

ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ISOLADA E
CONSORCIADA DE *Enterobacter* sp. S3103 E *Purpureocillium* aff.
lilacinum FSC-1 NA PROMOÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE
NITROGÊNIO EM MILHO-PIPOCA

LETÍCIA PEIXOTO GOMES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JULHO – 2026

ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ISOLADA E
CONSORCIADA DE *Enterobacter* sp. S3103 E *Purpureocillium* aff.
lilacinum FSC-1 NA PROMOÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE
NITROGÊNIO EM MILHO-PIPOCA

LETÍCIA PEIXOTO GOMES

“Dissertação 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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Orientador: Prof. Dr. Antônio Teixeira do Amaral Junior

Coorientador: Dr. Talles de Oliveira Santos

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JULHO – 2026

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

G633

Gomes, Leticia Peixoto.

ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ISOLADA E CONSORCIADA DE *Enterobacter* sp. S3103 E *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 NA PROMOÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE NITROGÊNIO EM MILHO-PIPOCA / Leticia Peixoto Gomes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2026.

144 f. : il.

Bibliografia: 74 - 119.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2026.
Orientador: Antonio Teixeira do Amaral Junior.

1. Agricultura sustentável. 2. fixação biológica de nitrogênio. 3. microrganismos promotores do crescimento vegetal. 4. *Zea mays* var. *everta*. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ISOLADA E
CONSORCIADA DE *Enterobacter* sp. S3103 E *Purpureocillium* aff.
lilacinum FSC-1 NA PROMOÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE
NITROGÊNIO EM MILHO-PIPOCA

LETÍCIA PEIXOTO GOMES

"Dissertação 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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas."

Aprovada em 22 de julho de 2026.

Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente

SAMUEL HENRIQUE KAMPHORST

Data: 29/07/2026 09:43:43-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Samuel Henrique Kamphorst (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas)
UNILA



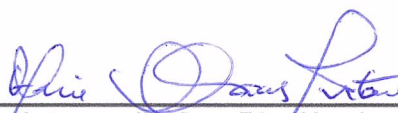
Documento assinado digitalmente

COSME DAMIAO CRUZ

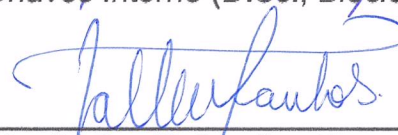
Data: 29/07/2026 14:49:25-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

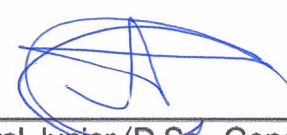
Prof. Cosme Damião Cruz (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UFV



Prof^a. Aline Chaves Intorne (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - IFRJ



Dr. Talles de Oliveira Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF
(Coorientador)



Prof. Antônio Teixeira do Amaral Junior (D.Sc., Genética e Melhoramento) - UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, base de tudo o que sou e conquistei.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais, Nizan e Francisca, minha gratidão é infinita. Obrigada pelo amor incondicional, pelo incentivo constante e, especialmente, pela compreensão diante das minhas ausências. Vocês são o alicerce de tudo o que sou.

Aos meus irmãos, Maria Francini e Teófilo, e aos meus cunhados, Jefferson e Manuela, agradeço pela amizade e pela cumplicidade em todos os momentos. Aos meus sobrinhos, Sophia e Samuel, obrigada por trazerem tanta alegria e leveza às nossas vidas. Essa conquista também é de vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Teixeira do Amaral Junior, pela confiança, paciência, motivação, apoio e ensinamentos concedidos, e por sua disponibilidade em todos os momentos. Sua contribuição foi fundamental para meu crescimento profissional e para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Talles de Oliveira Santos, por todo empenho e dedicação durante o desenvolvimento desta dissertação. Um dos idealizadores deste trabalho, você foi fundamental em todas as etapas. Sua confiança e ensinamentos valiosos foram determinantes para o meu amadurecimento acadêmico. Além de um suporte fundamental, você é para mim um exemplo de profissionalismo e dedicação à ciência. Obrigada por não medir esforços para que esta pesquisa se tornasse realidade.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Aline Chaves Intorne, Dr. Cosme Damião Cruz e Dr. Samuel Henrique Kamphorst, agradeço pelas sugestões

e críticas, fundamentais para o aprimoramento deste trabalho e para a minha formação.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGGMP), pela oportunidade e pela infraestrutura disponibilizada, que tornaram possível minha formação acadêmica. Estendo meus agradecimentos aos professores e profissionais do programa pelo conhecimento compartilhado.

Ao secretário da PGGMP, José Daniel Valle de Almeida, pelo trabalho de excelência, pela disponibilidade e pelos auxílios e conselhos ao longo desses dois anos.

A todos os colegas do Grupo de Melhoramento do Milho-Pipoca (GMMP), com quem tive a oportunidade de conviver e trabalhar, em especial ao Deyvid de Souza e à Bruna Simão, que participaram do experimento e foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Às profissionais Jussara Goulart, do Laboratório de Biotecnologia, Júlia Vimercati e Prof^a. Marta de Freitas, do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UENF, pelo auxílio técnico e por todo o suporte prestado.

Às minhas amigas Josiane Knupp, Suzamar Knupp e Ana Cinthia Wingeter, sou profundamente grata pela convivência respeitosa e por todo o carinho que compartilhamos no dia a dia. Suas palavras motivadoras e o suporte emocional nos momentos de maior dificuldade tornaram esta trajetória muito mais leve.

