiana entre diferentes isolados, como observado na (tabela 2). Além disso, espécies de *Bacillus*, especialmente *B. pumilus*, apresentam elevada estabilidade ambiental devido à formação de endósporos, bem como pela produção de lipopeptídeos, sideróforos e enzimas hidrolíticas que ampliam sua eficiência como agentes de biocontrole e promotores de crescimento vegetal (Dobrzyński *et al.*, 2023; Vasques *et al.*, 2024).

Estudos *in vitro* demonstraram a ação inibitória de *B. subtilis* e de outros microrganismos antagonistas sobre o desenvolvimento de espécies do fungo *Alternaria* spp, como verificado por Souza (2018), que observou efeito de isolados de *Bacillus* sp. sobre o desenvolvimento dessa espécie de fungo fitopatogênico, por meio da produção de metabólitos tóxicos, atuando por antibiose. Resultados semelhantes, como ação fungistática (como observado na (Tabela 2)) e fungicida (como observado no experimento, não foi possível verificar tanto o crescimento vegetativo do fungo quanto sua produção de conídios, quando a aplicação da bactéria foi realizada nos intervalos de tempo antes da inoculação do fungo), foram

observados para *B. pumilus* sobre algumas espécies de fungos fitopatogênicos. Tais efeitos estão associados a produção de compostos como surfactina, fengicina e iturina, capazes de comprometer a integridade da parede celular e da membrana fúngica (Dobrzyński *et al.*, 2023).

Além de *B. pumilus*, *B. subtilis* e *B. megaterium* também apresentam ação antagônica *in vitro* contra fungos (Tozlu *et al.*, 2018). Aldiba e Escov *et al.* (2019) avaliaram a ação de *B. mycoides* e *B. thuringiensis*, além de *Pseudomonas brassicacearum* e *Trichoderma* sp., constatando que *P. brassicacearum* e *B. thuringiensis* reduziram significativamente o crescimento de *A. solani*, com efeito protetivo mais pronunciado quando o antagonista foi aplicado antes do patógeno, de forma similar ao ocorrido no presente estudo. Resultados semelhantes foram observados por Vasques *et al.* (2024), os quais destacam que a aplicação prévia de bactérias do gênero *Bacillus* favorece a colonização do ambiente e intensifica a competição por nutrientes e espaço, potencializando o efeito antagonista sobre fungos fitopatogênicos.

Segundo Lazzaretti, Menten e Bettiol (1994), os fungos podem apresentar sensibilidade reduzida aos metabólitos produzidos por *B. subtilis* e, tal resposta está associada ao isolado utilizado da bactéria. Diversos fatores podem influenciar o crescimento micelial dos fungos na presença desses compostos, como a quantidade de metabólitos produzidos, a sensibilidade dos patógenos, processos de adaptação ou resistência, degradação enzimática dos compostos, volatilização e variações na composição química dos metabólitos. Além desses fatores, a concentração aplicada e as condições ambientais também podem afetar as interações entre a bactéria e os fungos, não sendo possível generalizar a compatibilidade ou não entre microrganismos distintos (Dobrzyński *et al.*, 2023).

O efeito inibitório sobre fungos entomopatogênicos também foi observado quando *B. pumilus* foi utilizado como endófito em plantas de mandioca (Melo *et al.*, 2005), corroborando os resultados obtidos no presente estudo. Além disso, essa espécie pode atuar como rizobactéria promotora de crescimento vegetal (PGPR), contribuindo para o desenvolvimento radicular, aumento da absorção de nutrientes e indução de resistência sistêmica, além do controle direto de patógenos, o que amplia sua relevância no manejo fitossanitário das culturas (Vasques *et al.*, 2024).

Na presente pesquisa, o efeito inibitório verificado no desenvolvimento de *M. anisopliae*, mais intensamente quando a inoculação do fungo ocorreu após a aplicação do biofungicida, pode estar associada a colonização prévia do ambiente pela bactéria, favorecendo a produção de metabólitos antimicrobianos, que pode ter dificultado o estabelecimento do

fungo, intensificando os efeitos de antibiose e competição (Dobrzyński *et al.*, 2023; Vasques *et al.*, 2024). Tais efeitos foram reduzidos, quando o fungo teve a chance de iniciar o desenvolvimento antes da aplicação da bactéria (Tabela 2).

