

RESPONSIVIDADE DE GENITORES E HÍBRIDOS DE MILHO-  
PIPOCA À MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum*  
*brasilense* EM CONDIÇÃO LIMITADA DE NITROGÊNIO.

**RYSLEY FERNANDES DE SOUZA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO – 2025

RESPONSIVIDADE DE GENITORES E HÍBRIDOS DE MILHO-  
PIPOCA À MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum*  
*brasilense* EM CONDIÇÃO LIMITADA DE NITROGÊNIO.

**RYSLEY FERNANDES DE SOUZA**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Genética e Melhoramento de  
Plantas.”

Orientador: Prof. Silvaldo Felipe da Silveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO – 2025

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

S729

Souza, Rysley Fernandes de.

Responsividade de genitores e híbridos de milho-pipoca à microbiolização das sementes com *Azospirillum brasilense* em condição limitada de nitrogênio / Rysley Fernandes de Souza. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

78 f. : il.

Bibliografia: 56 - 66.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.  
Orientador: Silvaldo Felipe da Silveira.

1. Bioinoculação. 2. melhoramento vegetal. 3. sustentabilidade. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

RESPONSIVIDADE DE GENITORES E HÍBRIDOS DE MILHO-  
PIPOCA À MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum*  
*brasilense* EM CONDIÇÃO LIMITADA DE NITROGÊNIO.

**RYSLEY FERNANDES DE SOUZA**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Genética e Melhoramento de  
Plantas”

Aprovada em 26 de fevereiro de 2025

Comissão examinadora:



Documento assinado digitalmente  
VALTER JARIO DE LIMA  
Data: 06/03/2025 18:14:31-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Prof. Valter Jário de Lima (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UVA

---

Dr. Yure Pequeno de Souza (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

---

Prof. Marcelo Vivas (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

---

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D. Sc., Fitopatologia) - UENF  
(Orientador)

## DEDICATÓRIA

A DEUS!

Aos meus amados pais, Maria Joelma e Francisco Neto.

Aos meus queridos irmãos, Raidones Fernandes e Ranaria Fernandes.

A meu sobrinho Pedro Henrique e aos meus cunhados Dyeslon Custódio e Larissa Antunes.

Ao meu avô Elicio Alves de Lima (*in memoriam*).

À minha fiel companheira, Luiza Antunes.

*Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela sabedoria, força, paz e saúde. A minha maior referência de amor. Ele é presença constante e luz que ilumina meus passos a trilhar pelos melhores caminhos!

A toda minha família pela força e confiança, eu agradeço e desejo, com todo amor, o melhor que a vida pode oferecer. Cada um tem um lugar especial no meu coração, minha admiração e gratidão;

Aos amigos que me acompanharam até aqui e aos que encontrei durante esta jornada e a todos que torceram e contribuíram com essa e outras conquistas alcançadas em minha vida, meu muito obrigado, vocês são muito especiais para mim;

Ao meu orientador, prof. Silvaldo Felipe da Silveira, pelos ensinamentos, pela confiança e orientação, pelo apoio e incentivo na minha formação e realização do presente trabalho;

Aos meus conselheiros, prof. Marcelo Vivas e prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior, agradeço a contribuição no trabalho e na minha formação e ao prof. Valter Jário de Lima pela colaboração e amizade;

Ao Dr. Yure Pequeno de Souza pelo apoio e amizade, foi um dos idealizadores do presente trabalho em todas as etapas, sendo fundamental para o sucesso no alcance dos objetivos pretendidos;

Ao prof. Fábio Olivares pela grande contribuição no direcionamento e idealização do projeto de pesquisa;

Aos professores da Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, em especial, prof. Dr. Messias Pereira; profa. Dra. Telma Nair; profa. Dra. Rosana Rodrigues; profa. Dra. Helaine Ramos; prof. Dr. Geraldo Gravina; prof. Dr. Rogério Daher e prof. Dr. Alexandre Pio Viana;

Aos servidores da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em especial ao secretário José Daniel Valle de Almeida;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade e estrutura fornecida;

À empresa BIOTROP Soluções em Tecnologias Biológicas pelo fornecimento do produto AZOTOTAL utilizado na pesquisa e por todo o suporte prestado para a execução do projeto;

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pela concessão da bolsa de estudo e auxílio financeiro para realização da pesquisa;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	4
2.1 Objetivo Geral .....	4
2.2 Objetivos Específicos.....	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
3.1 Aspectos gerais do milho-pipoca .....	5
3.2 Bactérias promotoras do crescimento de plantas - BPCP .....	6
3.3 Doença fúngicas causadas por <i>Bipolaris maydis</i> e <i>Fusarium verticillioides</i> . 7	
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
4.1 Identificação da área experimental e material genético .....	10
4.2 Delineamento experimental e caracterização dos ambientes .....	12
4.3 Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> .....	13
4.4 Avaliação de características agronômicas .....	14
4.5 Avaliação de características de resistência a doenças fúngicas.....	15
4.5.1 Avaliação da incidência e severidade de mancha de <i>Bipolaris</i> (MB) ..	15
4.5.2 Avaliação da incidência e severidade de podridão de espiga (FER) ..	16
4.6 Análises estatísticas.....	17
4.6.1 Análise de variância .....	17
4.6.2 Teste de média, índice de eficiência da inoculação e variação percentual.....	18

<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
5.1 Efeito da inoculação de <i>A. brasilense</i> em características agronômicas de milho-pipoca e seleção de híbridos.....	20
5.2 Estimativas das capacidades combinatórias para rendimento de grãos e capacidade de expansão de híbridos e genitores de milho-pipoca.....	34
5.3 Efeito da inoculação de <i>A. brasilense</i> na resistência genética a doenças fúngicas.....	41
5.3.1 <i>Azospirillum brasilense</i> x <i>Bipolaris maydis</i> .....	41
5.3.2 <i>Azospirillum brasilense</i> x <i>Fusarium verticillioides</i> .....	49
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	55
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	56

## RESUMO

SOUZA, Rysley Fernandes; D.Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Responsividade de genitores e híbridos de milho-pipoca à microbiolização das sementes com *Azospirillum brasilense* em condição limitada de nitrogênio; Orientador: D.Sc. Silvaldo Felipe da Silveira; Conselheiros: D.Sc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e D.Sc. Marcelo Vivas.

Bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), como por exemplo, *Azospirillum brasilense*, possuem, dentre outras características benéficas, a capacidade de capturar o nitrogênio atmosférico e disponibilizá-lo às plantas, colonizando as plantas endofiticamente ou no microambiente rizosférico. A microbiolização das sementes de gramíneas com bactérias diazotróficas tem resultado em ganhos de produtividade, conferindo maior sustentabilidade agrícola, pela redução dos custos de produção e ambientais, e maior resiliência às plantas cultivadas aos estresses ambientais crescentes. Todavia, o melhoramento genético dessas culturas pode estar negligenciando o uso de bioinoculantes nos ciclos de seleção, desconsiderando a ação desses na resposta genética vegetal, a qual varia em função das condições edafoclimáticas e de cultivo. Em experimentos a campo, investigou-se o efeito da inoculação de sementes de genótipos de milho-pipoca com *A. brasilense* em baixa disponibilidade de nitrogênio, avaliando-se: i) características agronômicas de híbridos; ii) estimativas das capacidades combinatórias das linhagens parentais e iii) a influência da inoculação de *A. brasilense* sobre a resistência genética de híbridos de milho-pipoca às doenças

mancha de *Bipolaris* (MB) e podridão da espiga (FER). Com esse trabalho, foi possível identificar genótipos responsivos e não responsivos à inoculação de *A. brasilense*, quanto a características agronômicas e de resistência às doenças MB e FER de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em duas épocas (verão e inverno), sob três condições de manejo (ambientes): disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo). Foi possível constatar que a microbiolização das sementes com *A. brasilense* incrementou significativamente as médias gerais das variáveis: rendimento de grãos (+20,5%), prolificidade (+12,8%), comprimento de espiga (+9,7%) e altura de plantas (+8,4%) e causou uma ligeira redução em florescimento feminino (-3,3%) e capacidade de expansão (-0,4%). Foram observadas alterações nas estimativas das capacidades combinatórias gerais (CGC) e específica (CEC) das linhagens nos diferentes ambientes, indicando que a inoculação influencia na forma com a qual os genótipos contribuem com alelos favoráveis para expressão das características rendimento de grãos (RG) e capacidade de expansão (CE). Quanto a seleção de genótipos responsivos à inoculação por *A. brasilense*, o híbrido L326xL690 demonstrou boa *performance* para RG e CE, simultaneamente, os testadores L76 e L690 e as linhagens L698 e L381 tiveram a melhor *performance* para RG, enquanto para CE, destacaram-se os testadores L690 e L322 e as linhagens L326 e L217. Na avaliação de doenças, a MB no ambiente BN+Azo obteve médias de severidade de mancha de *Bipolaris* (SMB) menores em comparação ao ambiente IN. Para a FER, a média de incidência de podridão de espiga (SFER) para o BN+Azo e BN foi inferior à média observada no ambiente IN. Conclui-se que o uso do bioinoculante *A. brasilense* deve ser considerado na avaliação da resposta genética a características agronômicas e de resistência a doenças do milho-pipoca a campo.

**Palavras-chave:** Bioinoculação, melhoramento vegetal, sustentabilidade.

## ABSTRACT

SOUZA, Rysley Fernandes; D.Sc; State University of the North Fluminense Darcy Ribeiro; february 2025; Responsiveness of popcorn maize parents and hybrids to seed microbiolization with *Azospirillum brasilense* under nitrogen-limited conditions; Advisor: D.Sc. Silvaldo Felipe da Silveira; Co-advisors: D.Sc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior and D.Sc. Marcelo Vivas.

Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB), such as *Azospirillum brasilense*, possess several beneficial traits, including the ability to capture atmospheric nitrogen and make it available to plants by colonizing them endophytically or within the rhizospheric microenvironment. The microbiolization of grass seeds with diazotrophic bacteria has resulted in productivity gains, promoting greater agricultural sustainability by reducing production and environmental costs and increasing the resilience of cultivated plants to growing environmental stresses. However, the genetic improvement of these crops may be neglecting the use of bioinoculants in selection cycles, disregarding their effects on plant genetic responses, which vary depending on edaphoclimatic and cultivation conditions. In field experiments, the effect of seed inoculation of popcorn maize genotypes with *A. brasilense* under low nitrogen availability was investigated, assessing: i) the agronomic characteristics of hybrids; ii) estimates of the combining abilities of parental lines; and iii) the influence of *A. brasilense* inoculation on the genetic resistance of popcorn maize hybrids to *Bipolaris* leaf spot (BLS) and *Fusarium* ear rot (FER). Through this study, it was possible to identify genotypes that were either

responsive or non-responsive to *A. brasilense* inoculation in terms of agronomic traits and resistance to BLS and FER in 28 popcorn maize hybrids evaluated in two growing seasons (summer and winter) under three management conditions (environments): ideal nitrogen availability (IN), low nitrogen availability (LN), and low nitrogen with *A. brasilense* inoculation (LN+Azo). It was observed that seed microbiolization with *A. brasilense* significantly increased the overall averages for grain yield (+20.5%), prolificacy (+12.8%), ear length (+9.7%), and plant height (+8.4%), while slightly reducing female flowering time (-3.3%) and expansion capacity (-0.4%). Changes were observed in the estimates of general (GCA) and specific (SCA) combining abilities of the lines across different environments, indicating that inoculation influences how genotypes contribute favorable alleles for the expression of grain yield (GY) and expansion capacity (EC). Regarding the selection of genotypes responsive to *A. brasilense* inoculation, the hybrid L326xL690 demonstrated good performance for both GY and EC simultaneously, testers L76 and L690, as well as lines L698 and L381, showed the best performance for GY, while for EC, testers L690 and L322 and lines L326 and L217 stood out. In the disease evaluation, the BLS severity (SBL) was lower in the LN+Azo environment compared to IN. Regarding FER, the average incidence of ear rot (SFER) in the LN+Azo and LN environments was lower than that observed in the IN environment. It is concluded that the use of the *A. brasilense* bioinoculant should be considered when evaluating genetic responses related to agronomic traits and disease resistance in field-grown popcorn maize.

**Keywords:** Bioinoculation, plant breeding, sustainability.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante a segunda metade do século XX, os incrementos no rendimento das safras de cereais demandaram um aumento considerável na produção e aplicação de fertilizante de nitrogênio (N) sintético, porém, mesmo sendo um nutriente altamente requerido para a produção das culturas, aproximadamente metade do que é aplicado é perdido para o meio ambiente na forma de poluentes aquáticos ou atmosféricos (Zhang et al., 2015). Além disso, a utilização de fertilizantes à base de N é um fator preponderante nas emissões de gases do efeito estufa (GEE) provenientes da agricultura (Hungria et al., 2022). De acordo com a FAO (2020), o Brasil teve um aumento no uso de fertilizantes nitrogenados acima de 200% entre 2000 e 2018, correspondendo a 4,7% da demanda global de adubos nitrogenados.

A substituição do uso de fertilizantes sintéticos por fontes alternativas que causem menores impactos ao meio ambiente é de suma importância. Uma alternativa viável tem sido o uso das Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas - BPCP (Cassán e Diaz-Zorita, 2016; Kudoyarova et al., 2019). Essas bactérias são classificadas como diazotróficas e, através de enzimas do tipo nitrogenase, possuem a capacidade de reduzir o N atmosférico a amônio (De Bruijn, 2015). Esse processo, denominado como fixação biológica de nitrogênio (FBN), é o principal responsável para a economia de N da biosfera, representando cerca de 30-50% do N total aplicado nos campos de produção (Ormeño-Orrillo et al., 2013).

Dentre as espécies de bactérias diazotróficas mais utilizadas, a *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) é uma das mais estudadas e tem apresentado resultados positivos para o aumento da eficiência no uso de fertilizantes nitrogenados (Galindo et al., 2022). Além disso, contribuem no aumento da absorção de água e nutrientes (Hungria et al., 2010), na capacidade de sintetizar fitohormônios, principalmente o ácido indol-acético (Santos et al., 2021), no controle biológico de fitopatógenos e biossíntese de outros fitormônios como ácido abscísico e etileno (Fukami et al., 2018). No Brasil, as duas cepas Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* são utilizadas como inoculantes comerciais desde 2009 e abrangem um mercado superior a 10 milhões de doses anuais (Hungria et al., 2010; Santos et al., 2021; Hungria et al., 2022).

De acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima - IPCC (2006), a conversão de 1 kg de N é equivalente a uma emissão de 10,5 kg de dióxido de carbono equivalente (CO<sub>2</sub>-e). Nessa conta, 4,5 kg são provenientes da produção do fertilizante e cerca de 6 kg de CO<sub>2</sub>-e são decorrentes do transporte, da aplicação e das emissões diretas e indiretas de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O). Nesse aspecto, ao substituir 25% do fertilizante nitrogenado por inoculação com *A. brasilense* em cultivos de milho, haveria uma diminuição potencial de 236 kg de CO<sub>2</sub>-e ha<sup>-1</sup> (Hungria et al., 2022). No entanto, a utilização de BPCP em culturas como o milho ainda enfrenta alguns desafios, tendo em vista que há limitada difusão dessa tecnologia, causada principalmente pela inconsistência de respostas de cultivares disponíveis no mercado à inoculação de BPCP (Vidotti et al., 2019).

Além do suprimento de N realizado por *A. brasilense* (Hungria et al., 2022), essas bactérias também atuam no controle biológico de fitopatógenos (López-Reyes et al., 2017). Diante disso, é oportuno estudar o efeito da inoculação de *A. brasilense* sobre doenças fúngicas importantes, pois a literatura é escassa a esse tipo de estudo relacionado à cultura do milho-pipoca, o que torna a presente pesquisa pioneira. Dentre as doenças relevantes na cultura do milho-pipoca, destaca-se, por exemplo, a podridão da espiga causada por *Fusarium*, em que o prejuízo ocasionado pela doença gera redução da qualidade fitossanitária dos grãos e afeta no peso médio dos mesmos trazendo perdas de produtividade de até 40% (Narro et al., 2017). Um outro aspecto relevante é o risco de contaminação por micotoxinas produzidas por fungos do complexo de podridão dos grãos, o que tem sido o objetivo de estudo de pesquisadores na última década (Wokorach et al.,

2021). Outra doença importante é a mancha de *Bipolaris* (MB) causada por *Bipolaris maydis*, a qual tem ocorrência em todo o mundo, principalmente em áreas mais quentes e úmidas (White, 1999). A MB é uma doença fúngica, cujo patógeno *B. maydis* possuem três raças bem conhecidas (O, T e C), sendo a raça T a responsável pela importante epidemia da década de 1970 na América do Norte (Smith et al., 1970; Ali et al., 2013).

Tendo em vista a importância da utilização de BPCP pelos seus vários benefícios, faz-se necessário incluí-las nas etapas de desenvolvimento de híbridos nos programas de melhoramento. Essa pode ser uma hipótese a ser considerada como caminho para desenvolver genótipos responsivos a essa tecnologia, facilitando assim sua difusão. Por sua vez, para o desenvolvimento de genótipos de milho com melhor responsividade ao *A. brasilense*, é importante entender o controle genético das características relacionadas a essa associação (Kroll et al., 2017; Buzinaro et al., 2018).

Portanto, é fato que a utilização de BPCP em milho-pipoca é pouco explorada e, dessa forma, necessitam-se de pesquisas que possibilitem sua utilização de maneira eficiente. A hipótese desta pesquisa é de que a inclusão de BPCP em etapas de seleção no melhoramento genético de milho-pipoca possibilita identificar e selecionar genótipos responsivos à inoculação de *A. brasillense* quanto a características agrônômicas e de resistência a doenças e assim aumentar a produtividade e reduzir os custos com fertilizantes sintéticos e fungicidas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho-pipoca cultivados sob condição de baixa disponibilidade de nitrogênio, quanto a características agronômicas e de resistência a doenças.

### 2.2 Objetivos Específicos

- (i) Verificar o efeito da inoculação de *A. brasilense* em características agronômicas de híbridos de milho-pipoca em condição de baixa disponibilidade de nitrogênio;
- (ii) Inferir sobre o efeito da inoculação de *A. brasilense* nas estimativas das capacidades combinatórias de híbridos e seus genitores; e
- (iii) Verificar a influência da inoculação de *A. brasilense* sobre a resistência genética de híbridos de milho-pipoca às doenças mancha de *Bipolaris* (MB) e podridão da espiga (FER), causadas por *B. maydis* e *Fusarium*, respectivamente.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Aspectos gerais do milho-pipoca

O milho-pipoca representa uma alternativa muito viável para fortalecer a economia de uma região, uma vez que este possui alto valor agregado. O maior produtor deste cereal no Brasil é o Mato Grosso, tendo atingido no ano agrícola de 2018 a produção recorde de 268,402 mil toneladas, em 60.017 hectares de área cultivada. No ano de 2019 a área de produção aumentou para 66.986 hectares, o que correspondeu a um aumento de 11,61% (Kist, 2019).

O milho-pipoca é uma planta herbácea de ciclo anual, monoica, pertence à família Gramineae, subfamília Panicoideae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. var everta. Em geral, apresenta grãos menores quando comparado ao milho comum, porte reduzido, colmo mais fino, menor número de folhas, maior prolificidade e maior tamanho do pendão (Ziegler e Ashman, 1994). O milho-pipoca difere dos outros tipos de milho em relação ao grão, os quais são pequenos e duros, sendo a principal diferença a capacidade dos grãos de estourarem quando aquecidos a aproximadamente 180°C, formando a pipoca (Scapim et al., 2010). Segundo Dalbello et al. (1995), o estouro do grão do milho-pipoca ocorre devido à fina cápsula que envolve o endosperma. A película funciona como uma parede rígida que envolve o grão, o qual se rompe quando a pressão interna aumenta o que é devido a transferência de calor para o interior do grão (Da Silva et al., 1993).

De acordo com Zinsly e Machado (1978), o milho-pipoca varia quanto ao tamanho dos grãos (de 0,5 a 1,0 cm), formato (redondo, chato ou pontiagudo) e coloração (rosa, creme, vermelha, roxa, preta ou azul), com predominância das cores branca e amarela. O mercado consumidor tem maior aceitação pelos grãos redondos com formato pérola e endosperma alaranjado (Ziegler e Ashman, 1994).