Aos meus colegas de trabalho da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ-CCG), pelo incentivo e pela compreensão durante os momentos de afastamento.

Por fim, a todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho, expresso minha mais sincera gratidão. Muito obrigada!

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

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- A:** Taxa fotossintética líquida
- AELN:** Eficiência agronômica sob baixa disponibilidade de nitrogênio
- AIA:** Ácido indolacético
- ANDA:** Associação Nacional para Difusão de Adubos
- ANOVA:** Análise de variância
- AP:** Altura de planta
- ATP:** Adenosina trifosfato
- BAG:** Banco de germoplasma
- B.O.D:** Demanda bioquímica de oxigênio
- BPCVs:** Bactérias promotoras de crescimento vegetal
- CCTA:** Centro de ciências e tecnologias agropecuárias
- CE:** Capacidade de expansão
- CEASA:** Centrais de abastecimento
- C_i:** Concentração intercelular de CO₂
- CIMMYT:** Centro internacional de melhoramento de milho e trigo
- CNPA:** Conteúdo de nitrogênio da parte aérea
- CNP:** Conteúdo de nitrogênio da planta
- CNR:** Conteúdo de nitrogênio da raiz
- DAP:** Dias após o plantio
- DC:** Diâmetro do colmo
- DNA:** Ácido desoxirribonucleico

E: Taxa de transpiração

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ER: Eficiente e responsiva

EUA: Estados Unidos da América

FAO: Organização das nações unidas para a alimentação e a agricultura

FBN: Fixação biológica de nitrogênio

Fv/Fm: Rendimento quântico máximo do fotossistema II

G: Genótipo

GEE: Gases de efeito estufa

GL: Graus de liberdade

g_s : Condutância estomática

GS-GOGAT: Sistema glutamina sintetase–glutamato sintase

GWAS: Estudo de associação genômica ampla

H: Híbrido

H%: Heterose

HMRP: Média harmônica da performance relativa

Htb%: Heterobeltiose

IAC: Instituto Agronômico de Campinas

IDR: Instituto de desenvolvimento rural

INPI: Instituto nacional da propriedade industrial

INR: Ineficiente e não responsiva

IPCC: Painel intergovernamental sobre mudanças climáticas

IRGA: Analisador de gás no infravermelho

ISR: Resistência sistêmica induzida

LB: Luria Bertani

LBT: Laboratório de biotecnologia

M: Microrganismo

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MP: Média dos pais (genitores)

MPCVs: Microrganismos promotores do crescimento vegetal

MSC: Massa seca do colmo

MSF: Massa seca foliar

MSPA: Massa seca da parte aérea

MSR: Massa seca radicular

MST: Massa seca total
N: Nitrogênio
NTrE: Eficiência de translocação do nitrogênio
NUE: Eficiência de uso do nitrogênio
NUpE: Eficiência de absorção do nitrogênio
NUtE: Eficiência de utilização do nitrogênio
ONU: Organização das nações unidas
PPFD: Radiação fotossinteticamente ativa
PS: Pai (genitor) superior
PSII: Fotossistema II
RG: Rendimento de grãos
RNA: Ácido ribonucleico
rpm: Rotação por minuto
RuBisCO: Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase
SEM: Erro padrão da média
UAP: Unidade de apoio à pesquisa
UEM: Universidade Estadual de Maringá
UENF: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
UFV: Universidade Federal de Viçosa

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação meramente ilustrativa do delineamento experimental. Cada mesa corresponde a uma condição de inoculação (experimento), contendo os três genótipos distribuídos em sete blocos completos casualizados, em que cada vaso contendo uma única planta representava uma repetição biológica.35
- Figura 2.** Condições ambientais registradas em experimentos realizados em casa de vegetação com três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre os dois microrganismos e um controle sem inoculação. PPFD: radiação fotossinteticamente ativa.37
- Figura 3.** Estimativas de médias de características fisiológicas (A: taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s : condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E : taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i : concentração intercelular de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)) de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre os dois microrganismos e um controle sem inoculação. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre genótipos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).44
- Figura Suplementar 1.** Estimativas de médias de características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade

de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). 121

Figura Suplementar 2. Estimativas de médias de conteúdo de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). 122

Figura Suplementar 3. Estimativas de médias de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). NUE: Eficiência de uso de N; NUpE: Eficiência de absorção de N; NUtE: Eficiência de utilização de N; NTrE: Eficiência de translocação de N. 123

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), modificada para fonte de nitrato (NO_3^-), utilizada para a manutenção da baixa disponibilidade de N no cultivo de plantas de milho-pipoca até o estágio V5.....36
- Tabela 2.** Resumo da ANOVA conjunta de características de trocas gasosas foliares de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 35 DAP, em casa de vegetação.42
- Tabela 3.** Médias* de variáveis de trocas gasosas foliares de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 35 DAP, em casa de vegetação.43
- Tabela 4.** Resumo da ANOVA conjunta de características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.47
- Tabela 5.** Médias das características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à

inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.49

Tabela 6. Resumo da ANOVA conjunta para conteúdo de N e índices de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. 53

Tabela 7. Médias de conteúdo de N e índices de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.55

Tabela 8. Médias dos parentais P2 e L80 e do híbrido P2×L80, estimativas de heterose (H%) e heterobeltiose (Htb%) e respectivas significâncias para as características avaliadas em experimentos com genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.61