A limitada disponibilidade de estudos na literatura sobre a interação entre *B. pumilus* e *M. anisopliae* restringe comparações diretas. Ainda assim, o resultado verificado para a maior dose de *B. pumilus* em relação à produção de conídios de *M. anisopliae* (Tabela 3), caracterizado pelo aumento da produção dessas estruturas, é consistente com o comportamento observado para outras espécies de fungos entomopatogênicos em estudos semelhantes (Moino Jr.; Alves, 1998; Batista Filho *et al.*, 2001; Alves; Lopes, 2008). Segundo esses autores o microrganismo, num mecanismo de adaptação fisiológica, pode metabolizar os compostos tóxicos presentes no meio de cultura, como nutrientes secundários, promovendo incrementos no crescimento vegetativo e conidiogênese. Essa plasticidade fisiológica pode estar associada à adaptação metabólica frente a compostos tóxicos, permitindo a manutenção da virulência mesmo sob condições de estresse microbiológico (Vega, 2023).

Outra possibilidade é que o fungo, em resposta à presença de um princípio tóxico capaz de alterar significativamente seu ambiente e prejudicar seu desenvolvimento, direcione parte de seus recursos fisiológicos para mecanismos de adaptação e sobrevivência. Esse comportamento pode resultar em alterações no crescimento vegetativo e na produção de conídios, como forma de garantir sua perpetuação sob condições adversas (Moino Jr; Alves, 1998; Batista Filho; Almeida; Lamas, 2001).

Do ponto de vista prático, os resultados obtidos sugerem que a utilização conjunta de *B. pumilus* e *M. anisopliae* deve ser realizada com cautela em programas de manejo integrado. Embora a bactéria apresente reconhecido potencial como agente de biocontrole e promotor de crescimento vegetal, sua aplicação prévia pode comprometer o estabelecimento de fungo, em razão dos efeitos de antibiose, antagonismo e competição, como os observados neste estudo. Dessa forma, quando houver necessidade do uso de ambos os microrganismos, recomenda-se a aplicação escalonada, permitindo que o fungo se estabeleça antes da introdução da bactéria. Com base nos resultados obtidos, intervalos mínimos de 72 horas entre as aplicações podem reduzir os efeitos negativos observados nos testes *in vitro*, como o observado na presente pesquisa.

Outra estratégia seria a utilização dos agentes em diferentes nichos ecológicos da cultura, explorando a complementaridade de seus modos de ação. Nesse contexto, *B. pumilus* seria aplicado preferencialmente via tratamento de sementes ou no solo, favorecendo sua

colonização da rizosfera e do sistema radicular, além de seus efeitos como promotor de crescimento vegetal. Já *M. anisopliae* poderia ser utilizado tanto em aplicações foliares quanto no solo, visando o controle de insetos-praga presentes em diferentes fases do ciclo da cultura e ampliando seu potencial de estabelecimento no ambiente

Adicionalmente, estudos em condições de campo são necessários para verificar se as interações observadas em laboratório se reproduzem sob condições naturais, onde fatores ambientais, diluição dos metabólitos produzidos e a complexidade da microbiota podem modificar a intensidade dessas interações.

4. CONCLUSÃO

Houve efeito das diferentes doses de *B. pumilus* no desenvolvimento do fungo *M. anisopliae*.

Não houve interferência na performance de *M. anisopliae*, quando misturado com *B. pumilus* nas doses testadas, sobre a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*.

Com base nos resultados obtidos, recomenda-se a adoção de intervalos mínimos de 72 horas entre as aplicações desses agentes, visando reduzir os efeitos negativos observados nos testes *in vitro*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 18, n. 1, p. 265–267, 1925. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura e Pecuária. Brasília, DF, 2026. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br>. Acesso em: 22 abr. 2026.

Aldiba, A. A.; Escov, B. M. Antagonistic effect of bacterial and fungal microorganisms against *Alternaria solani*. *Journal of Plant Protection Research*, Warsaw, v. 59, n. 3, p. 312–320, 2019.

Alves, S. B.; Lopes, R. B. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba: FEALQ, 2008.

Alves, S. B.; Moino Junior, A.; Almeida, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: Alves, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217–238.