Seu centro de origem são as regiões do Sul do México, América Central e Antilhas (Vavilov, 1951), também se consta registro de utilização do grão pelos indígenas da América do Norte e Central (Flint-Garcia, 2017). Duas teorias principais relatam sobre a origem da cultura. Uma em que, teria o milho-pipoca sua genealogia associada ao milho tipo “flint”. A outra hipótese, é o surgimento a partir do teosinte e, ao longo do tempo foi modificado pelo homem por meio de seleção massal (De Almeida Matteucci et al., 2009; Kistler et al., 2018).

Sua utilização baseia-se na seleção simultânea de duas características importantes, o alto rendimento de grãos e a elevada capacidade de expansão, associado a boas características agrônômicas que são desejáveis pelos produtores (Amaral Júnior et al., 2010). O melhorista ainda necessita de uma estratégia robusta que satisfaça ambas as partes, considerando que o rendimento e a expansão normalmente estão negativamente correlacionados (Zinsly e Machado, 1978).

### **3.2 Bactérias promotoras do crescimento de plantas - BPCP**

As rizobactérias podem aumentar o acesso das plantas a alguns nutrientes, melhorar a defesa contra patógenos ou estresses abióticos e secretar hormônios vegetais (Rosier et al., 2018; Yang et al., 2018). *Azospirillum* sp. é um dos gêneros de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal mais bem estudados atualmente. Este microrganismo é capaz de colonizar mais de cem espécies de plantas e significativamente melhorar seu crescimento, desenvolvimento e produtividade em condições de campo (Bashan e de-Bashan, 2010). Um dos principais mecanismos propostos para *Azospirillum* sp. para explicar a promoção do crescimento de plantas inoculadas, tem sido relacionada à sua capacidade de produzir e metabolizar vários fitormônios e outras moléculas de regulação do crescimento de plantas (Tien et al., 1979).

Os processos realizados por bactérias do gênero *Azospirillum* são capazes de estimular o crescimento das plantas por diversos mecanismos, incluindo a

biossíntese e liberação de aminoácidos, ácido indolacético, citocininas, giberelinas e outras poliaminas, favorecendo o crescimento radicular e, conseqüentemente, intensificando a absorção de água e nutrientes pelas plantas (Bashan e de-Bashan, 2010; Vejan et al., 2016). Nesse contexto, pode não ser apenas um mecanismo responsável pelo pleno efeito promotor do crescimento do *Azospirillum*, e o efeito dessas bactérias poderia ser mais bem explicado pela "Teoria dos Mecanismos Múltiplos" formulada por Bashan e Levanony (Bashan e Levanony, 1990), que assume que vários fatores podem estar implicados no sucesso da associação *Azospirillum*-planta (Bashan e de-Bashan, 2010).

Essas bactérias são conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP). São bactérias de vida livre da rizosfera vegetal que podem diminuir o uso de fertilizantes químicos como o nitrogênio (N) e aumentar o crescimento e a produção da planta quando associadas às raízes e outras partes da planta (Lugtenberg e Kamilova, 2009). Várias bactérias como *Azospirillum* (Montañez et al., 2009), *Klebsiella* (Arruda et al., 2013), *Bacillus* (Zakry et al., 2012) e *Pseudomonas* (Piromyou et al., 2011) foram identificados como BPCP para a planta de milho. Existem relatos de que a fixação biológica de nitrogênio (FBN) por BPCP contribui com até 12-70% da absorção total de N nas lavouras ou 26,7 kg N ha<sup>-1</sup> (70% da absorção total de N) no milho (Montañez et al., 2009). Geralmente, estima-se que até 65% do N usado na agricultura é uma contribuição do FBN, e que será um componente cada vez mais importante no futuro manejo de N de plantas (Matiru e Dakora, 2004).

### **3.3 Doença fúngicas causadas por *Bipolaris maydis* e *Fusarium verticillioides*.**

Entre as doenças fúngicas que afetam o milho, destacam-se as manchas foliares, as podridões do colmo e as podridões de grãos como as mais prejudiciais à produtividade da cultura. Essas enfermidades apresentam alto potencial de danos, impactando significativamente tanto a produção de biomassa quanto o rendimento de grãos, podendo comprometer a qualidade e a viabilidade econômica da lavoura (Mueller et al., 2016).

A helmintosporiose, um tipo de mancha foliar provocada pelo fungo *Bipolaris maydis*, é uma doença que impacta consideravelmente a produção de

milho-pipoca (*Zea mays L. var everta*), podendo resultar em perdas expressivas na produtividade e na qualidade dos grãos, o que será influenciado pelas condições climáticas e o sistema de manejo utilizado durante o cultivo (Reis et al., 2004)

O clima tropical, caracterizado por altas temperaturas e elevada umidade, favorece tanto a propagação quanto a severidade da doença, tendo em vista que o patógeno se desenvolve melhor em temperaturas entre 22°C e 30°C, com alta umidade relativa do ar, favorecendo a infecção e a severidade da doença (Martinez et al., 2010). Isso tem representado um desafio constante para os agricultores, pois a doença se manifesta através de lesões nas folhas, que podem resultar em clorose, necrose e, em casos mais severos, até a morte da planta.

. A doença tem ocorrência em todo o mundo, principalmente em áreas de condições quentes e úmidas (White, 1999). A MB é uma doença fúngica com três raças conhecidas (O, T e C), sendo a raça T responsável pela importante epidemia da década de 1970 na América do Norte, é específica para genótipos com citoplasma macho-estéril derivado da linhagem Texas (cms-T) e é controlada exclusivamente por genes mitocondriais, seguindo um padrão de herança citoplasmática (Smith et al., 1970; Ali et al., 2013). Logo, o desenvolvimento de variedades resistentes é a estratégia mais eficaz para o controle de *Bipolaris maydis*, considerando aspectos econômicos, ambientais e de sustentabilidade (Noor et al., 2015).

A doença MB tem apresentado alta severidade em lavouras de milho monitoradas em diversas regiões do país, com maior incidência em estados de expressiva produção de grãos, como Rondônia, Mato Grosso, Goiás e Tocantins. Nessas áreas, a disseminação e o impacto da enfermidade têm sido significativos, representando um desafio para a produtividade agrícola e exigindo estratégias eficazes de manejo (Costa et al., 2014). Diante da importância, alguns grupos de pesquisa têm desenvolvido trabalhos com o objetivo de identificar fontes de resistência e desenvolver cultivares com características de alta produtividade e capacidade de expansão e resistentes ao fungo *B. maydis* (Kurosawa et al., 2018; Santos et al., 2019; Amaral Júnior et al., 2019; Saluci et al., 2023; Saluci et al., 2024; Souza et al., 2025).

Outra doença de muita relevância na cultura do milho-pipoca é a podridão de espigas, causadas por *Fusarium* (FER – derivado do termo em inglês “*Fusarium ear rot*”) (Hung e Holland et al., 2012; Kuki et al., 2020; Carbas et al., 2021). A

espécie mais relatada é *Fusarium verticillioides* (Sacc.) (Nirenberg e O'Donnell 1998), sendo este patógeno responsável pela doença caracterizada como podridão rosada da espiga devido aos sintomas característicos como a presença de estrias rosadas nos grãos (Carbas et al., 2021).

A podridão de grãos acarreta prejuízos significativos, principalmente pela diminuição tanto da produtividade quanto da qualidade fitossanitária dos grãos afetados. De acordo com Narro et al. (2017), a redução no peso médio dos grãos pode resultar em perdas de até 40% na produção. Além disso, estudos realizados nos últimos anos por diversos outros autores também destacam o impacto da podridão para a saúde humana e de animais diante do risco de contaminação por micotoxinas produzidas por fungos do complexo de podridão dos grãos (Wokorach et al., 2021).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Identificação da área experimental e material genético

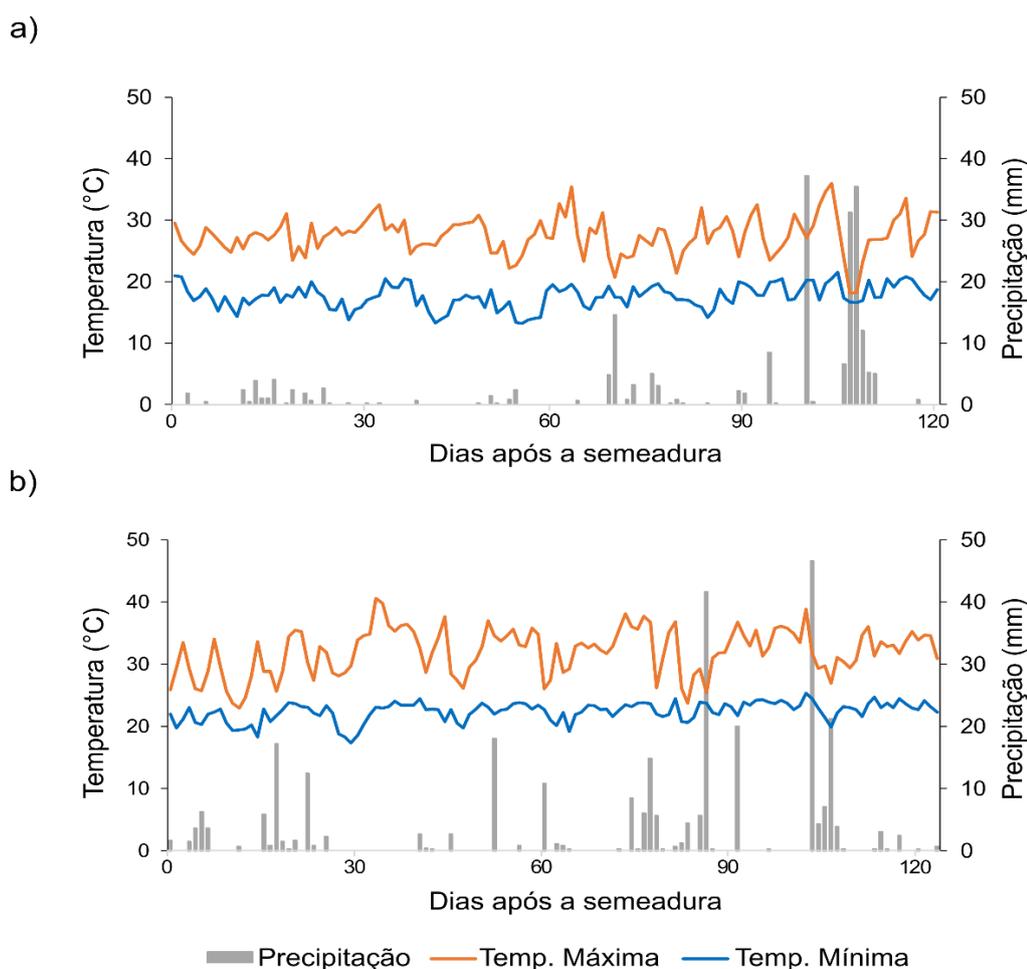
Foram realizados dois experimentos (inverno e verão do ano de 2023), com 28 híbridos de milho-pipoca (Tabela 1), na estação experimental do Colégio Agrícola Estadual Antônio Sarlo (21° 42' 48" S, 41° 20' 38" O, altitude de 14m), pertencente à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, município de Campos dos Goytacazes, região Norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

**Tabela 1** - Descrição dos 28 híbridos obtidos a partir do cruzamento de 7 linhagens com 4 testadores e suas respectivas populações de origem.

Linhagem	Testador	L291	L322	L690	L76
	Genealogia	URUG 298	BarãoViçosa	UENF-14	Viçosa
L204	IAC 125	L204xL291	L204xL322	L204xL690	L204xL76
L217	IAC 125	L217xL291	L217xL322	L217xL690	L217xL76
L292	URUG 298	L292xL291	L292xL322	L292xL690	L292xL76
L326	BarãoViçosa	L326xL291	L326xL322	L326xL690	L326xL76
L381	SAM	L381xL291	L381xL322	L381xL690	L381xL76
L689	UENF-14	L689xL291	L689xL322	L689xL690	L689xL76
L691	UENF-14	L691xL291	L691xL322	L691xL690	L691xL76

Os genótipos utilizados nos ensaios foram previamente selecionados com base nas características de rendimento de grãos, capacidade de expansão e de resistência a doenças. Os dados para a pré-seleção dos genótipos foram obtidos por meio da avaliação *per se* dos híbridos e seus genitores em experimentos realizados anteriormente (de Almeida et al., 2023; de Almeida et al., 2024; Saluci et al., 2024)

O clima da região é caracterizado como tropical úmido (Aw) de acordo com a classificação de Köppen (1948). As condições climáticas da época de inverno apresentaram temperatura mínima de 13,2°C, média de 22°C e máxima de 36°C. A precipitação pluviométrica acumulada nesse período foi de 208,8 mm. Com relação à época de verão, a temperatura mínima foi de 17,3°C, média de 26°C e máxima de 40,6°C, com precipitação acumulada de 295,6 mm (Figura 1).



**Figura 1** - Precipitação (mm), temperatura máxima e mínima (°C) do período experimental de inverno (a) e verão (b) de 2023 em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Estação automática (A607). Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

#### 4.2 Delineamento experimental e caracterização dos ambientes

Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso (DBC) em 3 repetições, sob três condições de cultivo (Ambientes), as quais foram: disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo). Cada unidade experimental foi composta por uma linha de 3,0 m, onde foram semeadas duas sementes em covas espaçadas a 0,2 m, com linhas espaçadas a 1,0 m. Aos 21 dias após a emergência, foi realizado o desbaste deixando-se apenas uma planta por cova e a parcela experimental ficou limitada a 15 plantas, representando uma densidade de 50.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Para o controle de plantas daninhas foi aplicado herbicida pré-emergente e realizada a capina manual durante o desenvolvimento das plantas. O fornecimento de água foi por meio da irrigação em sistema de aspersão de acordo com a necessidade demandada pela cultura.

O solo da área experimental é classificado como Argissolo Amarelo Distrófico Fragipânico Latossólico e apresenta teores elevados de argila e silte. Antes da implantação do experimento foi realizada uma análise quanto aos seus atributos químicos (Tabela 2).

**Tabela 2** - Atributos químicos do solo da área experimental do Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.

Camada	pH H <sub>2</sub> O	P mg/dm <sup>-3</sup>	K .....	Ca cmolc/dm <sup>-3</sup>	Mg .....	Al .....	H+Al .....	Na	MO dag/Kg
0 - 20 cm	6,1	81	260,0	1,9	0,7	0,0	2,8	12,0	2,5

Imediatamente antes da semeadura, todas as parcelas dos três ambientes (BN+Azo, IN e BN), nas duas épocas (Inverno e Verão), receberam adubação com NPK (04-14-08) no sulco de semeadura, equivalente a 32 kg de N, 112 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 64 kg de K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>. A diferenciação dos ambientes foi feita na adubação de cobertura, onde o ambiente IN recebeu 120 kg ha<sup>-1</sup> (100%) de nitrogênio na forma de ureia (45% N), divididos em duas aplicações nos estádios de quatro (V4) e seis (V6) folhas totalmente desenvolvidas, enquanto o ambiente BN recebeu apenas 50 kg ha<sup>-1</sup> de N (Barbosa et. al., 2022), correspondente a 41% da dose ideal aplicada em IN.

#### 4.3 Inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*

O processo de inoculação das sementes foi realizado separadamente para cada tratamento utilizando-se o produto comercial AZOTOTAL, contendo *A. brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6), na concentração de  $2,0 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>. A dose do inoculante foi aplicada nas sementes de acordo com a recomendação do fabricante (100 mL 25 kg<sup>-1</sup> de sementes) (Figura 2).

Para assegurar uma distribuição homogênea, o inoculante foi misturado manualmente com as sementes em sacolas plásticas. As sementes foram colocadas em um local sombreado, onde permaneceram por aproximadamente 2 horas até o momento da semeadura (Hungria et al., 2022).



**Figura 2** – a) organização das sementes de cada tratamento em copos descartáveis; b) limpeza das sementes e umedecimento com água destilada; c) aplicação do inóculo líquido nas sementes com auxílio de pipeta graduada; e d) distribuição das sementes nas unidades experimentais.

#### 4.4 Avaliação de características agronômicas

A avaliação da *performance* dos híbridos foi feita por meio das seguintes características:

- i. Rendimento de grãos (RG) – após o processo de debulha, os grãos de cada parcela experimental foram peneirados em peneiras para a classificação de milho. Os grãos retidos a partir da peneira de 5 mm foram considerados para a obtenção do peso total de grãos comerciais de cada parcela, corrigido para 13% de umidade e extrapolado para  $t \text{ ha}^{-1}$ ;
- ii. Capacidade de expansão (CE) – obtida pela média de duas amostras de 30 gramas de grãos de cada parcela experimental. As amostras foram submetidas ao aquecimento em pipoqueira elétrica (Cadence POP205 127v 1000w), por tempo determinado de dois minutos e 40 segundos. O volume de pipoca de cada amostra foi quantificado em uma proveta de 1000 mL e a CE foi determinada pela razão do volume de pipoca e a massa de grãos, em  $\text{mL g}^{-1}$ ;
- iii. Altura média de planta (AP) - quantificada em metros com auxílio de fita métrica, medida da base da planta até a folha bandeira em cinco plantas de cada parcela;
- iv. Florescimento feminino (FF) - número de dias após a semeadura até 50% das plantas da parcela atingirem a antese;
- v. Prolificidade (PROL) – obtida pela razão entre o número de espigas e o número de plantas de cada parcela;
- vi. Variável k10 (K-10) – obtido por meio da relação do número total de grãos contidos em 10 gramas;
- vii. Comprimento médio de espiga (CESP) – quantificado em centímetros com auxílio de fita métrica, medido de uma extremidade a outra da espiga em cinco espigas de cada parcela; e
- viii. Diâmetro médio de espiga (DESP) – quantificado em centímetros com auxílio de paquímetro digital, medido no terço médio da espiga em cinco espigas de cada parcela.

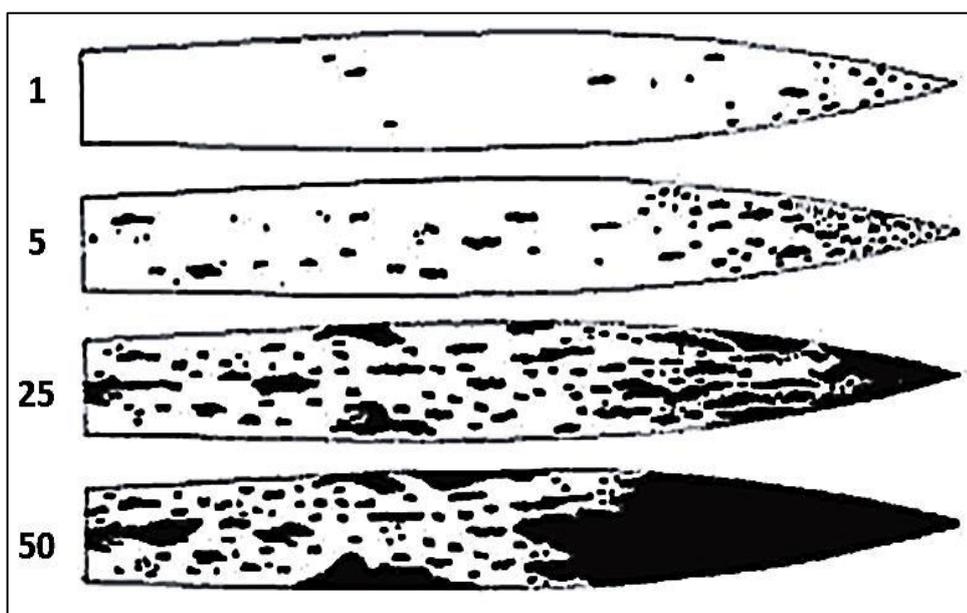
#### 4.5 Avaliação de características de resistência a doenças fúngicas

As plantas foram submetidas à inoculação natural tendo em vista a disponibilidade de inóculo proveniente de áreas cultivadas com milho-pipoca nas proximidades dos experimentos.

##### 4.5.1 Avaliação da incidência e severidade de mancha de *Bipolaris* (MB)

Para a doença mancha de *Bipolaris* (MB) causada por *B. maydis*, avaliaram-se os sintomas mediante as estimativas de incidência (IMB) e severidade (SMB), utilizando-se para as análises estatísticas a média de duas avaliações realizadas aos 15 e 25 dias após o início da antese, da seguinte forma:

- (i) A incidência (IMB) média dos sintomas de MB foi determinada por meio da razão do número de folhas sintomáticas pelo número total de folhas da planta;
- (ii) A severidade (SMB) média dos sintomas de MB foi estimada visualmente na área foliar lesionada na folha da primeira espiga, com o auxílio da escala diagramática proposta por James (1971) (Figura 3).