SUMÁRIO

RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo Geral	6
2.2 Objetivos Específicos.....	6
3. REVISÃO DA LITERATURA	7
3.1 Aspectos gerais e importância econômica da cultura do milho-pipoca.....	7
3.2 Desafios e impactos do uso do N na agricultura.....	10
3.3 Melhoramento genético para o aumento da NUE em milho-pipoca.....	13
3.3.1 Histórico do melhoramento institucional de milho-pipoca: prospecção de linhagens e híbridos com distintos níveis de NUE.....	13
3.3.2 Elucidação dos efeitos genéticos que controlam características morfofisiológicas relacionadas à NUE em milho-pipoca.....	17
3.3.3 Mecanismos moleculares subjacentes ao uso eficiente de N em plantas de milho-pipoca submetidas ao estresse por baixo N	19
3.3.4 Perspectivas para o programa de melhoramento genético de milho-pipoca para a NUE	22
3.4 Microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCVs): avanços e aplicações na agricultura	24
3.5 FBN e atuação dos MPCVs	27
3.5.1 Interação entre <i>Purpureocillium</i> e <i>Enterobacter</i> : benefícios do consórcio de MPCVs	29

4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Obtenção e preparação dos inóculos	32
4.2 Genótipos.....	34
4.3 Ensaio para a avaliação de linhagens e híbrido.....	34
4.3.1 Delineamento experimental e condições ambientais.....	34
4.3.2 Características fisiológicas avaliadas	37
4.3.3 Características morfológicas avaliadas	38
4.3.4 Quantificação de N nas plantas e cálculo da eficiência de uso do nitrogênio.....	38
4.4 Avaliação da heterose	39
4.5 Análises estatísticas	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Efeitos da inoculação com <i>Enterobacter</i> sp. S3103 e <i>Purpureocillium</i> aff. <i>lilacinum</i> FSC-1 nas trocas gasosas foliares	41
5.2 Efeitos da inoculação com <i>Enterobacter</i> sp. S3103 e <i>Purpureocillium</i> aff. <i>lilacinum</i> FSC-1 no crescimento vegetal.....	46
5.3 Efeitos da inoculação com <i>Enterobacter</i> sp. S3103 e <i>Purpureocillium</i> aff. <i>lilacinum</i> FSC-1 na eficiência de uso do N	52
5.4 Expressão da heterose e indícios de transgressividade gênica sob inoculação microbiana e estresse por baixo N	59
6. CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
APÊNDICES	120

RESUMO

GOMES, Letícia Peixoto; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; julho 2026; ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ISOLADA E CONSORCIADA DE *Enterobacter* sp. S3103 E *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 NA PROMOÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE NITROGÊNIO EM MILHO-PIPOCA; Orientador: Antônio Teixeira do Amaral Junior; Coorientador: Talles de Oliveira Santos. Conselheiros: Aline Chaves Intorne e Marcelo Vivas.

O aumento da demanda por alimentos e a necessidade de reduzir os impactos econômicos e ambientais do uso de fertilizantes químicos têm suscitado a busca por sistemas produtivos mais sustentáveis, especialmente no uso de fertilizantes nitrogenados, cuja aplicação excessiva representa um dos principais desafios da produção agrícola. Nesse contexto, urge o desenvolvimento de estratégias integradas que associem o uso de estruturas genéticas contrastantes ao emprego de microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCVs), para aumentar a eficiência de uso do nitrogênio (NUE). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos morfofisiológicos da inoculação isolada e consorciada da bactéria *Enterobacter* sp. S3103 e do fungo *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, em milho-pipoca, utilizando linhagens contrastantes para NUE (P2, eficiente e responsiva ao uso do N; e L80, ineficiente e não responsiva ao N) e seu híbrido (P2×L80). O experimento foi realizado em casa de vegetação, com quatro tratamentos (inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, inoculação com *P.* aff. *lilacinum* FSC-1, inoculação com o consórcio dos dois microrganismos e ausência de inoculação), até o estágio V5. As plantas foram cultivadas em vasos de 2,3 L