Batista Filho, A.; Almeida, J. E. M.; Lamas, C. Compatibilidade de defensivos agrícolas com fungos entomopatogênicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 15–20, 2001. Disponível em: <https://www.biologico.sp.gov.br>. Acesso em: 8 jun. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Mapa divulga balanço anual de registros de agrotóxicos e bioinsumos em 2025. Brasília, DF, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 22 abr. 2026.

Dobrzyński, J.; Jakubowska, Z.; Kulkova, I.; Kowalczyk, P.; Kramkowski, K. Biocontrol of fungal phytopathogens by *Bacillus pumilus*. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 14, 1194606, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1194606>

EMBRAPA. Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes>. Acesso em: 8 jun. 2026.

Gayithri, M.; Singh, S.; Pradhan, B.; Boorla, V.; Chand, S. Multifunctional roles of *Bacillus* spp. in sustainable agriculture: advances in biocontrol, omics, and ecological applications. *Microbial Ecology*, New York, v. 89, art. 55, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-026-02709-2>.

Greene, G. L.; Leppla, N. C.; Dickerson, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 69, p. 487–488, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/69.4.487>

IMARC GROUP - Biocontrol and biostimulants LATAM 2: Brazil Biocontrol Agents Market. Innovative pest and disease management for Latin American agriculture. [S. l.]: Informa UK, 2026. Disponível em: <https://www.imarcgroup.com/brazil-biocontrol-agents-market>

Lazzaretti, E.; Menten, J. O. M.; Bettiol, W. Efeito de isolados de *Bacillus subtilis* sobre fungos associados a sementes de feijão e trigo. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 20, n. 3-4, p. 180–185, 1994.

Melo, F. M. P. Influência de bactérias endofíticas no controle de fungos fitopatogênicos em mandioca. 2005. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

Moino Junior, A.; Alves, S. B. Compatibilidade de produtos fitossanitários com fungos entomopatogênicos. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 27, n. 2, p. 305–311, 1998.

Parra, J. R. P. Biological control in Brazil: state of art and perspectives. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 80, e20230080, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2023-0080>

Parra, J. R. P. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. 6. ed. Piracicaba: FEALQ, 2001.

Parra, J. R. P.; Garcia, A. G.; Diniz, A. J. F.; Bento, J. M. S. Sustainability in Brazilian citriculture: three decades of successful biological control of insect pests. *Frontiers in Agronomy*, Lausanne, v. 4, 874188, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.874188>

Pinto, J. R. S.; Torres, A. F.; Truzzi, C. C.; Vacari, A. M.; De Bortoli, S. A. Artificial corn-based diet for rearing *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Science*, Oxford, v. 19, n. 4, p. 1–7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez052>

Ramos, R. S.; Rodrigues, J. V. S.; Silva, F. B.; Santos, A. A.; Pereira, E. J. G. Development, survival and reproduction of *Spodoptera frugiperda* under controlled laboratory conditions. *Insects*, Basel, v. 13, n. 5, p. 428, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects13050428>

Riceto, M. P. Controle biológico de *Alternaria dauci* com *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* em sementes de cenoura. 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/217376>. Acesso em: 8 jun. 2026.

Souza, A. C. Avaliação da atividade antagonista de isolados de *Bacillus* spp. sobre *Alternaria alternata*. 2018. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

Tiwari, S.; Prasad, V.; Lata, C. *Bacillus*: plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In: Shankar, S.; Singh, D. P. (ed.). *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 43–55.

Tozlu, E.; Tozlu, G.; Dogan, A.; Dogan, M. Biological control of *Alternaria alternata* by *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* and *Bacillus megaterium*. *Fresenius Environmental Bulletin*, Freising, v. 27, n. 1, p. 86–92, 2018.

Vasques, N. C.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. Increasing application of multifunctional *Bacillus* for biocontrol of pests and diseases and plant growth promotion: lessons from Brazil. *Agronomy*, Basel, v. 14, n. 8, 1654, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy14081654>

Vega, F. E. The use of fungal entomopathogens as endophytes in agriculture: recent advances and future directions. *Frontiers in Fungal Biology*, Lausanne, v. 4, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/ffunb.2023.1243357>.