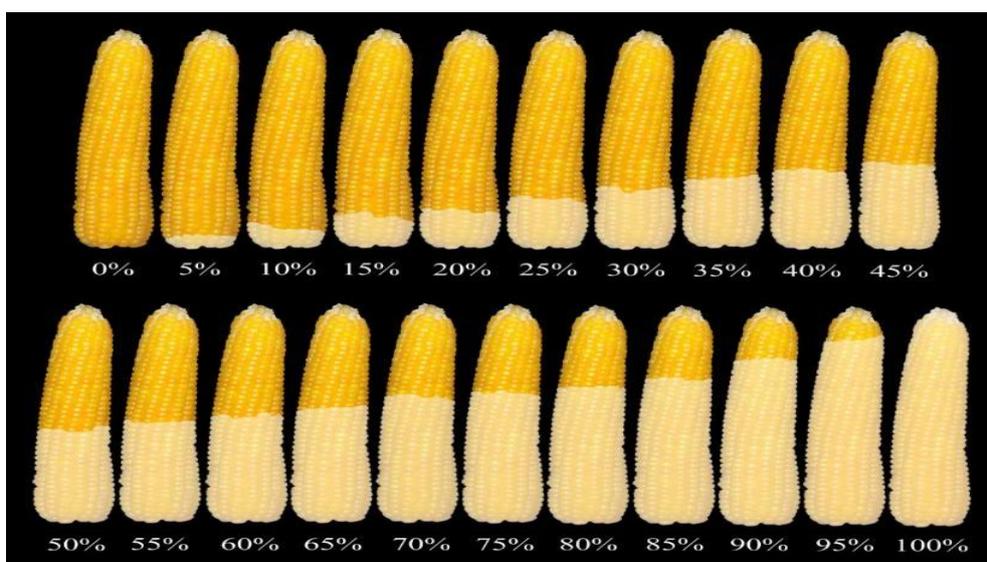


**Figura 3** - Escala diagramática para avaliação da severidade de mancha de *Bipolaris* (MB) causada por *B. maydis* em folhas de milho, proposta por James (1971).

#### 4.5.2 Avaliação da incidência e severidade de podridão de espiga (FER)

A avaliação dos sintomas de FER por meio das características de incidência e severidade foi realizada em espigas colhidas aos 120 dias após o plantio, com umidade dos grãos entre 12 e 15%. Para essa doença foram feitas avaliações apenas na época de verão. Isso ocorreu devido a pouca incidência de parcelas experimentais com os sintomas da doença, o que pode ter sido influenciado pelas condições climáticas da época de inverno, tendo em vista que condições de baixas temperaturas e menor precipitação não são ideais para o desenvolvimento da doença (de Almeida et al., 2023). Todas as avaliações foram conduzidas pelo mesmo avaliador com o intuito de reduzir a subjetividade da avaliação. As características foram avaliadas da seguinte forma:

- (i) A incidência de *Fusarium* (IFER) foi estimada pela relação direta entre o número de espigas sintomáticas pelo total de espigas colhidas na parcela, sendo esta relação expressa em porcentagem;
- (ii) A severidade de *Fusarium* (SFER) foi avaliada pela incidência de grãos com sintomas visíveis de ocorrência de *Fusarium* em 5 espigas de cada parcela. A avaliação foi realizada de forma visual com auxílio de escala diagramática proposta pelo Cimmyt (1994), a qual foi adaptada (de Almeida et al., 2024). As notas de severidade da espiga apresentaram uma escala numérica de 0 a 100% com intervalos de 5% nas notas (Figura 4).



**Figura 4** - Escala diagramática adaptada para avaliação de podridão de espiga causada por *Fusarium verticillioides* em milho-pipoca (de Almeida et al., 2024).

## 4.6 Análises estatísticas

### 4.6.1 Análise de variância

Os dados de cada experimento foram submetidos individualmente aos testes de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias por meio dos respectivos testes de Shapiro-Wilk e O'neill & Mathews. Atendidos os pressupostos, procedeu-se a análise de variância conjunta pelo teste F a 5% de significância, por meio do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + (B/A)/E_{jkm} + G_i + E_j + A_k + GE_{ij} + GA_{ik} + EA_{jk} + GEA_{ijk} + \bar{e}_{ijk}$$

em que:  $Y_{ijk}$  é a observação do  $i$ -ésimo genótipo no  $j$ -ésimo bloco no  $k$ -ésimo ambiente;  $\mu$  é a constante geral;  $(B/A)/E_{jkm}$  é o efeito do  $j$ -ésimo bloco dentro do  $k$ -ésimo ambiente na  $m$ -ésima época;  $G_i$  é o efeito fixo do  $i$ -ésimo genótipo;  $E_j$  é o efeito fixo da  $j$ -ésimo época;  $A_k$  é o efeito fixo do  $k$ -ésimo ambiente;  $GE_{ij}$  é o efeito fixo da interação ente o  $i$ -ésimo genótipo com a  $j$ -ésima época;  $GA_{ik}$  é o efeito fixo da interação do  $i$ -ésimo genótipo com o  $k$ -ésimo ambiente;  $EA_{jk}$  é efeito fixo da interação entre a  $j$ -ésima época com o  $k$ -ésimo ambiente;  $GAE_{ijk}$  é o efeito fixo da interação do  $i$ -ésimo genótipo com a  $j$ -ésima época com o  $k$ -ésimo ambiente; e  $\bar{e}_{ijk}$  é o efeito do erro experimental aleatório associado à observação  $Y_{ijk}$ , com NID (0,  $\sigma^2$ ).

Na análise conjunta, procedeu-se o desdobramento da soma de quadrados de híbridos em capacidade geral de combinação das linhagens (CGC I), capacidade geral de combinação dos testadores (CGC II) e capacidade específica de combinação (CEC), bem como a interação dessas com os ambientes e as épocas, para as características agronômicas.

A análise do dialelo parcial foi realizada a partir das médias dos tratamentos, para cada ambiente (considerando a interação entre as épocas). As análises foram realizadas de acordo com o método 4 de Griffing (1956), adaptado para dialelos parciais em múltiplos ambientes. As análises foram feitas considerando como fixo o efeito de genótipos (híbridos) e ambientes. O seguinte modelo genético-estatístico foi adotado:

$$Y_{ijk} = m + l_k + g_i + g'_j + s_{ij} + gl_{ik} + gl_{jk} + sl_{ijk} + \bar{e}_{ijk}$$

em que:  $Y_{ijk}$ : valor médio observado da combinação híbrida entre  $i$ -ésima linhagem e o  $j$ -ésimo testador no  $k$ -ésimo local;  $m$ : média geral;  $l_k$ : efeito fixo do  $k$ -ésimo local ( $k = 1, 2$ );  $g_i$ : efeito da capacidade geral de combinação da  $i$ -ésima linhagem (grupo I);  $g'_j$ : efeito da capacidade geral de combinação do  $j$ -ésimo testador (grupo II);  $s_{ij}$ : efeito da capacidade específica de combinação entre a  $i$ -ésima linhagem do grupo I e o  $j$ -ésimo testador grupo II;  $gl_{ik}$ : efeito da interação entre a capacidade geral de combinação da  $i$ -ésima linhagem e o  $k$ -ésimo local;  $gl_{jk}$ : efeito da interação entre a capacidade geral de combinação do  $j$ -ésimo testador e o  $k$ -ésimo local;  $sl_{ijk}$ : efeito da interação entre a capacidade específica de combinação entre a  $i$ -ésima linhagem e o  $j$ -ésimo testador com o  $k$ -ésimo local; e  $e_{ijk}$ : erro experimental médio, obtido a partir da soma dos quadrados médios dos resíduos, ajustado para o número de observações.

Para verificar a hipótese relacionada ao efeito da inoculação de *A. brasilense*, todas as características foram analisadas. Para as inferências sobre as estimativas das capacidades combinatórias e seleção de genótipos responsivos à inoculação com *A. brasilense*, apenas o RG e a CE foram considerados por serem as duas características principais e por apresentarem alta correlação com as demais.

#### 4.6.2 Teste de média, índice de eficiência da inoculação e variação percentual

Com o objetivo de selecionar genótipos responsivos à inoculação com *A. brasilense*, foi realizado o teste de agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de significância para as características RG e CE. Além disso, calcularam-se o índice de eficiência da inoculação (IEI) e a variação percentual (VP), considerando, respectivamente, as seguintes expressões:

$$IEI_i = \left(1 - \frac{MGBN_i}{MGBN + AZO_i}\right) \times 100$$

em qual:  $IEI_i$  é o índice de eficiência da inoculação do genótipo  $i$ ;  $MGBN_i$  é a média do genótipo  $i$  para uma determinada característica avaliada no baixo nitrogênio (BN); e  $MGBN + AZO_i$  é a média do genótipo  $i$  para uma determinada característica avaliada sob BN mais inoculação com *A. brasilense* (BN + Azo).

$$VP_i = \left( \frac{MGIN_i - MGBN_i}{MGIN_i} \right) \times 100$$

em que:  $VP_i$  é a variação percentual do genótipo  $i$ ;  $MGIN_i$  é a média do genótipo  $i$  para uma determinada característica avaliada na disponibilidade ideal de nitrogênio (IN); e  $MGBN_i$  é a média do genótipo  $i$  para uma determinada característica avaliada no baixo nitrogênio (BN).

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos programas computacionais R (R core Team, 2017) e GENES (Cruz, 2013).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Efeito da inoculação de *A. brasilense* em características agronômicas de milho-pipoca e seleção de híbridos

A inoculação com *A. brasilense* resultou em um aumento significativo na produtividade, com rendimento de grãos elevado em 20,5% na média das duas épocas do ambiente BN+Azo em relação ao BN. A média geral de RG incluindo todos os ambientes e épocas ficou acima de 3 t ha<sup>-1</sup>. As condições edafoclimáticas propiciaram um bom desenvolvimento da cultura e influenciaram a resposta dos genótipos nas diferentes épocas, visto que houve diferença das médias das características agronômicas entre as épocas de inverno e verão.

Por meio da análise de variância conjunta, foi observado efeito significativo a 1% de probabilidade dos híbridos (H) para todas as características agronômicas (Tabela 3). Isso demonstra a presença de variabilidade genética entre os híbridos de milho-pipoca avaliados. Esse resultado é imprescindível uma vez que a variabilidade genética é a principal matéria-prima para identificar e selecionar genótipos de destaque em características de interesses nos programas de melhoramento genético. A fonte de variação época (E) também apresentou diferença significativa a 1% de probabilidade para todas as características agronômicas avaliadas. Isso indica que os genótipos tiveram desempenhos diferentes, influenciados pelas condições ambientais presentes em cada época de cultivo (Tabela 3).

**Tabela 3** - Resumo da análise de variância conjunta de características agrônômicas de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob três ambientes em duas épocas de cultivo.

FV	GL	Quadrados Médios			
		RG	CE	K-10	PROL
(B/A)/E	12	0,35	3,69	70,96	0,05
Híbrido (H)	27	4,80**	309,24**	963,46**	5,74**
Época (E)	1	27,05**	610,5**	1688,29**	47,25**
H x E	27	1,35**	32,43**	122,43**	0,11**
Ambiente (A)	2	34,64**	20,03**	305,75**	55,18**
H x A	54	0,61**	5,91**	48,20 <sup>ns</sup>	0,06**
E x A	2	5,12*	14,08**	302,22**	4,31*
H x E x A	54	0,43**	10,22**	32,11 <sup>ns</sup>	0,06*
Resíduo	324	0,19	4,19	37,63	0,04
Média		3,16	34,53	75,18	1,29
CV (%)		13,86	5,93	8,16	15,62

FV	GL	Quadrados Médios			
		AP	FF	CESP	DESP
(B/A)/E	12	0,05	27,4	3,65	310
Híbrido (H)	27	0,16**	32,40**	14,40**	67,07**
Época (E)	1	10,60**	27886,90**	83,83**	431,82**
H x E	27	0,02**	15,30**	2,25**	2,49**
Ambiente (A)	2	1,62 <sup>ns</sup>	231,40**	139,14**	76,11**
H x A	54	0,02**	6,10 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	2,49**
E x A	2	0,14 <sup>ns</sup>	24,70**	14,70**	5,86*
H x E x A	54	0,01**	6,20 <sup>ns</sup>	1,12 <sup>ns</sup>	1,53 <sup>ns</sup>
Resíduo	324	0,01	4,80	1,02	1,57
Média		1,79	59,93	14,88	3,16
CV (%)		5,58	3,66	6,80	3,96

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação experimental; RG: rendimento de grãos, em t ha<sup>-1</sup>; CE: capacidade de expansão, em mL g<sup>-1</sup>; K-10: número de grãos em 10 gramas; PROL: prolificidade; AP: altura de plantas, em metros; FF: florescimento feminino, em dias; CESP e DESP: comprimento e diâmetro de espiga, em centímetros; \*\*, \*, <sup>ns</sup> significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Para a fonte de variação ambiente (A), todas as características agrônômicas foram significativas a 1% de probabilidade, exceto altura de plantas (AP) (Tabela 3). Isso revela que as diferentes doses de nitrogênio aplicadas nos ambientes com nitrogênio ideal (IN) e baixo nitrogênio (BN), bem como o ambiente de baixo nitrogênio mais inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) foram satisfatórias

para proporcionar a diferenciação dos ambientes e influenciar a resposta dos genótipos às essas condições para a maioria das características.

A interação dos híbridos com a época de cultivo (H x E) foi significativa a 1% de probabilidade pelo teste F para todas as características agrônômicas. Isso demonstra a influência das épocas sobre o ranqueamento dos híbridos nas duas épocas, em que os híbridos respondem de forma distinta aos diferentes estímulos induzidos pelas condições diferentes de inverno e verão. De modo semelhante, a interação dos híbridos com os ambientes (H x A) foi significativa a 1% de probabilidade para a maioria das características, a exceção do florescimento feminino (FF). Esse efeito significativo sugere que houve alteração no ranqueamento dos genótipos diante das estabelecidas dentro de cada ambiente (Tabela 3).

O efeito não-significativo para FF na interação (H x A) e significativo na interação (H x E) indica que as diferentes condições de nutrição com nitrogênio e inóculo não foram suficientes para alterar os aspectos de desenvolvimento dos genótipos (Tabela 3). Por outro lado, as condições climáticas nas diferentes épocas de cultivo foram capazes de alterar o desenvolvimento dos híbridos tornando-os mais precoces ou tardios. Isso está diretamente relacionado às condições climáticas da época de verão, onde foi observado temperatura média acima de 26°C e máxima de até 40°C (Figura 2), o que acelera o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo mais precoces. A interação da época com o ambiente (E x A) foi significativa a 1% de probabilidade para a maioria das características, exceto AP que não teve diferença significativa (Tabela 3).

No tocante as estimativas de média por ambiente, o RG na época de inverno teve a maior média na disponibilidade ideal de nitrogênio (IN) com 3,47 t ha<sup>-1</sup>, seguido pelo ambiente de baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) com 3,02 t ha<sup>-1</sup> e pelo ambiente com baixo nitrogênio (BN) com 2,29 t ha<sup>-1</sup>, os quais foram estatisticamente diferentes, sendo classificados, respectivamente, nos grupos a, b e c (Tabela 4). Para a época de verão, o ambiente BN+Azo com média 3,62 t ha<sup>-1</sup> foi ligeiramente superior ao IN com 3,54 t ha<sup>-1</sup>, seguido por BN com 3,01 t ha<sup>-1</sup> (Tabela 4). Dessa forma, observa-se que o ambiente BN+Azo teve produtividade superior ao BN nas duas épocas e, portanto, a inoculação de sementes com *A. brasilense* promoveu um incremento na produtividade de híbridos de milho-pipoca cultivados em ambiente com baixa disponibilidade de nitrogênio.

**Tabela 4** - Estimativas de média, coeficiente de variação experimental (CV), coeficiente de determinação genotípico (H<sup>2</sup>), de características agrônômicas de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em três condições de manejo e duas épocas.

Variável	Estimador	Inverno					Verão				
		BN	BN+AZO	IN	IEI%	VP%	BN	BN+AZO	IN	IEI%	VP%
RG	Média	2.29c	3.02b	3.47a			3.01b	3.62a	3.54a		
	CV (%)	16,28	15,54	14,53	24.17	0.34	13,35	11,66	12,50	16.85	0.15
	H <sup>2</sup>	0,83	0,85	0,82			0,89	0,90	0,82		
CE	Média	35.38b	35.16b	36.36a			33.43a	33.37a	33.49a		
	CV (%)	5.77	5.50	5.96	-0.63	0.03	5.61	5.87	6.80	-0.17	0.00
	H <sup>2</sup>	0.95	0.95	0.94			0.92	0.91	0.91		
FF	Média	69.13a	66.65b	66.32b			53.44a	51.88b	52.15b		
	CV (%)	2.98	4.85	3.72	-3.71	-0.04	2.95	3.27	3.21	-3.01	-0.02
	H <sup>2</sup>	0.77	0.61	0.61			0.45	0.45	0.33		
AP	Média	1.51c	1.69b	1.75a			1.86b	1.98a	1.98a		
	CV (%)	7.71	6.12	4.89	10.81	0.14	3.94	4.74	6.07	5.99	0.06
	H <sup>2</sup>	0.68	0.84	0.80			0.84	0.69	0.63		
PROL	Média	1.08c	1.26b	1.36a			1.25b	1.41a	1.41a		
	CV (%)	14.14	17.15	14.12	13.84	0.20	15.66	14.65	17.02	11.81	0.12
	H <sup>2</sup>	0.46	0.43	0.54			0.62	0.71	0.55		
K-10	Média	74.50a	74.94a	70.61b			75.70a	78.19a	77.13a		
	CV (%)	7.26	8.73	7.60	0.59	-0.06	8.26	9.45	7.26	3.19	0.02
	H <sup>2</sup>	0.85	0.86	0.84			0.71	0.78	0.82		
CESP	Média	13.19c	14.81b	15.41a			14.47b	15.82a	15.56a		
	CV (%)	8.77	8.64	6.87	10.95	0.14	6.46	4.40	5.32	8.48	0.07
	H <sup>2</sup>	0.65	0.70	0.69			0.48	0.84	0.79		
DESP	Média	3.16c	3.28b	3.33a			3.01b	3.10a	3.10a		
	CV (%)	3.87	4.55	3.35	3.55	0.05	4.12	3.62	4.15	3.04	0.03
	H <sup>2</sup>	0.82	0.84	0.91			0.87	0.92	0.86		

Índice de eficiência de inoculação (IEI); variação percentual (VP); disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo); rendimento de grãos (RG), capacidade de expansão (CE), número de grãos em 10 g (K-10), prolificidade (PROL), altura de plantas (AP), florescimento feminino (FF), comprimento de espiga (CESP) e diâmetro de espiga (DESP). Ambientes com médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo agrupamento de Scott-Knott. (p <0,05).

Inúmeras são as hipóteses sobre como as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) desenvolvem seus mecanismos de promoção de crescimento e produção. Algumas delas sugerem que este mecanismo de estímulo ao crescimento pode ter aprimorado a habilidade das plantas para explorar o solo de maneira mais eficaz, conforme apontado em pesquisas anteriores com *A. brasilense* (Cohen et al. 2015; Ambrosini et al., 2016).

Essas bactérias também apresentam a capacidade de produzir reguladores de crescimento vegetal (Tien et al., 1979; Tesed et al., 2004; Spaepen e Vanderleyden, 2015), e disponibilizar nitrogênio às plantas por meio da fixação do nitrogênio atmosférico ( $N^2$ ) (Alves et al., 2015; Ambrosini et al., 2016). Tratando-se especificamente das cepas Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* sua principal contribuição está associada à alta capacidade de síntese de fitohormônios, especialmente ácido indol-acético (IAA) (Santos et al., 2021; Hungria et al., 2022).

O coeficiente de variação experimental (CV) para o RG teve estimativas entre 12,5 e 16,28%, (Tabela 4), os quais são valores medianos a baixos e indicam boa precisão experimental, até mesmo por se tratar de uma característica poligênica que é mais influenciada por fatores ambientais.