contendo areia e irrigadas com solução nutritiva de Hoagland e Arnon modificada, contendo apenas 10% da concentração de nitrato ($22,4 \text{ mg NO}_3\text{-L}^{-1}$). Foram avaliadas características fisiológicas relacionadas às trocas gasosas foliares (taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e concentração intercelular de CO_2 (C_i)); características morfológicas associadas ao crescimento vegetal (altura de plantas (AP), diâmetro do colmo (DC) e massas secas de folhas (MSF), de colmos (MSC), da parte aérea ($MSPA$) e de raízes (MSR), e massa seca total (MST)); o conteúdo de N nos tecidos vegetais (folha, colmo, parte aérea, raiz e planta inteira) e as eficiências de uso do N fundamentadas pela partição de seus componentes de absorção ($NUpE$), utilização ($NUtE$) e translocação ($NTrE$). Os dados foram submetidos à análise de variância conjunta e aos testes de Dunnett e de Tukey ($p < 0,05$). Para cada característica, foram estimadas a heterose e a heterobeltiose relativas, cuja significância foi verificada pelo teste t ($p < 0,05$). Nas trocas gasosas foliares, a inoculação com bactéria e fungo promoveu incrementos na A (+18,7% e +20,2%), g_s (+24,5% e +22,4%) e E (+19,5% e +20,6%), sem alterar C_i ; o consórcio elevou apenas E (+13,5%). Contudo, esse estímulo fotossintético não se traduziu em acúmulo de biomassa. No híbrido, todos os tratamentos reduziram a MSR (-42,1% a -63,2%) e a MST (-33,4% a -43,5%); em P2, a bactéria reduziu todas as biomassas (-12,8% a -38%), ao passo que o consórcio as aumentou (+13,7% a +23,7%); em L80, o consórcio elevou a MSR (+31,3%) e a MST (+13,9%). Quanto à AP , em P2, fungo e consórcio proporcionaram aumentos de +16,1% e +12,1%, respectivamente. Em relação ao conteúdo e às eficiências de uso do N, no híbrido, fungo e consórcio reduziram o N raiz (-52,6% e -39,4%), o N planta (-32,3% e -20%) e a $NUpE$ (-32,3% e -20%), com elevação da $NTrE$ (+43,5% e +35,6%). A bactéria, por sua vez, aumentou o N folha (+34,2%), o N colmo (+71,5%), o N parte aérea (+45,2%) e a $NTrE$ (+59,8%), reduzindo o N raiz (-46,4%) e a $NUtE$ (-25,4%). Nesse genótipo, o consórcio também reduziu a $NUtE$ (-21,2%) e a NUE (-13,5%). Em P2, o consórcio elevou o N em todos os compartimentos (+43,3% a +109,3%), a $NUpE$ (+56,9%) e a NUE (+13,7%), com redução da $NUtE$ (-29%); a bactéria reduziu a NUE (-15,8%) e a $NUtE$ (-18,9%) e aumentou a $NTrE$ (+22,2%); a inoculação fúngica aumentou o N colmo (+106,1%), o N parte aérea (+32,9%), o N planta (+33,4%) e a $NUpE$ (+33,4%), reduzindo a $NUtE$ (-17,2%). Em L80, todos os tratamentos reduziram a $NUtE$ (-20,4% a -27,6%); fungo e consórcio elevaram o N colmo (+113,2% e

+103,7%) e o N parte aérea (+33,4% e +38,3%), e o consórcio também aumentou o N planta (+27,5%) e a NUpE (+27,5%). A heterose variou amplamente entre caracteres e condições microbianas, com transgressões positivas (MSR, MST, N raiz, N planta e NUpE no controle e sob bactéria) e negativas (NTrE sob controle, trocas gasosas sob bactéria, N Folha e N parte aérea sob fungo e consórcio). Esses padrões indicam forte expressão de efeitos genéticos não aditivos, possivelmente condicionados pelo ambiente microbiano, sugerindo "pistas de epistasia". Contudo, a distinção entre dominância, sobredominância e epistasia exige delineamentos genéticos adicionais, não podendo ser estabelecida apenas pelas médias dos parentais e do F₁. Conclui-se que a inoculação microbiana, especialmente em consórcio, apresenta potencial para incrementar a NUE em genótipos eficientes de milho-pipoca, sendo sua recomendação condicionada à base genética do material. Estudos futuros, com avaliações em estádios mais avançados e maior período de convivência planta-microrganismo, são necessários para consolidar o uso desses microrganismos como ferramenta de manejo sustentável da adubação nitrogenada e para orientar sua incorporação em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: Agricultura sustentável; fixação biológica de nitrogênio; microrganismos promotores do crescimento vegetal; *Zea mays* var. *everta*.

ABSTRACT

GOMES, Leticia Peixoto; M.Sc.; State University of the North Fluminense Darcy Ribeiro; July 2026; MORPHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF THE ISOLATED AND CONSORTIUM INTERACTION OF *Enterobacter* sp. S3103 AND *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 IN PROMOTING NITROGEN USE EFFICIENCY IN POPCORN; Advisor: Antônio Teixeira do Amaral Junior; Co-advisor: Talles de Oliveira Santos. Committee: Aline Chaves Intorne and Marcelo Vivas.

The rising demand for food and the need to reduce the economic and environmental impacts of chemical fertilizer use have driven the search for more sustainable production systems, particularly regarding nitrogen fertilizers, whose excessive application represents one of the main challenges of agricultural production. In this context, there is an urgent need to develop integrated strategies that combine the use of contrasting genetic structures with the application of plant growth-promoting microorganisms (PGPMs) to increase nitrogen use efficiency (NUE). Thus, the present study aimed to evaluate the morphophysiological effects of single and co-inoculation with the bacterium *Enterobacter* sp. S3103 and the fungus *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 on popcorn, using inbred lines contrasting for NUE (P2, efficient and responsive to N use; and L80, inefficient and non-responsive to N) and their hybrid (P2×L80). The experiment was carried out in a greenhouse with four treatments (inoculation with *Enterobacter* sp. S3103, inoculation with *P. aff. lilacinum* FSC-1, co-inoculation with both microorganisms, and no inoculation) until the V5 stage. Plants were grown in 2.3 dm³ pots containing sand and irrigated