Em relação ao coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ), o RG apresentou valores variando de 0,82 a 0,90 nos diferentes ambientes e épocas (Tabela 4). Esses valores são elevados e demonstram que os efeitos genéticos tiveram um impacto maior que os efeitos residuais, possibilitando maiores chances de ganhos na seleção de genótipos.

A característica capacidade de expansão (CE) teve pouca diferença nas médias apresentadas nos diferentes ambientes. No inverno as estimativas de CV variaram de 35,16 a 36,36 para os ambientes BN+Azo e IN, enquanto no verão variaram de 33,37 a 33,49, respectivamente (Tabela 4). Portanto, observa-se maior influência das diferentes épocas, em relação às diferentes condições de manejo, sobre a média da CE. O CV foi baixo em todos os ambientes, com valor mínimo de 5,50 e máximo de 6,80 (Tabela 4), o que significa elevada precisão experimental. O  $H^2$  também foi elevado para todos os ambientes com estimativas superiores a 0,91 (Tabela 4).

As características K-10, AP, FF, CESP e DESP tiveram CV entre 2,98 e 9,45, nas duas épocas (Tabela 4). Esses valores são considerados baixos e demonstram alta precisão experimental, o que contribui para uma maior

confiabilidade na interpretação dos resultados apresentados. Para PROL o CV variou entre 14,12 e 17,55, são valores medianos, mas que não comprometem a precisão das análises.

O índice de eficiência da inoculação (IEI) mostra o efeito ocasionado nas características dos genótipos avaliados no ambiente BN+Azo em relação ao ambiente BN. Em uma outra perspectiva, a variação percentual (VP) busca verificar o quanto houve de perda nas características dos híbridos avaliados no ambiente BN em comparação aos híbridos que foram avaliados no ambiente IN.

No que se refere ao rendimento de grãos, observou-se pelas estimativas de IEI que houve um incremento de 24,17% na produtividade média geral dos híbridos na época do inverno e 16,85% na época do verão (Tabela 4).

Com relação ao IEI nas características AP, PROL, CESP e DESP apresentou incrementos de 10,81, 13,84, 10,95 e 3,55%, respectivamente, na época de inverno, enquanto para o verão, o incremento para as mesmas características foi de 5,99, 11,81, 8,48 e 3,04%, respectivamente (Tabela 4). A característica FF apresentou redução nas estimativas da média geral dos híbridos com valores de -3,71% no inverno e -3% no verão, enquanto a CE apresentou resultado indiferente, com valores próximos a zero nas duas épocas (Tabela 4).

A variação percentual para RG, CE, AP, PROL, CESP e DESP na época de inverno teve, respectivamente, as seguintes estimativas 34,01, 2,67, 13,89, 20,42, 14,43 e 4,87%, enquanto K-10 e FF de forma oposta apresentaram valores negativos de -5,50 e -4,24%, o que significa que houve um aumento para tamanho de grãos e para número de dias para o florescimento, respectivamente (Tabela 4).

Ao se tomar como base a VP na época do verão, as características RG (14,97), CE (0,18), K-10 (1,86), AP (6,31), PROL (11,61), CESP (6,99) e DESP (2,87) apresentaram redução das suas estimativas, a exceção do FF que novamente apresentou valor negativo de -2,47%, resultando em aumento no número de dias para o florescimento (Tabela 4). Em resumo, quando se comparam as estimativas de IEI com IR, infere-se que o efeito da inoculação com *A. brasilense* consegue complementar uma parte significativamente grande do total que é perdido por ocasião da redução do nitrogênio no ambiente BN. Ademais, também foi possível verificar uma diminuição das estimativas tanto do IEI quanto da VP na comparação da época de verão com a época de inverno.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a inoculação com *A. brasilense* causou um impacto positivo para a maioria das características avaliadas, sendo esse efeito quantificado pelo índice de eficiência da inoculação (IEI). Visto que, com relação ao rendimento de grãos, houve um aumento de mais de 24% na época de inverno e mais de 16% na época de verão, considerando a produtividade média dos híbridos no ambiente com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) em relação ao ambiente onde não houve a inoculação (BN) (Tabela 4). Esse incremento na produtividade corresponde em um aumento de até 730 kg ha<sup>-1</sup> quando se observa o rendimento de grãos obtido na época inverno.

Estes resultados superam o encontrado por Martins et al. (2018a), que constataram um aumento de 10,78% no rendimento de grãos de milho-pipoca inoculado com *A. brasilense* e adubação de nitrogênio em cobertura de 50 kg ha<sup>-1</sup>. Hungria et al. (2010) com experimentos com milho comum em outras regiões do Brasil utilizando inoculantes com *A. brasilense* (AbV5+AbV6) também observaram que houve um aumento na produtividade de grãos em uma faixa de 591 a 787 kg ha<sup>-1</sup>. Martins et al. (2018b), ao avaliarem o efeito da inoculação de *A. brasilense* em híbridos de milho comum encontraram um incremento superior a 30% na produtividade.

O efeito da inoculação também foi observado nas características AP, PROL, CESP e DESP, as quais apresentaram incrementos de 10,81, 13,84, 10,95 e 3,55%, respectivamente, na época de inverno, enquanto para o verão, o incremento nas mesmas características foi de 5,99, 11,81, 8,48 e 3,04%, respectivamente (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Martins et al. (2018a), em uma variedade de milho-pipoca inoculado com *A. brasiliense* sob adubação nitrogenada na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura, o que proporcionou aumento respectivo de 13, 17, 8 e 8% para altura de plantas, número de espigas, diâmetro e comprimento de espiga, em relação ao tratamento sem inoculação.

A partir da análise por meio do boxplot é possível visualizar a distribuição dos valores quantitativos em torno da média geral de uma determinada característica. Observa-se que na época de inverno a característica RG apresentou média geral abaixo de 2,5 t ha<sup>-1</sup> para o ambiente BN, enquanto os ambientes BN+Azo e IN apresentaram média geral acima de 3,0 t ha<sup>-1</sup>. Na época de verão, o BN teve média aproximada de 3,0 t ha<sup>-1</sup>, enquanto BN+Azo e IN tiveram médias

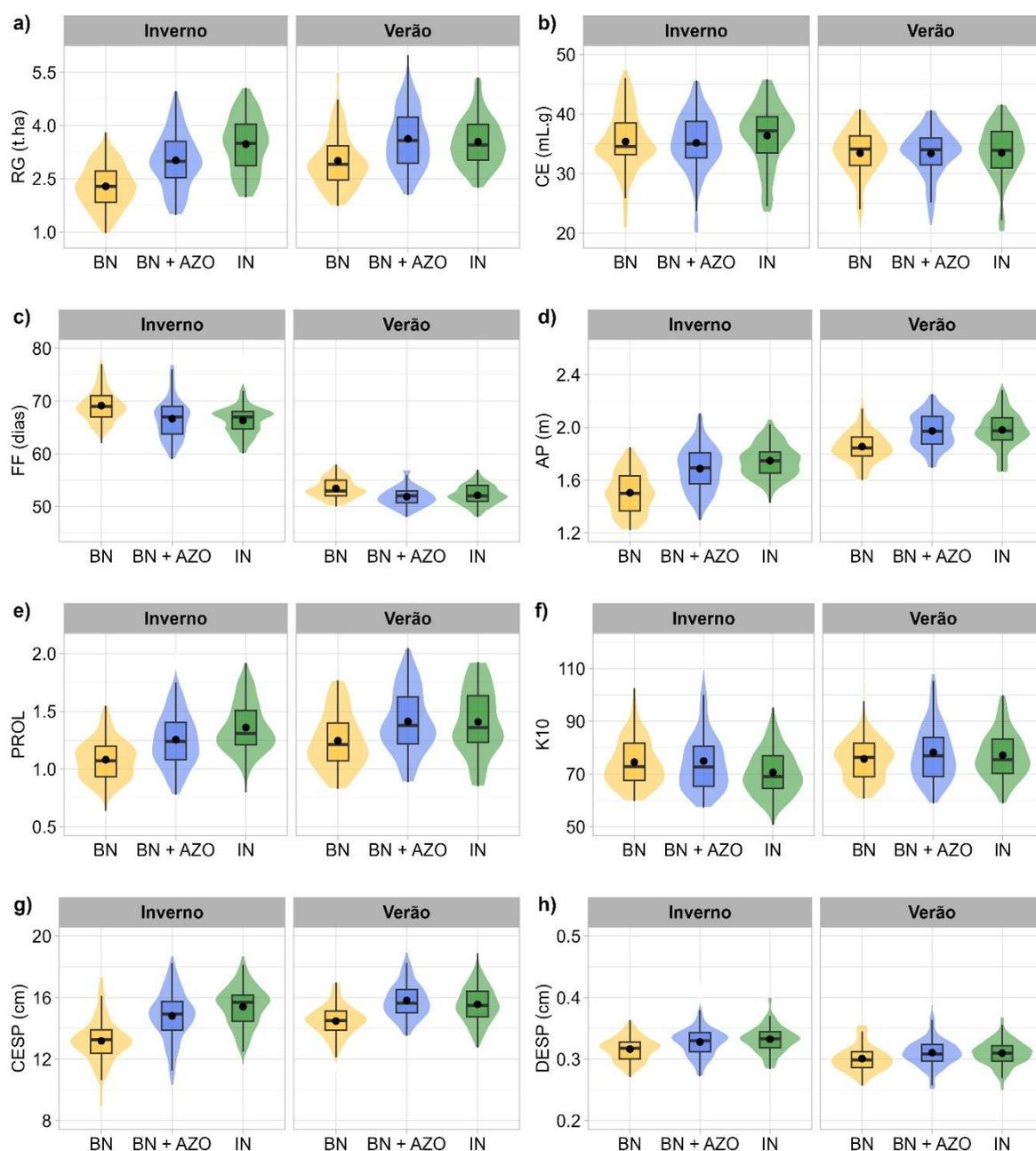
acima de  $3,5 \text{ t ha}^{-1}$  (Figura 5a). Esses resultados demonstram um efeito positivo da inoculação com *A. brasilense*, o qual é ratificado pelo maior rendimento de grãos dos híbridos de milho-pipoca no ambiente BN+Azo em relação ao BN, considerando as duas épocas (Figura 5a).

Com relação à CE, observa-se uma ligeira diferença na comparação de médias entre os ambientes de cada época. Comparando-se as épocas, houve uma leve redução na média geral em torno de  $35 \text{ mL g}^{-1}$ , considerando os três ambientes na época do inverno em relação à média geral de aproximadamente  $33 \text{ mL g}^{-1}$  dos ambientes no verão (Figura 5b).

De forma análoga ao que foi observado para CE, o FF apresentou pouca diferença na média do número de dias para atingimento da antese entre os ambientes de cada época, contudo, foi mais fortemente influenciado pelo efeito das épocas. Assim, no inverno a antese aconteceu por volta dos 66 dias após a semeadura, enquanto no verão aconteceu em torno de 52 dias após a semeadura (Figura 5c). Isso demonstra maior precocidade dos híbridos de milho-pipoca por influência das condições presentes no verão, com temperatura média de  $26^{\circ}\text{C}$ , enquanto no inverno a temperatura média foi de  $22^{\circ}\text{C}$  (Figura 1). Portanto, no período do verão se observam temperaturas mais elevadas que contribuem para acelerar o ciclo de desenvolvimento dessa cultura.

Para as características AP, PROL e CESP, os ambientes BN+Azo e IN tiveram média geral superior ao BN nas duas épocas e a época do verão apresentou superioridade das estimativas em relação aos ambientes da época de inverno (Figura 5d, 5e e 5g).

A característica K-10 também teve estimativa superiores na época de verão em relação à de inverno, mas houve uma pequena alteração nas médias dos ambientes, em que o ambiente BN+Azo foi ligeiramente superior aos demais (Figura 5f). Vale ressaltar que para essa característica buscam-se valores mais baixos, com estimativas variando entre 60 e 70, pois se trata de uma razão idealizada entre o tamanho do grão (grão maior produz uma pipoca maior) e a quantidade de grãos (maior número de grãos produz mais pipocas).



**Figura 5** - Boxplots com a dispersão das estimativas de características agrônômicas de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+AZO). **a)** rendimento de grãos (RG), **b)** capacidade de expansão (CE), **c)** florescimento feminino (FF), **d)** altura de plantas (AP), **e)** prolificidade (PROL), **f)** número de grãos em 10 g (K-10), **g)** comprimento de espiga (CESP) e **h)** diâmetro de espiga (DESP).

A seleção de híbridos é feita com base na média de cada genótipo levando-se em consideração as características de interesse. No caso do milho-pipoca, o rendimento de grãos e a capacidade de expansão são as duas características de maior relevância. Diante disso, realizou-se o agrupamento de médias e calculou-se o índice de eficiência da inoculação (IEI) para identificar os genótipos que tiveram as maiores médias e foram mais responsivos à inoculação de *A. brasilense*, respectivamente.

No agrupamento de médias para RG no inverno, os ambientes BN+Azo e IN formaram quatro grupos cada um e tiveram seis híbridos nos seus respectivos grupos de maior média. Foram destaques com as maiores médias os cruzamentos L381xL690 com 4,37 t ha<sup>-1</sup> e L381xL76 com 4,23 t ha<sup>-1</sup> em BN+Azo e os cruzamentos L381xL76 com 4,72 t ha<sup>-1</sup> e L689xL76 com 4,50 t ha<sup>-1</sup> no ambiente IN. Já o ambiente BN formou apenas dois grupos e entre os híbridos do grupo de maior média o cruzamento L691xL690 teve a maior média com 3,21 t ha<sup>-1</sup> (Tabela 5).

Para o agrupamento de médias dos experimentos conduzidos no verão, o RG apresentou média superior para todos os ambientes em comparação às médias obtidas na época de inverno. O BN+Azo formou três grupos no agrupamento de médias e teve quatro híbridos no grupo de maior média (L689xL76 com 5,06 t ha<sup>-1</sup>, L381xL76 com 4,94 t ha<sup>-1</sup>, L381xL690 com 4,84 t ha<sup>-1</sup> e L204xL690 4,79 t ha<sup>-1</sup>). O IN formou quatro grupos, também teve 4 híbridos no grupo de maior média e novamente os híbridos L689xL76 e L204xL690 apareceram entre as maiores médias com, respectivamente, 4,65 e 4,46 t ha<sup>-1</sup>. O ambiente BN teve quatro grupos e apresentou apenas o híbrido L381xL690 com 4,60 t ha<sup>-1</sup> no grupo de média superior ((Tabela 5).

No tocante ao índice de eficiência da inoculação (IEI) específico para cada híbrido, a característica RG teve incremento na produtividade para a maioria dos híbridos, a exceção do cruzamento L326xL322 no inverno e dos cruzamentos L691xL291, L689xL291, L326xL690 e L292xL322 no verão, os quais apresentaram a produtividade ligeiramente menor no ambiente BN+Azo em relação ao BN (Tabela 5).

**Tabela 5** - Agrupamento de médias e índice de eficiência de inoculação (IEI) para o rendimento de grãos (RG) de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) em duas épocas.

Híbridos	RG (t ha <sup>-1</sup> )							
	Inverno				Verão			
	BN+Azo	IN	BN	IEI%	BN+Azo	IN	BN	IEI%
L204xL291	3,24b	3,53b	2,22b	31,45	3,88b	3,75b	3,04c	21,73
L217xL291	1,93d	2,22d	1,15b	40,35	2,43d	2,80c	2,00d	17,72
L292xL291	2,34c	3,10c	1,84b	21,34	3,13c	3,16c	2,07d	33,69
L326xL291	1,90d	2,22d	1,52b	20,03	2,81d	3,11c	2,69d	4,27
L381xL291	2,67c	3,22c	1,68b	37,03	3,47c	3,04c	2,61d	24,69
L689xL291	3,13b	3,15c	2,31a	26,12	3,26c	4,42a	3,53b	-8,07
L691xL291	3,09b	4,19a	2,96a	4,31	2,85d	2,60c	2,91c	-2,22
L204xL322	3,02b	2,82c	1,97b	34,66	2,99c	2,84c	2,60d	12,84
L217xL322	1,92d	2,69d	1,39b	27,31	2,50d	2,78c	2,11d	15,58
L292xL322	3,75a	4,03b	2,17b	42,08	2,53d	3,09c	2,59d	-2,11
L326xL322	1,58d	3,01c	1,76b	-11,83	2,69d	2,85c	2,59d	3,60
L381xL322	2,48c	2,91c	1,77b	28,53	3,30c	3,51c	2,88c	12,83
L689xL322	2,95b	3,42c	2,15b	27,09	3,70b	3,30c	3,14c	15,22
L691xL322	3,45b	4,26a	2,77a	19,63	3,05c	3,78b	2,56d	15,87
L204xL690	3,14b	3,89b	2,75a	12,41	4,79a	4,46a	2,63d	45,13
L217xL690	3,27b	3,87b	2,66a	18,47	4,16b	3,33c	2,40d	42,23
L292xL690	3,16b	4,17a	2,66a	16,01	3,97b	4,60a	3,01c	24,04
L326xL690	3,83a	3,58b	2,53a	33,89	4,02b	4,23a	4,14b	-3,15
L381xL690	4,37a	3,32c	2,76a	36,79	4,84a	3,84b	4,60a	4,95
L689xL690	2,72c	2,86c	2,44a	10,17	4,72a	4,49a	4,33b	8,33
L691xL690	3,22b	4,31a	3,21a	0,52	3,40c	3,80b	2,95c	13,14
L204xL76	2,98b	3,59b	2,78a	6,81	3,88b	3,51c	3,36c	13,41
L217xL76	2,78c	2,97c	2,27a	18,23	3,26c	3,41c	3,14c	3,68
L292xL76	3,93a	4,25a	2,89a	26,52	3,44c	3,72b	2,71d	21,20
L326xL76	2,59c	2,55d	1,91b	26,13	4,37b	3,00c	3,12c	28,55
L381xL76	4,23a	4,72a	2,02b	52,21	4,94a	3,51c	3,78b	23,50
L689xL76	3,84a	4,50a	2,66a	30,67	5,06a	4,65a	2,46d	51,45
L691xL76	3,05b	3,96b	2,79a	8,42	4,09b	3,59c	3,60b	11,98

Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa entre as médias de acordo agrupamento de médias Scott Knott ( $p < 0,05$ ).

Os híbridos L381xL76 (inverno) e L689xL76 (verão) apresentaram, respectivamente, os maiores valores percentuais de incremento para RG de 52,21 e 51,45% (Tabela 5). Esse resultado é um bom indicador da alta responsividade dos genótipos à inoculação de *A. brasilense*, embora não seja suficiente para selecioná-los, pois atrelado a isso deve-se levar em conta a média de rendimento de grãos dos híbridos.

No que se refere à CE, o agrupamento de médias na época do inverno formou seis grupos em cada ambiente. O grupo com maior média em BN+Azo teve dois híbridos, em IN teve 5 híbridos e em BN teve três híbridos (Tabela 6). O híbrido L326xL690 com médias de 44,17, 43,39 e 45,00 mL g<sup>-1</sup> e híbrido L326xL76 com médias de 43,67, 42,33 e 42,89 mL g<sup>-1</sup> nos ambientes BN+Azo, IN e BN, respectivamente, foram os dois maiores destaques por estarem presentes no grupo de maior média dos três ambientes dessa época (Tabela 6).

Foi possível notar que os experimentos conduzidos na época de verão, o agrupamento de médias para capacidade de expansão formou quatro grupos para cada um dos ambientes avaliados (Tabela 6). O ambiente BN+Azo teve 10 híbridos no grupo de maior média, com destaque para o cruzamento L326xL322 com 39,28 mL g<sup>-1</sup>. Em IN foram 14 híbridos no grupo de maior média, sendo a mais elevada para o híbrido L217xL690 de 39,33 mL g<sup>-1</sup>, enquanto BN apresentou 11 híbridos no grupo superior e a maior média foi para o híbrido L691xL322 de 39,33 mL g<sup>-1</sup> (Tabela 6).

De uma perspectiva geral, pode-se observar que os resultados encontrados nos experimentos conduzidos na época de inverno apresentaram valores maiores de CE e demonstraram maior variação dos híbridos com relação à média geral do ambiente, onde as estimativas apresentadas tiveram maior amplitude e variaram entre 20,89 e 45,00 mL g<sup>-1</sup> considerando os três ambientes, bem como o agrupamento de médias que teve um maior número de grupos formados.

Os híbridos L326xL690 e L326xL76 apresentaram médias de CE superiores ao exigido pela indústria, com valores mínimos de 30 a 37 mL g<sup>-1</sup> para embalagens de saquinho e 40 mL g<sup>-1</sup> para micro-ondas (Sawazaki, 2010). Além disso, os resultados são inéditos e muito acima da média encontrada em vários trabalhos já realizados pelo grupo de melhoramento de milho-pipoca da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Amaral Junior et al., 2023a; Amaral Junior et al., 2023b).

**Tabela 6** - Agrupamento de médias e índice de eficiência de inoculação (IEI) para a capacidade de expansão (CE) de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) em duas épocas.

Híbridos	CE (mL g <sup>-1</sup> )							
	Inverno				Verão			
	BN+Azo	IN	BN	IEI%	BN+Azo	IN	BN	IEI%
L204xL291	32,56e	35,67d	33,11d	-1,70	36,39a	35,11a	35,50a	2,45
L217xL291	36,89c	38,22c	36,06c	2,26	33,94b	33,61b	33,39b	1,63
L292xL291	30,61e	35,50d	31,11d	-1,64	32,06b	33,45b	33,11b	-3,29
L326xL291	38,44c	41,89a	36,78c	4,34	32,28b	31,45b	36,95a	-14,47
L381xL291	20,89g	24,50f	22,33f	-6,91	25,33d	21,17d	23,45d	7,45
L689xL291	34,11d	34,72d	32,06d	6,02	30,83b	31,33b	31,44b	-1,98
L691xL291	32,00e	35,44d	34,45c	-7,65	33,78b	30,33b	32,45b	3,94
L204xL322	37,67c	40,06b	41,44b	-10,03	37,11a	38,61a	37,83a	-1,94
L217xL322	39,83b	39,61b	39,78b	0,14	37,50a	38,83a	37,66a	-0,44
L292xL322	35,39d	33,83d	32,50d	8,16	34,11b	34,89a	36,84a	-7,98
L326xL322	38,44c	42,11a	40,56b	-5,50	39,28a	32,00b	36,83a	6,23
L381xL322	28,61f	30,50e	31,17d	-8,94	26,44d	27,83c	28,16c	-6,50
L689xL322	35,28d	36,33c	35,89c	-1,74	35,17a	36,61a	34,33b	2,38
L691xL322	36,39c	37,78c	42,28b	-16,20	34,05b	37,45a	39,33a	-15,51
L204xL690	30,22e	26,84f	29,50e	2,38	29,39c	31,83b	29,56c	-0,57
L217xL690	41,33b	44,83a	44,22a	-6,99	36,83a	39,33a	35,05a	4,83
L292xL690	37,61c	37,83c	35,89c	4,59	36,61a	35,89a	37,45a	-2,29
L326xL690	44,17a	43,39a	45,00a	-1,89	37,60a	35,83a	35,45a	5,73
L381xL690	36,44c	36,94c	34,94c	4,12	35,44a	35,50a	34,06b	3,91
L689xL690	34,72d	35,22d	35,55c	-2,40	36,05a	37,56a	35,72a	0,92
L691xL690	40,22b	39,39b	36,00c	10,50	32,89b	36,17a	33,06b	-0,52
L204xL76	32,44e	33,83d	35,05c	-8,04	33,17b	35,22a	33,33b	-0,50
L217xL76	34,11d	31,11e	35,67c	-4,55	32,22b	32,83b	30,33c	5,86
L292xL76	33,72d	36,83c	33,78d	-0,17	33,39b	31,45b	33,45b	-0,17
L326xL76	43,67a	42,33a	42,89a	1,79	35,67a	37,22a	32,44b	9,04
L381xL76	27,00f	26,44f	26,39e	2,26	22,83d	22,34d	24,33d	-6,57
L689xL76	34,83d	37,94c	33,83d	2,87	32,44b	32,67b	31,89b	1,71
L691xL76	36,94c	38,83c	32,50d	12,03	31,67b	31,28b	32,67b	-3,16

Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias de acordo com o agrupamento de médias Scott Knott ( $p < 0,05$ ).

O híbrido L326xL690, além da alta CE, apresentou médias de RG, para os ambientes BN+Azo, IN e BN próximas de 4 t ha<sup>-1</sup>, o que faz desse híbrido um potencial para ser registrado e disponibilizado para o cultivo na região norte e noroeste fluminense.

Com relação à época de verão, constata-se menor diferenciação entre os híbridos, nos diferentes ambientes, com relação à média geral da característica. Para esta condição as estimativas foram de 21,17 a 39,33 mL g<sup>-1</sup>, o que representa menor intervalo e menor número de grupos formados (Tabela 6).

Com relação ao IEI para a CE, apenas 13 híbridos do total de 28 apresentaram IEI positivo em cada época (Tabela 6). Apesar do número de estimativas positivas do IEI ser igual nas duas épocas, essas estimativas não foram representadas pelos mesmos híbridos. Isso demonstra uma alteração na *performance* dos híbridos em decorrência do efeito da época o que contribuiu para causar aumento ou redução na média da CE. Apesar da CE ter apresentado um maior número de estimativas negativas de IEI em comparação ao RG, contudo, são estimativas negativas de baixa magnitude, as quais não comprometem a seleção de genótipos responsivos à inoculação com *A. brasilense* frente aos ganhos obtidos para o rendimento de grãos.

Considerando os resultados apresentados no agrupamento de médias para RG no ambiente BN+Azo, os híbridos L381xL690, L381xL76 e L689xL76 foram os que mais se destacaram por apresentar as maiores médias de rendimento de grãos ao considerar as duas épocas simultaneamente. Com relação à CE no ambiente BN+Azo, considerando as duas épocas simultaneamente, apenas os híbridos L326xL76 e L326xL690 apresentaram as maiores médias para capacidade de expansão. Esses resultados explicitam a forte correlação negativa existente entre RG e CE (Dofing et al., 1991; Daros et al., 2004; Rangel et al., 2011).

No intuito de se obter ganhos simultâneos para essas duas características pode-se lançar mão de algumas estratégias. Segundo Rangel et al. (2011), é possível obter resposta correlacionada na CE via RG, desde que se realize a seleção de genótipos com maior rendimento e menor tamanho de grãos. Outra estratégia viável é a utilização de índices de seleção, em que são atribuídos pesos arbitrários os quais permitem a predição de ganhos simultâneos para RC e CE (Santos et al., 2007).

Para o conjunto de híbridos avaliados, o híbrido L326xL690 é o mais promissor como responsivo à inoculação com *A. brasilense*, ao conciliar RG e CE, o qual apresentou RG de 3,83 e 4,02 t ha<sup>-1</sup> e CE de 44,17 e 37,60 mL g<sup>-1</sup> na época de inverno e verão, respectivamente (Tabelas 5 e 6). Dentro das expectativas para o rendimento de grãos na cultura do milho-pipoca, os genótipos avaliados neste trabalho apresentaram médias de RG elevadas, por exemplo, o híbrido L689xL76 no ambiente BN+Azo com 5,0 t ha<sup>-1</sup> e IEI de 51% (Tabela 5), o qual demonstrou ser altamente responsivo à inoculação.

Uma meta-análise realizada por Barbosa et al. (2022), mostrou evidências de que os maiores índices de eficiência da inoculação foram observados em cultivos que utilizaram 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio em cobertura, bem como os maiores aumentos de produtividade devido à inoculação ocorreram na classe ≤3.000 kg ha<sup>-1</sup>. Outro trabalho recente, em um grande conjunto de experimentos avaliados ao longo de alguns anos, trouxe relatos de aumentos importantes (+6,9%) de rendimento de grãos ampliando a classe de produtividade para ≤5.000 kg ha<sup>-1</sup> em condições subtropicais (+3,1%) e tropicais (+4,0%) (Hungria et al., 2022). Essa faixa de produtividade engloba todos os genótipos que apresentaram alto rendimento de grãos no presente trabalho.

## **5.2 Estimativas das capacidades combinatórias para rendimento de grãos e capacidade de expansão de híbridos e genitores de milho-pipoca**

A escolha de genótipos é geralmente baseada na média das características de interesse. Quando se trabalha com seleção de genitores, outros parâmetros genéticos também podem ser utilizados para auxiliar na escolha e gerar descendências com alto potencial genético. Por meio das análises dialélicas é possível calcular os efeitos das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação e possibilitar estimar parâmetros essenciais na seleção de genitores para a obtenção de híbridos (Cruz e Regazzi 1994; Cruz et al., 2012).

Diante disso, por meio da análise das estimativas das capacidades combinatórias é possível identificar genitores com maior capacidade de contribuição de alelos favoráveis para as características das quais se desejam obter ganhos. Diante disso foram obtidas as estimativas das capacidades combinatórias

dos híbridos e seus respectivos genitores para o rendimento de grãos (RG) e para a capacidade de expansão (CE).

O desdobramento do efeito de híbridos em capacidade geral de combinação das linhagens (CGC I), capacidade geral de combinação dos testadores (CGC II) e capacidade específica de combinação (CEC), foi significativo a 1% de probabilidade para todas as características (Tabela 7). Esses resultados para CGC revelam a variabilidade existente entre os parentais, no que se refere às contribuições alélicas favoráveis para as características avaliadas nos híbridos originados de seus cruzamentos. Já o efeito significativo para CEC indica que os híbridos apresentam um desempenho distinto daquele previsto tendo como base apenas as capacidades gerais de combinação. Além disso, os valores da soma de quadrados da CGC I e CGC II foram muito superiores aos da soma de quadrados da CEC.

Esses resultados encontrados sugerem a presença de efeitos gênicos aditivos e não-aditivos na expressão dessas características, com predominância dos efeitos aditivos. Isso também foi observado por Koltun et al. (2018) ao realizarem um estudo com a interação entre *A. brasilense* (Ab-V5) em 27 genótipos de milho, incluindo 24 híbridos experimentais de um dialelo parcial. Esses autores concluíram que os efeitos aditivos dos genes foram mais importantes do que os efeitos não aditivos para todas as características avaliadas.

Nas interações das capacidades combinatórias com as épocas (CGC I X E, CGC II x E e CEC x E) houve diferença significativa a 1% de probabilidade para RG e CE (Tabela 7). Isso demonstra que a contribuição dos parentais e a *performance* dos híbridos, para essas características, foram influenciadas pelas condições presentes em cada época. Com relação à interação das capacidades combinatórias com os ambientes (CGC I x A, CGC II x A e CEC x A), RG e CE também apresentaram efeito significativo a 1% de probabilidade considerando todas as capacidades combinatórias com os ambientes (Tabela 7). Diante disso, infere-se que a proporção de alelos favoráveis dos parentais é alterada pelas condições de cada ambiente e, também, no caso da inoculação de *A. brasilense* tem sua influência alterada pelo ambiente na *performance* dos genótipos. Portanto, é recomendado realizar a seleção de pais específicos para as condições específicas de interesse, como uma alternativa para maximizar ganhos no desenvolvimento de híbridos (Makumbi et al., 2011).

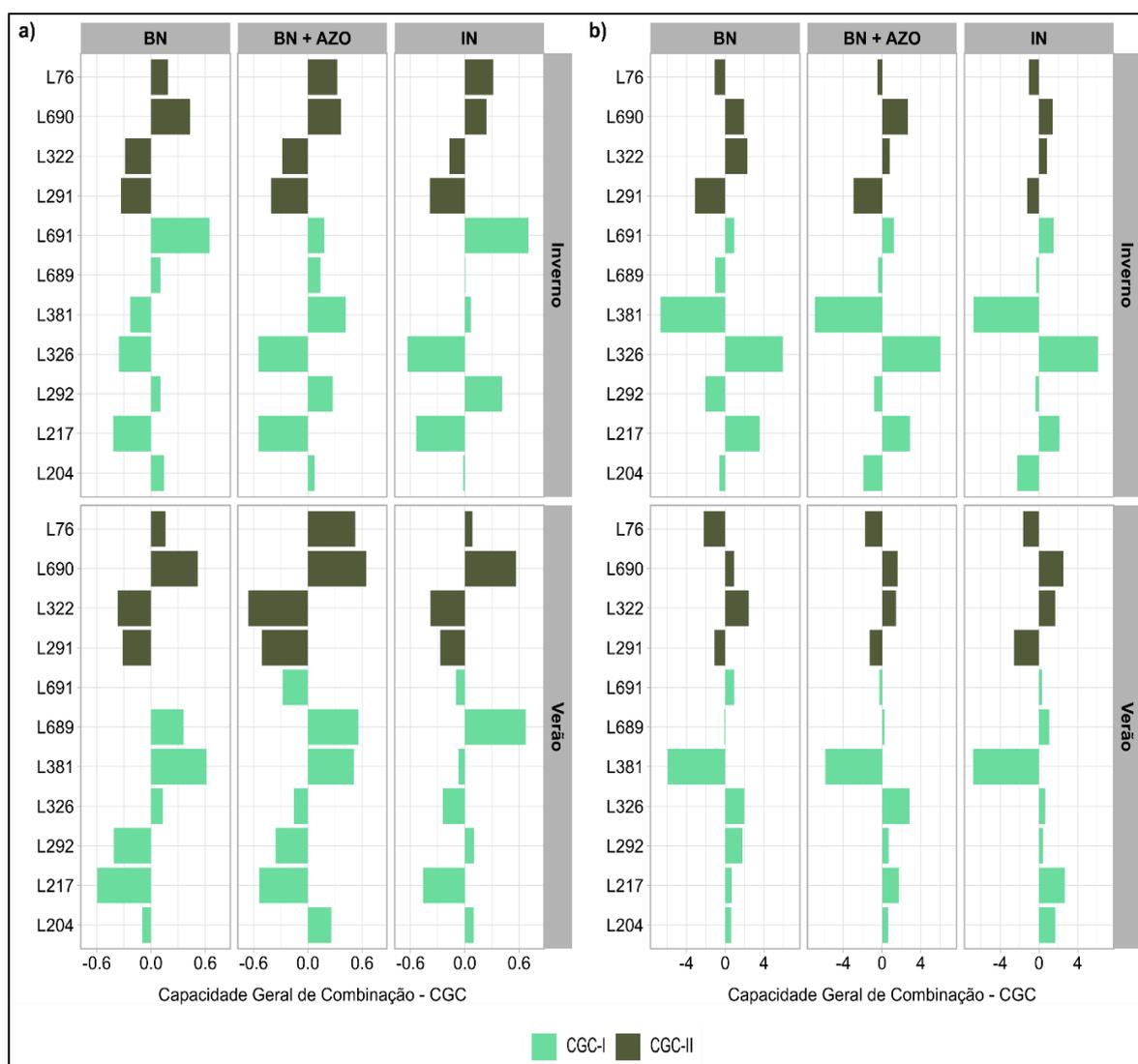
**Tabela 7** - Resumo da análise de variância conjunta para rendimento de grãos e capacidade de expansão de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em três ambientes e duas épocas de cultivo.

FV	GL	Quadrados Médios	
		RG	CE
(B/A)/E	12	0,35	3,69
Híbridos (H)	27	4,80**	309,24**
CGC I	6	6,50**	759,00**
CGC II	3	22,97**	498,65**
CEC	18	1,21**	127,75**
Época (E)	1	27,05**	610,5**
H x E	27	1,35**	32,43**
CGC I x E	6	3,27**	95,57**
CGC II x E	3	1,07**	21,22**
CEC x E	18	0,75**	13,25**
Ambiente (A)	2	34,64**	20,03**
H x A	54	0,61**	5,91**
CGC I x A	12	0,73**	3,10**
CGC II x A	6	0,53**	9,71**
CEC x A	36	0,58**	6,21**
E x A	2	5,12*	14,08**
H x E x A	54	0,43**	10,22**
CGC I x E x A	12	0,43**	9,78**
CGCII x E x A	6	0,33 <sup>ns</sup>	16,16**
CEC x E x A	36	0,45**	9,05**
Resíduo	324	0,19	4,19
Média		3,16	34,53

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; RG: rendimento de grãos, em t ha<sup>-1</sup>; CE: capacidade de expansão, em mL g<sup>-1</sup>; CGC I: capacidade geral de combinação das linhagens; CGC II: capacidade geral de combinação dos testadores; CEC: capacidade específica de combinação; \*\*, \*, <sup>ns</sup> significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente.

Com relação ao RG, as linhagens L691, L689, L292 e L204 pertencentes ao grupo I (CGC I) apresentaram estimativas positivas de CGC na época de inverno, enquanto no verão apenas a linhagem L689 apresentou estimativa de CGC positiva nos três ambientes, o que demonstra certa instabilidade desses genótipos quando submetidos a condições de manejo e épocas diferentes. Já, os testadores L76 e L690 pertencentes ao segundo grupo (CGC II) apresentaram estimativas de CGC positivas para os três ambientes nas duas épocas de cultivo (Figura 6a).

Em relação à CE, as linhagens L691, L326 e L292 (CGC I) apresentaram estimativas positivas de CGC em todos os ambientes no inverno. Considerando a época de verão, a maioria das linhagens tiveram estimativas de CGC positivas, exceto L689 em BN, L691 em BN+Azo e L381 nos três ambientes. Tiveram maior destaque as linhagens L326 e L217, as quais apresentaram CGC positiva em todos os ambientes das duas épocas.



**Figura 6** - Estimativas da capacidade geral de combinação de 7 linhagens (CGC-I) e 4 testadores (CGC-II) avaliados em duas épocas (inverno e verão) sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo). a) Rendimento de grãos (RG, t ha<sup>-1</sup>) e b) Capacidade de expansão (CE, mL g<sup>-1</sup>).

Os testadores L690 e L322 tiveram estimativas de CGC positivas para CE nos três ambientes das duas épocas avaliadas. Cabe ainda um destaque para o testador L690 que apresentou estimativas de CGC positivas tanto para RG quanto CE em todos os cenários apresentados (Figura 6b).

Com relação ao rendimento de grãos, os testadores L76 e L690 apresentaram estimativas de CGC positivas para os três ambientes nas duas épocas de cultivo, destacando-se o ambiente BN+Azo com valores mais elevados, enquanto as linhagens L689 e L381 também apresentaram estimativas de CGC positivas nas duas épocas (Figura 6a).

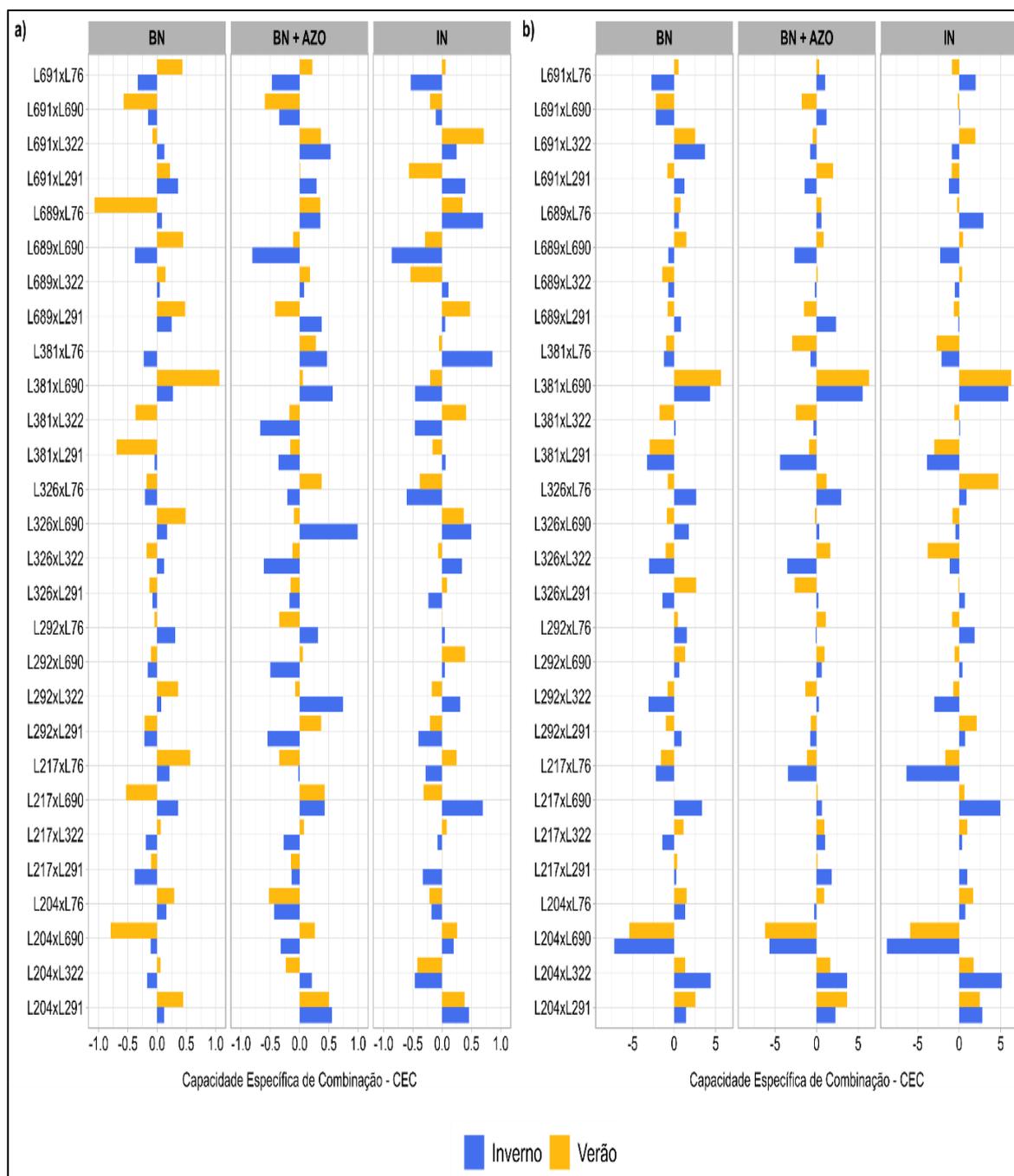
Isso denota a contribuição, positiva e consistente, de alelos favoráveis desses parentais para aumentar o rendimento de grãos. Esse resultado é ratificado pela presença preponderante desses genótipos como parentais da maioria dos híbridos que tiveram no grupo de maior média para RG (Tabela 5).