with a modified Hoagland and Arnon nutrient solution containing only 10% of the nitrate concentration ($22.4 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$). Physiological traits related to leaf gas exchange were evaluated (net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), transpiration rate (E), and intercellular CO_2 concentration (C_i)); morphological traits associated with plant growth (plant height (AP), stem diameter (DC), and leaf (MSF), stem (MSC), shoot (MSPA), root (MSR), and total (MST) dry masses); the N content in plant tissues (leaf, stem, shoot, root, and whole plant); and nitrogen use efficiencies based on the partitioning of its uptake (NUpE), utilization (NUtE), and translocation (NTrE) components. Data were subjected to combined analysis of variance and to Dunnett's and Tukey's tests ($p < 0.05$). Relative heterosis and heterobeltiosis were estimated for each trait, and their significance was verified by the t -test ($p < 0.05$). Regarding leaf gas exchange, inoculation with the bacterium and the fungus promoted increases in A (+18.7% and +20.2%), g_s (+24.5% and +22.4%), and E (+19.5% and +20.6%), without altering C_i ; co-inoculation increased only E (+13.5%). However, this photosynthetic stimulus did not translate into biomass accumulation. In the hybrid, all treatments reduced MSR (−42.1% to −63.2%) and MST (−33.4% to −43.5%); in P2, the bacterium reduced all biomass components (−12.8% to −38%), whereas co-inoculation increased them (+13.7% to +23.7%); in L80, co-inoculation increased MSR (+31.3%) and MST (+13.9%). As for AP, in P2, the fungus and co-inoculation provided increases of +16.1% and +12.1%, respectively. Regarding N content and nitrogen use efficiencies, in the hybrid, the fungus and co-inoculation reduced root N (−52.6% and −39.4%), plant N (−32.3% and −20%), and NUpE (−32.3% and −20%), with increased NTrE (+43.5% and +35.6%). The bacterium, in turn, increased leaf N (+34.2%), stem N (+71.5%), shoot N (+45.2%), and NTrE (+59.8%), while reducing root N (−46.4%) and NUtE (−25.4%). In this genotype, co-inoculation also reduced NUtE (−21.2%) and NUE (−13.5%). In P2, co-inoculation increased N in all compartments (+43.3% to +109.3%), NUpE (+56.9%), and NUE (+13.7%), with reduced NUtE (−29%); the bacterium reduced NUE (−15.8%) and NUtE (−18.9%) and increased NTrE (+22.2%); fungal inoculation increased stem N (+106.1%), shoot N (+32.9%), plant N (+33.4%), and NUpE (+33.4%), while reducing NUtE (−17.2%). In L80, all treatments reduced NUtE (−20.4% to −27.6%); the fungus and co-inoculation increased stem N (+113.2% and +103.7%) and shoot N (+33.4% and +38.3%), and co-inoculation also increased plant N (+27.5%) and NUpE (+27.5%). Heterosis

varied widely among traits and microbial conditions, with positive transgressions (MSR, MST, root N, plant N, and NUpE under control and under the bacterium) and negative ones (NTrE under control; gas exchange under the bacterium; leaf N and shoot N under the fungus and co-inoculation). These patterns indicate strong expression of non-additive genetic effects, possibly conditioned by the microbial environment, suggesting "clues of epistasis." However, distinguishing between dominance, overdominance, and epistasis requires additional genetic designs and cannot be established from the parental and F₁ means alone. It is concluded that microbial inoculation, especially in co-inoculation, has the potential to increase NUE in efficient popcorn genotypes, with its recommendation being conditioned on the genetic background of the material. Future studies, with evaluations at more advanced stages and longer plant–microorganism coexistence periods, are needed to consolidate the use of these microorganisms as a tool for the sustainable management of nitrogen fertilization and to guide their incorporation into plant breeding programs.

Keywords: Sustainable agriculture; biological nitrogen fixation; plant growth-promoting microorganisms; *Zea mays* var. *everta*.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura moderna enfrenta o desafio de suprir a crescente demanda global por alimentos, conciliando o aumento da produtividade com a sustentabilidade dos sistemas produtivos (Ghosh et al., 2024). Nesse contexto, o nitrogênio (N) destaca-se como um dos nutrientes requeridos em maior quantidade pelas culturas agrícolas, exercendo influência direta sobre o crescimento e a produtividade vegetal (Franco e Döbereiner, 1994), incluindo o milho (Govindasamy et al., 2023; Li et al., 2025). Entretanto, o uso intensivo de fertilizantes nitrogenados sintéticos constitui um dos principais entraves à sustentabilidade da agricultura, não apenas por representar parcela expressiva dos custos de produção, mas também por contribuir para a emissão de gases de efeito estufa (GEE) (Walne et al., 2025), a contaminação de corpos hídricos e a acidificação do solo (Liu-Xu et al., 2024). Diante desse cenário, torna-se essencial desenvolver estratégias que promovam maior eficiência de uso do N (NUE) e reduzam a dependência de fertilizantes sintéticos, conciliando elevados níveis de produtividade com a conservação ambiental (Chandel et al., 2024). Estima-se que apenas cerca de 50% do N aplicado seja efetivamente absorvido pelas plantas (Cassim et al., 2024), enquanto o restante é perdido por lixiviação, volatilização ou desnitrificação. Em países tropicais, como o Brasil, essa situação é ainda mais crítica, dado o predomínio de solos de baixa fertilidade natural, que exigem maiores doses de adubação para manutenção da produtividade (Novais et al., 2007; Lopes e Guilherme, 2016; Sanchez, 2019). Nessa perspectiva, o Brasil está entre os maiores consumidores

mundiais de fertilizantes nitrogenados para sustentar sua produção agrícola (Heffer et al., 2017; ANDA, 2024).