Para a CE, as linhagens L326 e L217 e os testadores L690 e L322 apresentaram CGC positiva em todos os ambientes nas épocas de inverno e verão. Esse resultado evidencia a *performance* consistente desses progenitores em contribuir favoravelmente para a capacidade de expansão nas diferentes condições e épocas. Valores positivos e elevados são imprescindíveis para a escolha de genitores com alto rendimento de grãos sob inoculação de *A. brasilense* (Buzinaro et al., 2018). Nessa perspectiva, seria promissor a utilização desses genitores para obtenção de híbridos com potencial de adaptação a condições de baixa disponibilidade de nitrogênio e responsivos à inoculação com *A. brasilense*.

Levando-se em conta as estimativas de CEC para RG, os híbridos com CEC positiva para os três ambientes representam 46% do total de híbridos avaliados na época inverno e 50% na época de verão (Figura 7a). Os testadores L76 e L690, que apresentaram mais estimativas positivas de CGC (Figura 6a), também estiveram presentes em 4 combinações híbridas que tiveram CEC positiva. No que se refere à CE, 57% dos híbridos apresentaram CEC positiva no inverno, enquanto no verão foram 53% (Figura 7b).

De acordo com Vencovsky (1987), a capacidade geral de combinação (CGC) está associada a genes de efeito aditivo e representa o comportamento médio de um genitor em combinações híbridas. Por sua vez, a capacidade específica de combinação (CEC) é definida como o desvio do comportamento do

cruzamento híbrido em relação ao que seria esperado com base na CGC dos genitores desse cruzamento.



**Figura 7** - Estimativas da capacidade específica de combinação (CEC) de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em duas épocas (inverno e verão), sob 3 ambientes, com disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixo nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo). **a)** rendimento de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) e **b)** capacidade de expansão (CE,  $mL\ g^{-1}$ ) de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em três ambientes e duas épocas.

A CEC está associada aos efeitos gênicos não aditivos, que incluem efeitos de epistasia, dominância completa ou dominância parcial (Hallauer et al., 2010). Ter o conhecimento das estimativas de CGC e CEC das linhagens e híbridos avaliados neste estudo é indispensável para um programa de melhoramento que busque desenvolver híbridos responsivos à inoculação de *A. brasilense*, o que possibilita ampliar a indicação mais assertiva dos melhores genitores.

Tomando como base a CEC para o RG no inverno, o ambiente BN teve 13 estimativas positivas de CEC com um intervalo entre -0,4 (L217xL291) e 0,4 (L217xL690). Para o ambiente BN+Azo também foram observadas 13 estimativas de CEC positivas e houve uma variação entre -0,8 (L689xL690) e 1,0 (L326xL690). No ambiente IN as estimativas variaram entre -0,9 (L689xL690) e 0,9 (L381xL76), dentre as quais 13 tiveram estimativas positivas de CEC (Figura 7a).

O número de híbridos com CEC positiva para os três ambientes representa 46% do total de híbridos avaliados. Vale também salientar que apesar do número de estimativas positivas ter sido igual nos três ambientes, houve alteração entre os genótipos com estimativas positivas em cada ambiente.

Para o RG considerando a época de verão, as estimativas de CEC encontradas no ambiente BN apresentaram um intervalo de -1,1 (L689xL76) a 1,1 (L381x690) com 14 delas sendo positivas, ou 50% dos híbridos avaliados. Em BN+Azo também foram 50% dos híbridos com estimativas positivas, em que o maior efeito positivo de CEC foi 0,5 (L204xL291), enquanto para as estimativas negativas de CEC a maior foi -0,6 (L691xL690). Diferente dos demais, o ambiente IN teve apenas 12 estimativas CEC positivas e houve um intervalo de -0,6 (L689xL291) a 0,7 (L691xL322) (Figura 7a).

No que concerne às estimativas de CEC para a capacidade de expansão na época de verão, os ambientes BN, BN+Azo e IN apresentaram, respectivamente 16, 15 e 16 estimativas CEC positivas do total de 28 híbridos avaliados (Figura 7b). No ambiente BN houve um intervalo de -7,2 (L204xL690) a 4,4 (L381xL690), enquanto para BN+Azo as estimativas de CEC alternaram entre -5,7 (L204xL690) e 5,6 (L381xL690) e entre -8,7 (L204xL690) e 5,9 (L381xL690) no ambiente IN (Figura 7b).

Pode-se verificar que as menores estimativas de CEC para a CE ocorreram no cruzamento (L204xL690) ao passo que as maiores estimativas positivas de CEC foram encontradas no cruzamento (L381xL690) nos três ambientes avaliados.

Com relação à CE na época de verão, as estimativas de CEC foram positivas em 14 híbridos do ambiente BN, 16 híbridos do BN+Azo e 12 híbridos do ambiente IN. Em BN, as estimativas de CEC variaram entre -5,4 e 5,7 nos respectivos híbridos L204xL690 e L381xL690. Para BN+Azo, as estimativas variaram de -6,2 (L204xL690) a 6,3 (L381xL690). No que se refere ao IN, foi observado um intervalo entre -5,9 (L204xL690) e 6,3 (L381xL690) (Figura 7b). Novamente o híbrido L381xL690 apresentou as maiores estimativas positivas de CEC nos três ambientes, o que demonstra a *performance* estável do genótipo quando submetido a diferentes condições de manejo e clima.

Os resultados do presente estudo mostraram que tanto as estimativas de CGC quanto as estimativas de CEC foram influenciadas e sofreram alterações quando se comparam os valores observados nos diferentes ambientes e nas duas épocas de avaliação. Alguns genótipos tiveram suas estimativas aumentadas e outros chegaram a inverter as magnitudes, positiva ou negativamente, por ocasião da mudança de ambiente/época.

As medidas da capacidade de combinação geral e específica são estimativas relativas referentes aos genótipos. Elas dependem dos grupos populacionais e das condições de avaliação e podem interagir com os ambientes (Pfann et al., 2009). Ademais, para o presente estudo também se deve considerar os genótipos avaliados no ambiente BN+Azo, devido a interação bactéria-genótipo relatada em trabalhos anteriores (Pereg et al., 2016; Scharf et al., 2016).

### **5.3 Efeito da inoculação de *A. brasilense* na resistência genética a doenças fúngicas**

#### **5.3.1 *Azospirillum brasilense* x *Bipolaris maydis***

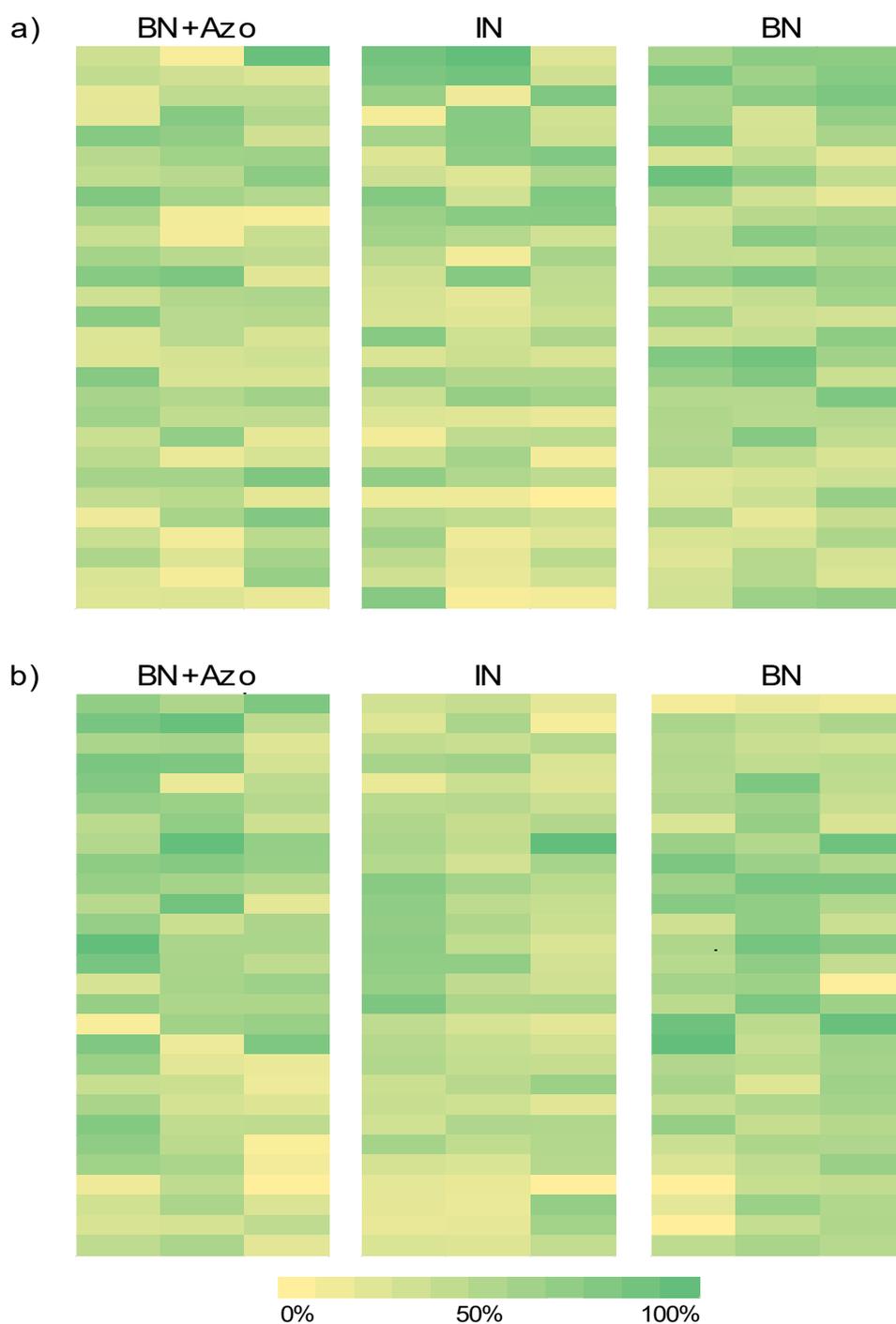
Os mapas de incidência servem para demonstrar como ocorreu a distribuição espacial de uma determinada doença nas parcelas experimentais de

um experimento. Por meio da avaliação visual da incidência de *B. maydis*, a distribuição indicou que a infecção das plantas pelo patógeno ocorreu por meio da inoculação natural, ou seja, a doença esteve presente em todas as parcelas, sem a formação de áreas com predominância ou inexistência de incidência dos sintomas da doença (Figura 8).

Quanto mais homogênea for a distribuição da doença dentro da área experimental, maior a precisão em identificar genótipos com resistência genética ao patógeno em estudo. Desta forma, evita-se que não exista um gradiente de pressão de inóculo que venha a favorecer ou prejudicar um determinado genótipo, além de permitir fazer a comparação entre os genótipos de forma mais precisa.

No contexto do presente estudo, as médias dos ambientes na época de inverno foi acima de 35% de incidência, enquanto para a época de verão foi acima de 25% de incidência. As baixas estimativas podem ser compreendidas por se tratar de um patógeno que precisa de temperaturas menores, compreendidas entre 25 e 30 °C, com alta umidade (Casela et al., 2006; Martinez et al., 2010).

Notadamente a época de verão, com temperatura média acima de 26°C e máxima atingindo 40°C, apresentou médias inferiores de incidência e severidade de MB em relação ao inverno, onde na região predominaram temperaturas com média de 22°C (Figura 1), condições muito contrastantes que influenciaram no desenvolvimento do patógeno.



**Figura 8** - Mapa de incidência da mancha de *Bipolaris* (IMB) causada por *B. maydis* nas parcelas de cada ambiente nas épocas de inverno (a) e verão (b) de 2023 em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. Baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo); disponibilidade ideal de nitrogênio (IN) e baixa disponibilidade de nitrogênio (BN).

A severidade de mancha de *Bipolaris* (SMB) apresentou efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para as fontes de variação Híbrido, Época e Ambiente, da mesma forma também foi observado para todas as interações entre essas fontes (Tabela 8).

No tocante a característica IMB, houve efeito significativo a 1% de probabilidade para as fontes de variação Híbrido e Época e para a interação H x E, enquanto a interação tripla H x E x A foi significativa a 5% de probabilidade. Já a fonte de variação Ambiente e as interações H x A e E x A apresentaram efeito não significativo, enquanto a interação tripla H x E x A foi significativa a 5% de probabilidade (Tabela 8).

A média geral para IMB e SMB foram respectivamente, 32,23 e 0,72, portanto, estimativas baixas, principalmente para SMB, fato este que pode dificultar a identificação de genótipos resistentes e a diferenciação destes frente a genótipos com maior suscetibilidade aos sintomas da mancha de *Bipolaris*. De forma semelhante, as estimativas do CV foram de 21,87 para IMB e 57,56 para SMB (Tabela 8).

Valores baixos de CV demonstram precisão na execução experimental o que contribui para dar maior confiabilidade aos dados apresentados, ainda mais quando se trata de características relacionadas à avaliação de doenças em plantas, pois essas características apresentaram muita variação devido à influência significativa de fatores ambientais não controláveis. Gurgel et al. (2013) investigaram a acurácia experimental em ensaios com milho e feijão, recomendando que faixas específicas de variação do coeficiente de variação sejam adotadas para cada variável de resposta. Isso se deve ao fato de que diferentes fatores influenciam cada tipo de variável nos experimentos.

**Tabela 8** - Resumo da análise de variância conjunta para incidência e severidade de *B. maydis* em 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob três ambientes em duas épocas de cultivo.

FV	GL	Quadrados Médios	
		IMB	SMB
(B/A)/E	12	90,6	0,07
Híbrido (H)	27	635,6**	2,26**
Época (E)	1	22813,4**	16,28**
H x E	27	740,8**	1,82**
Ambiente (A)	2	141,3 <sup>ns</sup>	6,75**
H x A	54	59,0 <sup>ns</sup>	0,78**
E x A	2	619,3 <sup>ns</sup>	1,21**
H x E x A	54	77,2*	0,90**
Resíduo	324	49,7	0,16
Média		32,23	0,72
CV (%)		21,87	57,56

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação experimental; CGC I: capacidade geral de combinação das linhagens; CGC II: capacidade geral de combinação dos testadores; CEC: capacidade específica de combinação; IMB: incidência de *B. maydis*; SMB: severidade de *B. maydis*; \*\*, \*, <sup>ns</sup> significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente.

Para a IMB na época de inverno, o ambiente BN+Azo teve a menor média e ficou no mesmo grupo do IN, enquanto o BN ficou isolado no grupo de maior média. Esses resultados são ratificados também ao se observar as estimativas do índice de eficiência da inoculação (IEI) e da variação percentual (VP), os quais apresentaram estimativas negativas, respectivamente, -12,37 e -11,98 (Tabela 9).

Para a SMB na mesma época, o ambiente BN+Azo apresentou média superior ao BN e inferior ao IN, mas foram estatisticamente iguais ficando no mesmo grupo. O IEI demonstra que a média do BN+Azo foi 27,91% superior à média do BN, enquanto a VP aponta a média do IN 47,90% superior à média do BN (Tabela 9).

Considerando a época do verão, tanto a IMB quanto a SMB tiveram médias nos ambientes BN+Azo e IN maiores em relação ao ambiente BN. Para IMB, os ambientes BN+Azo e IN ficaram no grupo de maior média, enquanto para SMB não houve diferença estatística entre os ambientes. As estimativas do IEI e VP para a SMB nessa época são menores em relação à época de inverno, ao passo que para

**Tabela 9** - Estimativas médias da incidência e severidade de *B. maydis*, avaliadas em 28 híbridos de milho-pipoca cultivados em três condições de manejo e duas épocas.

Variável		Inverno				
		BN+AZO	IN	BN	IEI%	VP%
IMB	Média	37,36b	37,49b	41,98a		
	CV (%)	21,41	24,87	18,05	-12,37	-11,98
	H <sup>2</sup>	0,85	0,84	0,85		
SMB	Média	0,86a	1,19a	0,62a		
	CV (%)	63,25	50,08	54,04	27,91	47,90
	H <sup>2</sup>	0,86	0,84	0,80		
Verão						
IMB	Média	27,11a	25,11b	24,28b		
	CV (%)	19,91	23,70	20,59	10,44	3,31
	H <sup>2</sup>	0,74	0,66	0,56		
SMB	Média	0,49a	0,66a	0,44a		
	CV (%)	62,30	44,44	56,83	10,20	33,33
	H <sup>2</sup>	0,85	0,92	0,89		

Índice de eficiência de inoculação (IEI); variação percentual (VP); coeficiente de variação experimental (CV); coeficiente de determinação genotípico (H<sup>2</sup>); disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo); incidência (IMB) e severidade (SMB) de *B. maydis*. Ambientes com médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo agrupamento de Scott-Knott t ( $p < 0,05$ ).

a IMB as estimativas desses índices são positivas, contrariando o que ocorreu para a mesma característica na época de inverno.

No que se refere ao CV, a característica IMB apresentou estimativas variando de 18,05 a 24,87, considerando todos os ambientes nas duas épocas, enquanto para a SMB as estimativas são bem mais elevadas, variando entre 44,44 e 63,25, o que demonstra maior influência de fatores ambientais atuando sobre essa característica (Tabela 9). Contudo, vale ressaltar que esses valores compreendem uma boa precisão dos dados no contexto da avaliação de doenças de plantas.

Para o coeficiente de determinação genotípico (H<sup>2</sup>), as duas características IMB e SMB apresentaram estimativas elevadas, acima de 0,80 para a maioria dos ambientes nas duas épocas, exceto para a IMB na época de verão que apresentou estimativas abaixo de 0,80 nos três ambientes (Tabela 9).

Estimativas elevadas de  $H^2$  são importantes para aumentar a chance de acerto na seleção de genótipos superiores para as características de interesse. Isso tendo em vista que esse estimador reflete o percentual dos fatores genéticos que está associado a expressão do fenótipo do indivíduo avaliado.

No agrupamento de médias para SMB na época de inverno, o ambiente BN+Azo formou três grupos, com o grupo de menor média contendo 26 híbridos. O ambiente IN formou dois grupos, com 25 híbridos no grupo b com as menores médias e o BN apresentou um único grupo, o que demonstra que não houve diferença significativa das médias apresentadas entre todos os híbridos deste ambiente. No que se refere ao IEI para a época de inverno, 18 híbridos dos 28 apresentaram estimativas negativas, as quais variaram de -7,02 (L292xL322) a -466,60 (L217xL291) (Tabela 10).

Considerando o agrupamento de médias de SMB na época de verão, em todos os ambientes foi observado a formação de um único grupo, o que indica a inexistência de diferença estatística entre as médias dos híbridos dentro de cada ambiente. Apesar de não haver diferença estatística entre os híbridos em cada um dos três ambientes, o índice de eficiência da inoculação demonstra valores negativos com percentuais elevados para a redução de média da severidade do ambiente BN+Azo em relação ao ambiente BN. Dentre os 28 híbridos avaliados, 14 deles apresentaram estimativas de IEI negativas, variando de -4,69 (L689xL322) a -2757,14 (L204xL76) (Tabela 10).

A época de inverno apresentou mais de 60% dos híbridos com estimativas negativas de IEI, enquanto a época de verão apresentou 50% de estimativas negativas. Também foram observadas estimativas negativas de IEI com magnitudes muito elevadas, isso ocorre devido aos baixíssimos valores observados SMB, pois quando utilizados no índice diante de médias um pouco mais elevadas irão resultar numa alta variação percentual positiva ou negativamente. Notadamente a época de inverno apresentou médias de SMB maiores em relação à época de verão, o que contribui para ter melhor diferenciação entre os híbridos em cada ambiente.

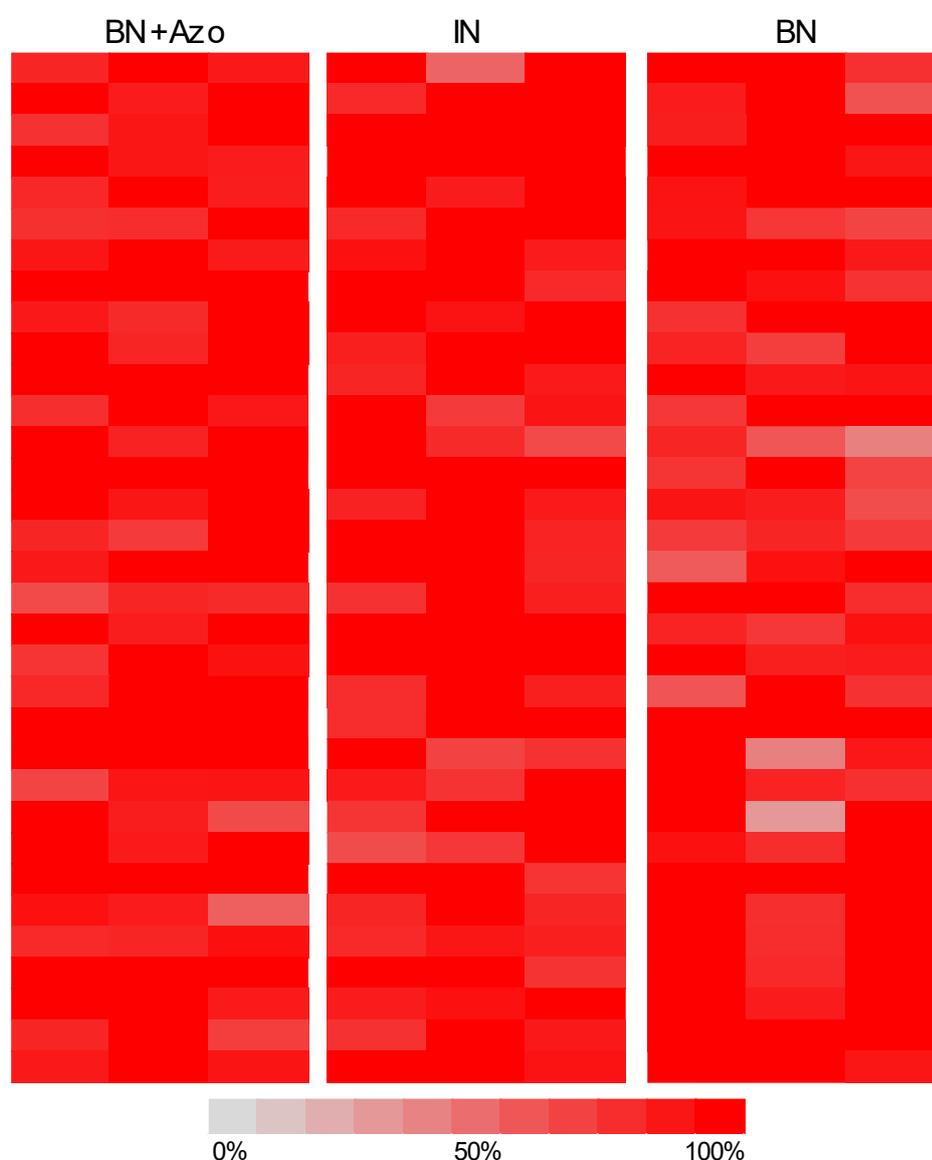
**Tabela 10** - Agrupamento de médias e índice de eficiência de inoculação (IEI) para a severidade de *B. maydis* de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) em duas épocas.

Híbrido	SMB							
	Inverno				Verão			
	BN+AZO	IN	BN	IEI%	BN+AZO	IN	BN	IEI%
L204xL291	0,33c	0,57b	0,32a	3,03	0,00a	0,17a	0,13a	-
L217xL291	0,05c	0,11b	0,28a	-466,60	0,20a	0,14a	0,08a	57,65
L292xL291	0,27c	1,76b	0,56a	-108,63	0,18a	0,08a	0,86a	-377,78
L326xL291	0,03c	0,02b	0,07a	-144,33	0,17a	0,28a	0,15a	11,54
L381xL291	0,14c	0,05b	0,24a	-73,79	0,39a	0,44a	0,39a	0,00
L689xL291	0,39c	0,56b	0,45a	-15,26	0,22a	0,27a	0,26a	-21,50
L691xL291	0,42c	0,72b	1,24a	-194,45	0,12a	0,24a	0,06a	51,34
L204xL322	0,25c	0,25b	0,46a	-86,46	0,04a	0,18a	0,02a	36,51
L217xL322	2,61b	0,93b	1,14a	56,32	0,11a	0,20a	0,10a	11,74
L292xL322	0,33c	0,66b	0,36a	-7,02	0,05a	0,10a	0,25a	-400,00
L326xL322	0,44c	2,69a	0,94a	-114,39	0,11a	0,21a	0,15a	-39,36
L381xL322	0,57c	0,91b	1,38a	-143,52	0,14a	0,17a	0,08a	42,86
L689xL322	0,81c	0,67b	0,70a	13,53	0,21a	0,18a	0,22a	-4,69
L691xL322	0,48c	0,20b	1,11a	-132,16	0,18a	0,44a	0,05a	69,84
L204xL690	0,81c	0,56b	0,70a	12,82	0,07a	0,13a	0,17a	-142,86
L217xL690	0,88c	1,55b	1,00a	-13,64	0,11a	0,26a	0,16a	-44,13
L292xL690	0,54c	0,36b	0,71a	-31,48	0,06a	0,21a	0,40a	-531,91
L326xL690	1,00c	4,12a	1,42a	-41,20	0,39a	0,15a	0,03a	91,39
L381xL690	0,29c	0,81b	1,47a	-400,07	0,18a	0,20a	0,02a	86,81
L689xL690	1,32c	3,40a	0,69a	47,98	0,47a	0,64a	0,16a	65,96
L691xL690	4,21a	1,13b	0,93a	77,99	0,27a	0,10a	0,30a	-9,77
L204xL76	0,17c	0,18b	0,42a	-140,45	0,01a	0,00a	0,38a	-2757,14
L217xL76	0,10c	0,03b	0,04a	55,22	0,08a	0,27a	0,27a	-224,13
L292xL76	0,09c	0,28b	0,06a	34,60	0,16a	0,15a	0,09a	40,46
L326xL76	0,03c	0,05b	0,09a	-170,27	0,66a	0,46a	0,47a	29,14
L381xL76	0,13c	0,03b	0,17a	-31,57	0,04a	0,41a	0,29a	-633,25
L689xL76	0,16c	0,20b	0,15a	2,17	0,25a	0,33a	0,41a	-64,86
L691xL76	0,32c	0,31b	0,24a	26,03	0,14a	0,10a	0,20a	-43,89

Letras diferentes na vertical indicam diferença significativa de acordo agrupamento de médias Scott Knott ( $p < 0,05$ ).

### 5.3.2 *Azospirillum brasilense* x *Fusarium verticillioides*.

A precisão da avaliação de doenças que ocorrem por inoculação natural pode ser aprimorada quando se tem uma distribuição uniforme do patógeno na área. Assim, por meio do uso de mapa de incidência foi possível observar a presença de inóculo em todas as parcelas dos três ambientes avaliados na época de verão (Figura 9).



**Figura 9** - Mapa de incidência da podridão de espiga causada por *Fusarium* em 3 ambientes no verão de 2023 em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo); disponibilidade ideal de nitrogênio (IN) e baixa disponibilidade de nitrogênio (BN).

De acordo com Silva et al. (2007), a avaliação de doença por meio da inoculação natural pode apresentar resultados satisfatórios, sobretudo quando se tem alta pressão de inóculo na área. Nesse aspecto, a incidência média geral dos ambientes foi acima de 85% nos três ambientes (Figura 9).

Portanto, a presença de áreas com alta pressão de inóculo do patógeno-alvo do estudo desempenha um papel fundamental, proporcionando condições favoráveis para a infecção e manifestação da doença. Fator esse que contribui para uma maior eficiência na seleção de genótipos nas fases iniciais do estudo, permitindo uma avaliação mais precisa do potencial de resistência. De acordo com Rossi et al. (2009), o desenvolvimento ideal de *Fusarium* acontece na faixa de temperatura entre 17 a 27°C, e umidade relativa acima de 80%.

Com base na análise de variância conjunta realizada para a doença podridão da espiga, a característica incidência de *Fusarium* (IFER) apresentou efeito significativo a 1% de probabilidade para as fontes de variação Híbrido e para a interação H x AMB, enquanto a fonte Ambiente não apresentou efeito significativo a 1 e 5% de probabilidade (Tabela 11).

No tocante a característica severidade de *Fusarium* (SFER), houve efeito significativo a 1% de probabilidade para as fontes Híbrido, Ambiente e interação H x AMB. O efeito significativo para Híbrido demonstra que pelo menos um dos tratamentos difere dos demais e, portanto indica a existência de variabilidade genética entre os híbridos avaliados. A significância apresentada para a fonte Ambiente indica a mudança na *performance* dos híbridos entre os ambientes avaliados, ao passo que o efeito significativo da interação H x AMB demonstra diferenças no ranqueamento dos híbridos nos diferentes ambientes (Tabela 11).

A média geral para IFER e SFER, de 86,85 e 16,86, respectivamente, são valores elevados tendo em vista que a simples presença dos sintomas causa danos consideráveis por se tratar de uma doença que ataca diretamente os grãos da cultura. Ademais, segundo Morales et al. (2018), a infecção por *Fusarium*, além de comprometer o peso médio dos grãos, intensifica o risco de produção de micotoxinas, como a fumonisina B1, a qual tem sido relacionada ao surgimento de câncer em órgãos dos sistemas circulatório e digestório, afetando tanto animais quanto seres humanos (Yu et al., 2021).

**Tabela 11** - Resumo da análise de variância conjunta para incidência e severidade de *Fusarium* em 28 híbridos de milho-pipoca avaliados em três ambientes na época de verão.

FV	GL	Quadrados Médios	
		IFER	SFER
Bloco/AMB	6	67,40	31,91
Híbridos (H)	27	922,52**	313,89**
Ambientes (AMB)	2	22,77 <sup>ns</sup>	958,53**
H X AMB	54	498,06**	70,95**
Resíduo	162	56,26	41,67
Média		86,85	16,86
CV (%)		8,64	38,28

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação experimental; INCF: incidência de *Fusarium*; SEVF: severidade de *Fusarium*; \*\*, \*, <sup>ns</sup> significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente.

As estimativas do CV de 8,64 e 38,28 para IFER e SFER, respectivamente, são valores baixos que indicam uma boa precisão experimental e dão confiabilidade para a interpretação dos resultados (Tabela 11).

No que se refere à avaliação dos ambientes individualmente, o ambiente BN+Azo apresentou as menores médias para IFER e SFER em comparação aos ambientes IN e BN (Tabela 12). No entanto, de acordo com o agrupamento de médias não houve diferença estatística entre os ambientes para IFER, enquanto para SFER o ambiente IN foi estatisticamente diferente do BN+Azo e BN, os quais ficaram no grupo de menor média.

O índice de eficiência da inoculação (IEI) demonstra que o ambiente BN+Azo teve redução na média 1,03 para INCF e 7,50 para SFER em relação ao ambiente BN. A variação percentual (VP) apresentou estimativas positivas, 0,03 para IFER e 25,25 para SFER, o que indica a superioridade da média do ambiente IN em relação ao BN (Tabela 12).

Para a IFER, os valores de CV variaram de 8,06 a 9,54, enquanto para a SFER houve uma amplitude de 34,35 a 40,54. Já os valores do coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ) foram acima de 0,89 para IFER e abaixo de 0,76 para SFER (Tabela 12). Nesse aspecto, a tentativa de selecionar genótipos superiores para resistência à podridão de espiga seria mais promissora ao se considerar a característica IFER por ter apresentado os menores valores de CV e as mais elevadas estimativas de  $H^2$ .

**Tabela 12** - Estimativas de parâmetros da incidência e severidade de *Fusarium* de 28 híbridos de milho-pipoca cultivados em três ambientes na época de verão.

Variável		Verão				
		BN+AZO	IN	BN	IEI%	VP%
IFER	Média	86,25a	87,17a	87,14a		
	CV (%)	8,06	8,22	9,54	-1,03	0,03
	H <sup>2</sup>	0,92	0,92	0,89		
SFER	Média	14,40b	20,71a	15,48b		
	CV (%)	34,35	37,76	40,54	-7,50	25,25
	H <sup>2</sup>	0,76	0,75	0,65		

Índice de eficiência de inoculação (IEI); variação percentual (VP); coeficiente de variação experimental (CV); coeficiente de determinação genotípico (H<sup>2</sup>); disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo); incidência (IFER) e severidade (SFER) de *Fusarium*. Ambientes com médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo agrupamento de Scott-Knott t ( $p < 0,05$ ).

No tocante ao agrupamento de médias realizado para a SFER, cada um dos ambientes formou apenas dois grupos. No ambiente BN+Azo o grupo de menor média teve 18 híbridos, o ambiente IN teve 21 e o BN apresentou 12 híbridos no grupo de menor média (Tabela 13).

Com relação ao IEI, as estimativas variaram de -154,76 a 59,09. Dos 28 híbridos avaliados 15 apresentaram estimativas negativas de IEI, o que demonstra a redução das médias desses híbridos no ambiente BN+Azo em relação ao ambiente BN (Tabela 13).

Além do fornecimento de N por uma fonte sustentável pelo processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), realizado pela bactéria *A. brasilense*, também estão associados outros benefícios como a absorção de água e produção de fitormônios que podem influenciar na resistência genética a doenças de plantas (Hungria et al., 2010; Fukami et al., 2018; Santos et al., 2021).

De acordo com Schultz et al. (2013), o nitrogênio tem papel fundamental na velocidade com a qual as plantas reagem ao ataque de pragas e doenças, o que é condicionado pela produção de aminoácidos e proteínas diante da disponibilidade desse nutriente. Além disso, alguns estudos indicam que tanto a quantidade quanto a natureza do nitrogênio disponível para as plantas podem influenciar de maneira distinta os seus mecanismos de defesa contra doenças fúngicas (Sun et al., 2020).

**Tabela 13** - Agrupamento de médias e índice de eficiência de inoculação (IEI) para a severidade de *Fusarium* de 28 híbridos de milho-pipoca avaliados sob disponibilidade ideal de nitrogênio (IN), baixa disponibilidade de nitrogênio (BN) e baixa disponibilidade de nitrogênio com inoculação de *A. brasilense* (BN+Azo) em duas épocas.

Híbrido	SFER			
	BN+AZO	IN	BN	IEI%
L204xL291	20,72a	23,33b	13,72b	33,79
L217xL291	9,67b	18,61b	15,83a	-63,79
L292xL291	14,22b	17,78b	12,22b	14,06
L326xL291	11,28b	32,22a	19,33a	-71,39
L381xL291	27,22a	37,50a	28,22a	-3,67
L689xL291	7,50b	11,61b	7,33b	2,22
L691xL291	18,61a	17,78b	7,61b	59,09
L204xL322	17,61a	29,94a	19,11a	-8,52
L217xL322	10,33b	12,22b	17,39a	-68,34
L292xL322	11,94b	22,50b	12,04b	-0,81
L326xL322	9,72b	34,72a	18,05a	-85,73
L381xL322	23,50a	24,00b	30,83a	-31,21
L689xL322	7,00b	28,89a	17,83a	-154,76
L691xL322	8,61b	16,67b	7,44b	13,55
L204xL690	8,17b	15,22b	7,14b	12,61
L217xL690	19,17a	15,56b	17,55a	8,42
L292xL690	16,95a	22,84b	13,89b	18,06
L326xL690	27,22a	40,28a	20,22a	25,71
L381xL690	19,67a	17,72b	19,17a	2,54
L689xL690	12,44b	13,67b	17,61a	-41,52
L691xL690	13,61b	21,95b	7,11b	47,76
L204xL76	13,89b	11,67b	16,95a	-22,04
L217xL76	10,53b	8,89b	11,11b	-5,54
L292xL76	10,83b	14,83b	15,44a	-42,55
L326xL76	12,78b	16,67b	19,39a	-51,76
L381xL76	19,06a	33,61a	21,78a	-14,29
L689xL76	6,78b	7,39b	5,61b	17,26
L691xL76	14,17b	11,94b	13,39b	5,48

Letras diferentes na horizontal indicam diferença significativa de acordo com o agrupamento de médias Scott Knott ( $p < 0,05$ ).

Esta pesquisa demonstrou que a inoculação de sementes de milho-pipoca com *A. brasilense* pode impactar significativamente características agronômicas e resistência a doenças. No entanto, algumas questões permanecem em aberto e novas direções de estudo se fazem necessárias para consolidar e ampliar os achados.

Apesar dos avanços obtidos, ainda existem pontos a serem melhorados, como por exemplo: a influência da inoculação na expressão gênica e na regulação hormonal das plantas; os benefícios da inoculação ao longo de diferentes ciclos de cultivo e sua estabilidade em distintas condições edafoclimáticas; além de rendimento e resistência a doenças, a inoculação pode afetar atributos de qualidade, como quantidade de amido e qualidade da pipoca?

Os resultados indicam que a inoculação com *A. brasilense* pode ser uma ferramenta valiosa em programas de melhoramento genético de milho-pipoca. No entanto, a conciliação dessa prática ao melhoramento genético e ao manejo agrícola sustentável exigirá investigações mais detalhas, incluindo aspectos genéticos, microbiológicos e agronômicos. Logo, novos trabalhos devem buscar consolidar o uso de bioinoculantes como parte importante das estratégias para uma agricultura mais eficiente e sustentável.