Desde 1960, o uso global de insumos nitrogenados aumentou aproximadamente dez vezes, passando de 11 milhões de toneladas para 113 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2023). Brasil, China e Estados Unidos da América (EUA) figuram entre os maiores mercados consumidores de fertilizantes do mundo, em função de seus sistemas agrícolas, particularmente das culturas de grãos, como o milho (Ludemann et al., 2022; IFA, 2024). Estima-se que 80-85% dos fertilizantes consumidos no país sejam importados, reforçando a necessidade de estratégias que aumentem a NUE e reduzam a dependência externa (IFA, 2024; MAPA, 2024; Global Fert, 2025).

Em milho comum, o desenvolvimento de híbridos com alta NUE tem sido uma das principais estratégias de melhoramento genético para aumentar a produtividade sob condições de menor disponibilidade de N, permitindo maior estabilidade de produção, redução de custos e mitigação dos impactos ambientais associados à fertilização nitrogenada (Souza et al., 2008; Mueller et al., 2019; Wang et al., 2022; Li et al., 2025). Embora raros, trabalhos com a cultura do milho-pipoca também já demonstraram que o melhoramento genético visando à exploração da heterose representa uma via eficiente para incrementar a produtividade e o aproveitamento do N (Santos et al., 2019; Santos et al., 2023a). Nesse sentido, o programa de melhoramento do milho-pipoca para NUE conduzido pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) já desenvolveu três cultivares eficientes no uso do N – UENF N01, N02 e N03 – as primeiras do Brasil a serem registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para baixa disponibilidade de N no solo, resultado de uma linha de pesquisa que tem permitido avanços significativos na geração de tecnologia, com potencial para uma produção mais sustentável e eficiente (Amaral Junior et al., 2023).

A exploração da heterose teve por base estudos pioneiros de Shull (1908) e Jones (1918), sendo posteriormente consolidada com o desenvolvimento dos primeiros híbridos comerciais de milho na década de 1930 (Lamkey e Edwards, 1999; Carena, 2005). Associada à intensificação agrícola promovida pela Revolução Verde, especialmente com o uso de fertilizantes nitrogenados, essa

estratégia de melhoramento contribuiu para expressivos ganhos de produtividade global (Evenson e Gollin, 2003; Pingali, 2012; Carena, 2021).

Nos EUA, a exploração da heterose resultou em expressivos ganhos de produtividade, com incrementos acumulados superiores a 100% desde sua descoberta, envolvendo programas de melhoramento com procedimentos clássicos e uso de marcadores moleculares por seleção via GWAS para características morfofisiológicas (Hallauer, 1999; Lamkey e Edwards, 1999; Troyer, 1999; Carena, 2005; Springer e Stupar, 2007; Hallauer et al., 2010; Hallauer e Carena, 2012; Technow et al., 2012; Duvick, 2005; Bernardo, 2021; Labroo et al., 2021; Diepenbrock et al., 2022; Jiang et al., 2023; Wang et al., 2023; Liu et al., 2024; Yuan et al., 2026). No Brasil, o aproveitamento da heterose foi fortalecido por estudos que demonstraram a importância da capacidade combinatória e de cruzamentos intervarietais no desempenho de híbridos de milho tropical (Paterniani e Lonnquist, 1963; Barriga e Vencovsky, 1973; Paterniani, 1978; Valois e Vencovsky, 1983; Cruz et al., 1984; Eleutério et al., 1988; Cruz e Vencovsky, 1989; Gama et al., 1993; Souza Junior et al., 1993; Santos et al., 1994; Pinto et al., 2001; Rodrigues e Chaves, 2002; Pereira et al., 2006; Tardin et al., 2007; Cruz et al., 2014; Paini et al., 2015; Silva et al., 2020).

Embora os avanços obtidos ao longo das últimas décadas tenham sido substanciais, em particular em *Zea mays*, observa-se que os ganhos genéticos associados à exploração da heterose ainda podem ser ampliados frente ao potencial genético da espécie. Parte desse cenário pode estar relacionada às condições predominantes em que muitos programas de melhoramento foram implementados, frequentemente sob ambientes controlados e com alta disponibilidade de nutrientes, especialmente N. Esse contexto favoreceu a seleção de genótipos altamente responsivos à adubação nitrogenada, enquanto outros componentes da adaptação, incluindo as interações planta-solo-microrganismos, passaram a receber maior atenção apenas em abordagens mais recentes (Luo et al., 2025).

Diante desse cenário, cresce o interesse por estratégias capazes de aumentar a NUE sem comprometer a produtividade agrícola e a qualidade do ambiente. Destaca-se o uso de microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCVs) (Pandey e Saharan, 2025), especialmente os diazotróficos, que são capazes de fixar o N atmosférico (N₂). Esses MPCVs estabelecem interações

benéficas com as plantas, promovendo não apenas o suprimento biológico de N, mas também o crescimento vegetal por meio da produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e indução de mecanismos de defesa contra estresses ambientais (Marin et al., 1999; Bottomley e Myrold, 2015).

Entre os MPCVs, estão incluídos tanto bactérias quanto fungos, capazes de promover o crescimento vegetal por diferentes mecanismos. Entre as bactérias, as espécies pertencentes aos gêneros *Azospirillum*, *Rhizobium* e *Herbaspirillum* estão entre os microrganismos mais estudados e explorados comercialmente no Brasil (Hungria et al., 2010; Canellas et al., 2013; Hungria et al., 2018; Matteoli et al., 2020; Barbosa et al., 2022; Oliveira e Santos, 2023; Vermelho et al., 2026). Já entre os fungos, destacam-se os filamentosos dos gêneros *Trichoderma* e *Penicillium*, amplamente estudados em razão da sua capacidade de colonizar e interagir com as raízes das plantas por meio de múltiplos mecanismos, tais como melhoria na absorção de nutrientes, na síntese de fitormônios, na indução de resistência sistêmica e no aumento da tolerância a estresse abiótico (Bononi et al., 2020; Oliveira e Santos, 2023; Vermelho et al., 2026).