## 6. CONCLUSÕES

- i. A inoculação de *A. brasilense* promoveu um incremento médio (inverno e verão) significativo para RG (+20,5%), PROL (+12,8%), CESP (+9,7%) e AP (+8,4%) e causou uma pequena redução para FF (-3,3%) e foi indiferente para CE. Sobre o feito da época, o inverno apresentou maior eficiência da inoculação para todas as características agrônômicas;
- ii. Houve alteração nas estimativas das capacidades combinatórias gerais e específica nos diferentes ambientes, indicando que a inoculação influencia na forma com a qual os genótipos contribuem com alelos favoráveis para expressão das características de RG e CE;
- iii. Na seleção de genótipos responsivos à inoculação, o híbrido L326xL690 demonstrou boa performance para RG e CE, simultaneamente. Os testadores L76 e L690 e as linhagens L698 e L381 tiveram maior destaque para RG, enquanto para CE foram destaques os testadores L690 e L322 e as linhagens L326 e L217.
- iv. Na avaliação de doenças, a MB no ambiente BN+Azo teve médias de SMB menores em comparação ao ambiente IN. Para a FER, a média de SFER para o BN+Azo e BN foi inferior à média observada no ambiente IN. Esses resultados podem indicar a indução de resistência de híbridos a doenças fúngicas influenciado pela inoculação de *A. brasilense*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, F., Pan, Q., Chen, G., Zahid, K. R., & Yan, J. (2013). Evidence of multiple disease resistance (MDR) and implication of meta-analysis in marker assisted selection. *Plos One*, 8(7), e68150.
- Alves, G. C., Videira, S. S., Urquiaga, S., & Reis, V. M. (2015). Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. *Plant and Soil*, 387, 307-321.
- Amaral Júnior, A. T., Freitas Júnior, S. P., Rangel, R. M., Pena, G. F., Ribeiro, R. M., Morais, R. C., Schuelter, A. R. (2010). Improvement of a popcorn population using selection indexes from a fourth cycle of recurrent selection program carried out in two different environments. *Genetics and Molecular Research*, 9: 340-370.
- Amaral Júnior, A. T., Poltronieri, T. P. S., Santos, P. H. D., Vivas, M., Gerhardt, I. F. S., Carvalho, B., & M., F., Silva, C., & Silveira, S. F. (2019). Reação das linhas de pipoca (s7) cultivado em níveis distintos de fósforo para a infecção por *Bipolaris maydis*. *Summa Phytopathologica*, 45(1), 18–22.
- Amaral Jr, A. T. D., Gerhardt, I. F., Ribeiro, R. M., Lima, V. J. D., Kamphorst, S. H., Viana, F. N., ... & Santos, P. H. A. D. (2023a). UENF P01, UENF P02 and UENF P03: popcorn hybrids with high phosphorus use efficiency. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23, e44102318.
- Amaral Junior, A. T. D., Ribeiro, R. M., Santos, A. D., Souza, Y. P. D., Kamphorst, S. H., Lima, V. J. D., ... & Vivas, M. (2023b). UENF N01, UENF N02 and UENF

- N03: popcorn cultivars with elevated nitrogen-use effectiveness. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23, e44642333.
- Ambrosini, A., de Souza, R., & Passaglia, L. M. (2016). Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. *Plant and Soil*, 400, 193-207.
- Arruda, L., Beneduzi, A., Martins, A., Lisboa, B., Lopes, C., Bertolo, F., ... & Vargas, L. K. (2013). Screening of rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Rio Grande do Sul State (South Brazil) and analysis of their potential to improve plant growth. *Applied soil ecology*, 63, 15-22.
- Barbosa, J. Z., de Almeida Roberto, L., Hungria, M., Corrêa, R. S., Magri, E., & Correia, T. D. (2022). Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. *Applied Soil Ecology*, 170, 104276.
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. *Advances in agronomy*, 108, 77-136.
- Bashan, Y., & Levanony, H. (1990). Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of microbiology*, 36(9), 591-608.
- Buzinaro, R., Oliveira, G. H. F. D., Amaral, C. B. D., Souza Junior, C. L. D., & Moro, G. V. (2018). Diallel mixed-model analyses to select superior maize parental lines for *Azospirillum brasilense* and nitrogen-use efficiency. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 18, 382-389.
- Carbas, B., Simões, D., Soares, A., Freitas, A., Ferreira, B., Carvalho, A. R., ... & Brites, C. (2021). Occurrence of *Fusarium spp.* in maize grain harvested in Portugal and accumulation of related mycotoxins during storage. *Foods*, 10(2), 375.
- Casela, C.R., Ferreira, A.S.da, Pinto, N.F. (2006). Doenças na Cultura do Milho. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Agropecuária. Circular Técnica, 1 ed. 14p.

- Cassán, F., & Diaz-Zorita, M. (2016). Azospirillum sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 117-130.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo - CIMMYT (1994). Managing trials and reporting data for CIMMYT's international maize testing program. Mexico, Cimmyt, handle/10883/697?show=full.
- Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., ... & Piccoli, P. N. (2015). *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiologia plantarum*, 153(1), 79-90.
- Costa, R. V., da, Silva, D. D. & da, Cota, L. V. (2014). Mancha de *Bipolaris* do milho. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 207).
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J. (1994). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 1994. 380 p.
- Cruz, C.D. (2013). GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, 35: 271-276
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C. (2012) Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 4. ed. Viçosa: UFV, 512p.
- Da Silva, W. J., Vidal, B. C., Martins, M. E. Q., Vargas, H., Pereira, C., Zerbetto, M., & Miranda, L. (1993). What makes popcorn pop. *Nature*, 362(6419), 417-417.
- Dalbello, O., Previero, C. A., Alves, D. G., & Biagi, J. D. (1995). Capacidade de expansão do milhopipoca (*Zea mays* L.) em função de parâmetros de secagem, umidade e armazenamento do produto. In *Congresso brasileiro de engenharia agrícola* (Vol. 24, p. 415).
- Daros, M., Amaral Júnior, A. T. D., Pereira, M. G., Santos, F. S., Scapim, C. A., Freitas Júnior, S. D. P., ... & Ávila, M. R. (2004). Correlações entre caracteres agronômicos em dois ciclos de seleção recorrente em milho-pipoca. *Ciência Rural*, 34, 1389-1394.
- De Almeida Matteucci, M. B., Leandro, W. M., Ferreira, J. P., & de Melo Neto, A. J. (2009). Seleção massal para cor de tegumento de uma variedade crioula de milho pipoca (*Zea mays* L.). *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4(2).

- de Almeida, R. N., Vivas, M., de Souza, Y. P., Saluci, J. C. G., Vasconcelos, L. C., & do Amaral Júnior, A. T. (2024). Proposal of a super trait for increased grain yield, popping expansion, and ear rot resistance in popcorn. *Crop Science*, 64(5), 2789-2800.
- de Almeida, R. N., Vivas, M., Ribeiro, N. M. O., Saluci, J. C. G., Valadares, F. V., Vasconcelos, L. C., & do Amaral Júnior, A. T. (2023). *Fusarium* ear rot resistance in South American popcorn lines. *Tropical Plant Pathology*, 48(6), 656-666.
- De Bruijn, F. J. (2015). The quest for biological nitrogen fixation in cereals: a perspective and prospective. *Biological nitrogen fixation*, 1087-1101.
- Dofing, S. M., D'Croz-Mason, N., & Thomas-Compton, M. A. (1991). Inheritance of expansion volume and yield in two popcorn × dent corn crosses. *Crop Science*, 31(3), 715-718.
- FAO. (2020). World Food and Agriculture Statistical Yearbook. FAO-Food & Agriculture Organization of the United Nation, Rome, Italy.
- Flint-Garcia, S. A. (2017). Kernel evolution: from teosinte to maize. *Maize kernel development*. Wallingford: CABI, 1-16.
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *Amb Express*, 8(1), 73.
- Galindo, F. S., Rodrigues, W. L., Fernandes, G. C., Boleta, E. H. M., Jalal, A., Rosa, P. A. L., ... & Teixeira Filho, M. C. M. (2022). Enhancing agronomic efficiency and maize grain yield with *Azospirillum brasilense* inoculation under Brazilian savannah conditions. *European Journal of Agronomy*, 134, 126471.
- Griffing, B. R. U. C. E. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian journal of biological sciences*, 9(4), 463-493.
- Gurgel, F. De L.; Ferreira, D. F.; Soares, A. C. S. (2013). O coeficiente de variação como critério de avaliação em experimentos de Milho e Feijão. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA.
- Hallauer, A. R., Carena, M. J., & Miranda Filho, J. D. (2010). Quantitative genetics in maize breeding (Vol. 6). *Springer Science & Business Media*.

- Hung, H., Holland, J.B. (2012). Diallel analysis of resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in maize. *Crop Science*, 52(5): 2173-2181.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2010). La inoculación con cepas seleccionadas de *Azospirillum brasilense* y *A. lipoferum* mejora los rendimientos de maíz y trigo en Brasil. *Planta y suelo*, 331(1-2), 413-425.
- Hungria, M.; Barbosa, J.Z.; Rondina, A.B.L.; Nogueira, M.A (2022). Improving maize sustainability with partial replacement of N fertilizers by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Agronomy Journal*. 114, 2969–2980.
- IPCC. (2006). Diretrizes do IPCC para inventários nacionais de gases de efeito estufa. IPCC.
- James, W. C. (1971). A manual of disease assessment keys for plant diseases. *Canada. Department of Agriculture Publication*, 1458, 80.
- Kist, B. B. (2019). *Anuário Brasileiro do Milho*. Editora Gazeta Santa Cruz: Santa Cruz, Brasil, 72p.
- Kistler, L., Maezumi, S. Y., Gregorio de Souza, J., Przelomska, N. A., Malaquias Costa, F., Smith, O., ... & Allaby, R. G. (2018). Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. *Science*, 362(6420), 1309-1313.
- Koltun, A., Cavalcante, A. P., Lopes, K. D. A., Krause, D. M., Marino, T. P., Oliveira, A. D., & Ferreira, J. M. (2018). Performance of maize hybrids from a partial diallel in association with *Azospirillum*. *African Journal of Agricultural Research*, 13, 1297-1305.
- Köppen, W. (1948). Climatologia: conun estudio de los climas de La Tierra, México: Fondo de Cultura Económica, 479 p.
- Kroll, S., Agler, M. T., & Kemen, E. (2017). Genomic dissection of host–microbe and microbe–microbe interactions for advanced plant breeding. *Current Opinion in Plant Biology*, 36, 71-78.
- Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Korshunova, T., Bakaeva, M., Loginov, O., & Dodd, I. C. (2019). Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. *Frontiers in plant science*, 10, 1368.

- Kuki, M.C., Pinto, R.J.B., Bertagna, F.A.B., Tessmann, D.J., Teixeira do Amaral, A., Scapim, C.A., Holland, J.B. (2020). Association mapping and genomic prediction for ear rot disease caused by *Fusarium verticillioides* in a tropical maize germplasm. *Crop Science*, 60(6): 2867-2881.
- Kurosawa, R. N. F., Vivas, M., Amaral Junior, A. T., Ribeiro, R. M., Miranda, S. B., Pena, G. F., Leite, J. T., & Mora, F. (2018). Resistência do germoplasma de pipoca a doenças fúngicas causadas por *Exserohilum turcicum* e *Bipolaris maydis*. *Bragantia*. 77(1), 36–47.
- López-Reyes, L., Carcaño-Montiel, M. G., Lilia, T. L., Medina-de la Rosa, G., & Armando, T. H. R. (2017). Atividade antifúngica e promotora de crescimento de *Azospirillum brasilense* em *Zea mays* L. ssp. *mexicana*. *Arquivos de Fitopatologia e Proteção de Plantas*, 50(13–14), 727–743.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541-556.
- Makumbi, D., Betrán, F.J., Bänzinger, M., Ribaut, J.M. (2011). Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions. *Euphytica*, 180, 143–162.
- Martinez, A.S., Franzener, G., Stangarlin, J.R. (2010). Dano causado por *Bipolaris maydis* em *Panicum maximum* cv. *Tanzânia*. *Ciências Agrárias*, 31: 863-870.
- Martins, M. R., Jantalia, C. P., Reis, V. M., Döwich, I., Polidoro, J. C., Alves, B. J. R., ... & Urquiaga, S. (2018b). Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-15 N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. *Plant and soil*, 422, 239-250.
- Martins, T. G., Freitas, S. P., Luz, L. N., Marco, C. A., & Vásquez, E. M. F. (2018a). Inoculation efficiency of *Azospirillum brasilense* on economising nitrogen fertiliser in landrace popcorn. *Revista Ciência Agronômica*, 49(2), 283-290.
- Matiru, V. N., & Dakora, F. D. (2004). Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African Journal of Biotechnology*, 3(1), 1-7.
- Montañez, A., Abreu, C., Gill, P. R., Hardarson, G., & Sicardi, M. (2009). Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by 15N isotope-dilution and identification

- of associated culturable diazotrophs. *Biology and fertility of soils*, 45(3), 253-263.
- Morales, L., Marino, T.P., Wenzel, A.J., Fouts, J.Q., Holland, J.B., Nelson, R.J. (2018). Dissecting symptomatology and fumonisin contamination produced by *Fusarium verticillioides* in maize ears. *Phytopathology*, 108(12): 1475-1485.
- Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Allen, T. W., Bergstrom, G. C., Bosley, D. B., ... & Warner, F. (2016). Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. *Plant health progress*, 17(3), 211-222.
- Narro, T., Medina, A., & Vencovsky, R. (2017). Selección para incrementar rendimiento y resistencia a pudrición de mazorca en maíz amiláceo. *Arch. Académicos USFQ*, 9, 65.
- Nirenberg, H.I., O'Donnell, K. (1998). New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3): 434-458.
- Noor, M., ur Rahman, H., & Iqbal, M. (2015). Evaluation of Popcorn inbred lines for disease severity. *Pure and Applied Biology*, 4(3), 288.
- O'Neill, M.E. and Mathews, K.L., (2002). Levene tests of homogeneity of variance for general block and treatment designs. *Biometrics*, vol. 58, no. 1, pp. 216-224.
- Ormeño-Orrillo, E., Hungria, M., & Martínez-Romero, E. (2013). Dinitrogen-fixing prokaryotes. The prokaryotes: prokaryotic physiology and biochemistry. Berlin Heidelberg: *Springer*, 427-51.
- Pereg, L., de-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2016). Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. *Plant and soil*, 399, 389-414.
- Pfann, A. Z., Faria, M. V., Andrade, A. A. D., Nascimento, I. R. D., Faria, C. M. D. R., & Bringhentti, R. M. (2009). Capacidade combinatória entre híbridos simples de milho em dialelo circulante. *Ciência Rural*, 39, 635-641.
- Piromyoo, P., Buranabanyat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N., & Teamroong, N. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology*, 47(1), 44-54.

- R Development Core Team. (2017). R: a language and environment for statistical computing Vienna: R Foundation for Statistical Computing Vienna.
- Rangel, R. M., Amaral Júnior, A. T. D., & Freitas Júnior, S. D. P. (2011). Associação entre características agrônômicas e capacidade de expansão em população de milho pipoca sob seleção recorrente. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 225-233.
- Reis, E.M., Casa, T., Bresolin, A.R. (2004). Manual de diagnose e controle de doenças do milho. Passo Fundo: Aldeia Norte, p.141.
- Rossi, V., Scandolara, A., Battilani, P. (2009). Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *European Journal of Plant Pathology*, 123(2): 159-169.
- Rosier, A., Medeiros, F. H., & Bais, H. P. (2018). Defining plant growth promoting rhizobacteria molecular and biochemical networks in beneficial plant-microbe interactions. *Plant and Soil*, 428(1), 35-55.
- Saluci, J. C. G., Vivas, M., de Almeida, R. N., Vasconcelos, L. C., Valadares, F. V., de Andrade Junior, M. S., ... & do Amaral Júnior, A. T. (2024). Evaluation and selection of sources of resistance in popcorn to southern corn leaf blight. *Plant Pathology*, 73(8), 2147-2156.
- Saluci, J. C. G., Vivas, M., Dutra, Í. P., De Almeida, R. N., Santos, J. S., Junior, A. T. D. A., & Pelúzio, J. B. E. (2023). Sources of resistance to *Bipolaris maydis* in popcorn lines under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 165(3), 545-557.
- Santos, F. S., Amaral Júnior, A. T. D., Freitas Júnior, S. D. P., Rangel, R. M., & Pereira, M. G. (2007). Predição de ganhos genéticos por índices de seleção na população de milho pipoca UNB-2U sob seleção recorrente. *Bragantia*, 66, 389-396.
- Santos, J. S., Vivas, M. Amaral Júnior, A. T. do, Ribeiro, R. M., Mafra, G. S., & Pena, G. F. (2019). Efeitos gênicos da incidência e severidade de *Bipolaris maydis* em milho-pipoca. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14 (4), 1–7.
- Santos, M. S., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2021). Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture:

- Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 45, e0200128.
- Sawazaki, E. (2010). Milho pipoca. In *CD-ROM dos Anais do XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia, GO, Brasil*.
- Scapim, C. A., do Amaral Júnior, A. T., Vieira, R. A., Moterle, L. M., Texeira, L. R., Viganó, J., & Júnior, G. B. S. (2010). Novos compostos de milho-pipoca para o Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(2), 321-329.
- Scharf, B. E., Hynes, M. F., & Alexandre, G. M. (2016). Chemotaxis signaling systems in model beneficial plant–bacteria associations. *Plant molecular biology*, 90, 549-559.
- Schultz, J.C., Appel, H.M., Ferrieri, A., Arnold, T.M. (2013). Flexible resource allocation during plant defense responses. *Frontiers in Plant Science*, 4: 324.
- Scott, A. & Knott, M. (1974). Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*, Washington, DC, v.30, n.3, p.507-512.
- Shapiro, S.S. and Wilk, M.B., (1965). An analysis of variance test for normality (complete sample). *Biometrika*, vol. 52, no. 3, pp. 591-611.
- Silva, E., Mora, E.A., Medina, A., Vásquez, J., Valdez, D., Danial, D.L., Parlevliet, J. E. (2007). *Fusarium* ear rot and how to screen for resistance in open pollinated maize in the Andean regions. *Euphytica*, 153(3): 329-337.
- Smith, D. R., Hooker, A. L., & Lim, S. M. (1970). Physiologic races of *Helminthosporium maydis*. *Plant Disease Reporter*, 54, 819-22.
- Souza, Y. P., Gonçalves, G. M., Saluci, J. C., Almeida, R. N., Santos, J. S., Pereira, H. S., Souza, R. F., Souza, A. L. R., Vasconcelos, L. C., Andrade Junior, M. S., Amaral Junior, A. T., Vivas, M. (2025). Selecting South American Popcorn Germplasm for *Bipolaris maydis* Resistance at Contrasting Nitrogen Levels. *Plants*, 14(3), 302.
- Spaepen, S., & Vanderleyden, J. (2015). Auxin signaling in *Azospirillum brasilense*: a proteome analysis. *Biological nitrogen fixation*, 937-940.

- Sun, Y., Wang, M., Mur, L.A.J., Shen, Q., Guo, S. (2020). Unravelling the roles of nitrogen nutrition in plant disease defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 572.
- Tesed, R., Mohamed, Z. K., & Reis, V. M. (2004). Effect of inoculation with *Azospirillum* and *Herbaspirillum* on production of indolic compounds and growth of wheat and rice seedlings. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(10), 987-994.
- Tien, T. M., Gaskins, M. H., & Hubbell, D. (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and environmental microbiology*, 37(5), 1016-1024.
- Vavilov, N. I. (1951). *The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants* (Vol. 72, No. 6, p. 482). LWW.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. *Molecules*, 21(5), 573.
- Vencovsky R (1987). Melhoramento de populações. In: Paterniani E, Viégas G P. Melhoramento e produção do milho. Campinas: Fundação Cargill 2:217-265.
- Vidotti, M. S., Matias, F. I., Alves, F. C., Pérez-Rodríguez, P., Beltran, G. A., Burgueño, J., ... & Fritsche-Neto, R. (2019). Maize responsiveness to *Azospirillum brasilense*: Insights into genetic control, heterosis and genomic prediction. *PloS one*, 14(6), e0217571
- White, D. G. (1999). Compendium of Corn Diseases, third ed. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN, USA.
- Wokorach, G., Landschoot, S., Audenaert, K., Echodu, R., Haesaert, G. (2021). Genetic Characterization of Fungal Biodiversity in Storage Grains: Towards Enhancing Food Safety in Northern Uganda. *Microorganisms*, 9(2): 383.
- Yang, G., Wagg, C., Veresoglou, S. D., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2018). How soil biota drive ecosystem stability. *Trends in plant science*, 23(12), 1057-1067.
- Yu, S., Jia, B., Liu, N., Yu, D., Zhang, S., Wu, A. (2021). Fumonisin B1 triggers carcinogenesis via HDAC/PI3K/Akt signalling pathway in human esophageal epithelial cells. *Science of The Total Environment*, 787: 147405.

- Zakry, F. A. A., Shamsuddin, Z. H., Rahim, K. A., Zakaria, Z. Z., & Rahim, A. A. (2012). Inoculation of *Bacillus sphaericus* UPMB-10 to young oil palm and measurement of its uptake of fixed nitrogen using the <sup>15</sup>N isotope dilution technique. *Microbes and environments*, 27(3), 257-262.
- Zhang, X., Davidson, E. A., Mauzerall, D. L., Searchinger, T. D., Dumas, P., & Shen, Y. (2015). Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528(7580), 51-59.
- Ziegler, K. E., & Ashman, B. (1994). Popcorn In "Speciality Corns". Edited By Hallauer. *AR Crc Press*, 189, 21.
- Zinsly, J. R., Machado, J. A. (1978). Milho-pipoca. In: Fundação Cargil. Melhoramento e produção do milho no Brasil. Piracicaba, ESALQ, p.339-347.