Embora o Brasil seja reconhecido como um país megadiverso e detentor de elevada biodiversidade em seus diferentes biomas, esses ambientes também abrigam uma expressiva diversidade microbiana ainda insuficientemente caracterizada, em especial no que se refere às suas funções ecológicas e potenciais aplicações na agricultura (Andreote et al., 2014; Pylro et al., 2014; Tacca et al., 2026). Apesar dos avanços proporcionados pelas técnicas modernas de sequenciamento de nova geração e pelas abordagens metagenômicas, que ampliaram a capacidade de caracterização da diversidade microbiana e de seus potenciais mecanismos funcionais, grande parte da microbiota associada aos solos brasileiros permanece pouco explorada, representando uma importante lacuna científica e tecnológica (Pylro et al., 2014; Souza et al., 2016; Tacca et al., 2026). Por consequência, aprofundar o conhecimento sobre essa biodiversidade constitui uma oportunidade estratégica para o desenvolvimento de soluções inovadoras voltadas à sustentabilidade dos sistemas agrícolas, incluindo o uso de MPCVs e de bactérias diazotróficas associadas ao milho, capazes de atuar direta ou indiretamente na FBN e na melhoria da eficiência de uso do nutriente, conforme demonstrado em estudos clássicos e recentes sobre interações planta-

microrganismo em gramíneas (Von Bülow e Döbereiner, 1975; James e Olivares, 1998; Baldani e Baldani, 2005; Fukami et al., 2017; Hungria et al., 2022).

Por conseguinte, a caracterização de microrganismos nativos, especialmente aqueles adaptados às condições tropicais brasileiras, sobretudo em condições limitantes de N, pode ampliar o portfólio de bioinsumos disponíveis para a agricultura. Contudo, para que essas novas cepas possam ser incorporadas ao manejo agrícola, é fundamental compreender seus efeitos sobre o crescimento e a fisiologia das plantas.

Nessa perspectiva, estudos têm demonstrado que bactérias do gênero *Enterobacter* e fungos do gênero *Purpureocillium* podem atuar como agentes promotores de crescimento vegetal, influenciando positivamente caracteres morfofisiológicos como altura de planta, biomassa, área foliar e teor de clorofila em diferentes culturas agrícolas, incluindo milho, cana-de-açúcar, soja, sorgo, milho e hortaliças, além de desempenharem papel relevante na mitigação de estresses abióticos como salinidade, seca e toxicidade por metais (Lin et al., 2012; Fukami et al., 2017; Baron et al., 2020; Ikeda et al., 2020; Moreno-Salazar et al., 2020; Ortega et al., 2020; Singh et al., 2021; Silva, 2023; Rigobelo et al., 2024b; He et al., 2025; Kimotho, 2025; Villanueva-Gaete et al., 2025; Pathak et al., 2026; Wang e Xu, 2026; Wen et al., 2026).

Diante das circunstâncias apresentadas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta morfofisiológica de genótipos de milho-pipoca submetidos à inoculação isolada e consorciada de *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, em condições de baixa disponibilidade de N. Especificamente, buscou-se investigar os efeitos nas características morfofisiológicas de genótipos de milho-pipoca contrastantes para NUE e estimar o impacto da inoculação sobre a expressão da heterose, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento e biotecnológicas sustentáveis no cultivo dessa cultura de alta relevância econômica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a resposta morfofisiológica de genótipos de milho-pipoca contrastantes para a eficiência de uso do nitrogênio (NUE), submetidos à inoculação isolada e consorciada de *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, em condições de baixa disponibilidade de N.

2.2 Objetivos Específicos

A) Caracterizar as respostas de trocas gasosas foliares e de crescimento de linhagens de milho-pipoca contrastantes para NUE e de seu híbrido F₁, sob inoculação isolada e consorciada de *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, em condições de baixa disponibilidade de N;

B) Avaliar o acúmulo e a partição de biomassa e de nitrogênio entre raiz e parte aérea, bem como os componentes da eficiência de uso do nitrogênio (NUpE, NUtE e NTrE) de genótipos de milho-pipoca contrastantes para NUE, advindos da interação entre plantas e microrganismos; e

C) Estimar o impacto da inoculação microbiana sobre a expressão da heterose e da heterobeltiose nas características avaliadas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Aspectos gerais e importância econômica da cultura do milho-pipoca

O milho-pipoca, conhecido cientificamente como *Zea mays* L. var. *everta* (Sturtev) L. H. Bailey, pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L., assim como o milho comum (Galinat, 1979; Paterniani e Campos, 2005). Trata-se de uma espécie diploide ($2n = 20$), de crescimento herbáceo, monoica, com reprodução predominantemente por polinização cruzada e ciclo anual (Vilarinho et al., 2002).

A origem genética do milho-pipoca e do milho comum tem suscitado várias teorias, sendo a mais amplamente aceita a de que o teosinto é o ancestral do milho moderno, incluindo o milho-pipoca (Bennetzen et al., 2001). Evidências genéticas e citológicas fundamentam essa relação, incluindo o mesmo número e homologia de cromossomos e a fertilidade dos híbridos resultantes de cruzamentos entre milho e uma variedade de teosinto (Silva et al., 2015). Embora alguns autores sugiram que o milho-pipoca tenha se originado do milho comum do tipo *flint*, dada sua capacidade de estourar (Kantety et al., 1995), outros defendem que essa suposição é improvável, pois o exemplar mais antigo de milho encontrado é o milho-pipoca (Takahashi et al., 1999; Fu et al., 2010). Apoio a essa postulação adveio da identificação de utensílios de barro encontrados junto a sementes de milho-pipoca em tumbas pré-históricas, supostamente usados para fazer pipoca, denotando que o milho-pipoca pode ser a forma mais ancestral (Koo e Jiang, 2008).

Embora compartilhe semelhanças com o milho comum, o milho-pipoca tem características distintas. As plantas tendem a ser menos vigorosas, com porte menor, colmos mais cilíndricos, compactos e finos e menor número de folhas, sendo prolíficas e com pendões maiores (Ziegler e Ashman, 1994; Ziegler, 2001). Apresentam sistema radicular fasciculado e superficial, o que as torna menos tolerantes à seca (Goodman e Smith, 1987), sendo mais propensas ao acamamento, a pragas, a doenças, à quebra de colmos e à podridão de grãos, exigindo cuidado especial na colheita e na secagem para evitar danos ao pericarpo e ao endosperma (Sawazaki, 2001).

Os grãos de milho-pipoca variam em tamanho (de 0,5 a 1,0 cm), forma (redondos, chatos ou pontiagudos) e cor (do branco ao roxo e preto, passando por creme, amarelo, laranja e vermelho), sendo as cores mais comuns a branca e a amarela (Zinsly e Machado, 1978). Os grãos mais aceitos comercialmente são os de formato redondo, tipo pérola, com endosperma de cor alaranjada (Ziegler e Ashman, 1994).

Contudo, a característica que realmente distingue o milho-pipoca do milho comum é a capacidade de expansão (CE) do grão (Brunson, 1937; Hallauer e Carena, 2009). Quando aquecido a cerca de 180 °C, a umidade interna do grão gera pressão sobre o pericarpo até que ele estoure, podendo aumentar o volume inicial em mais de 40 vezes (Zinsly e Machado, 1978; Sawazaki, 2001; Paes, 2006). Essa capacidade é determinada pela razão entre o volume da pipoca após a expansão e o volume ou peso inicial dos grãos (Matta e Viana, 2001; Miranda et al., 2003) e é atribuída a características como grãos mais duros que os do milho comum, pericarpo rígido e espaçamento entre os grânulos de amido (Machado e Bermudez, 2020). A qualidade do milho-pipoca é tanto maior quanto maior a CE, pois isso está diretamente relacionado à maciez da pipoca e, conseqüentemente, ao valor de mercado do produto (Nobre et al., 2000). Entre os fatores que influenciam essa propriedade, destacam-se a quantidade e a distribuição do amido farináceo no endosperma, o tamanho e o formato dos grãos, o tamanho da ponta do grão e do germe (Fantin et al., 1991; Sawazaki, 1995; Sawazaki, 2001), além da temperatura e do método de secagem, da presença de danos mecânicos no pericarpo e no endosperma, do teor de umidade inicial na colheita e final após a secagem, da massa específica e da idade fisiológica dos grãos (Machado, 1997). A umidade dos grãos desempenha papel fundamental na expansão, estando os

níveis mais adequados para alcançar a máxima CE entre 10,2% e 13,4% (Krug et al., 1996), havendo quem mencione uma faixa ideal de 10% a 15%, variável conforme a cultivar utilizada (Guimarães et al., 2025).

Além de ser um alimento bastante apreciado, a pipoca é rica em fibras, favorecendo a saúde intestinal e a prevenção de doenças. Quando preparada sem gordura, tem baixo valor calórico e fornece minerais importantes, incluindo cobre, manganês e fósforo. Apesar da deficiência em aminoácidos essenciais como lisina e triptofano, pode contribuir para a dieta quando consumida de forma equilibrada (Eiz, 2022).

Economicamente, o cenário do milho-pipoca no Brasil revela uma trajetória de crescimento expressivo. Em 2018, a produção nacional atingiu aproximadamente 260 mil toneladas, com consumo interno de 220 mil toneladas e movimento financeiro de US\$ 628 milhões. O Sudeste foi a maior região consumidora (56%), seguida pelas regiões Sul (16%), Nordeste (13%), Centro-Oeste (9%) e Norte (5%) (Editora Gazeta, 2020). Em 2023, a produção saltou para 300 mil toneladas – mais que o dobro dos últimos 20 anos –, com área plantada de 60 mil hectares e produtividades médias de 70 a 100 sacas por hectare (contra 50 sacas/ha há duas décadas), posicionando o Brasil como segundo maior exportador mundial, atrás apenas dos EUA, que produziram 375 mil toneladas no período (Silva, 2023). A produção nacional é fortemente concentrada em Mato Grosso, especialmente no município de Campo Novo do Parecis, com participação menor do Rio Grande do Sul e do Paraná (Silva, 2023). Em nível mundial, o mercado global movimentou cerca de 3,8 bilhões de dólares em 2021, com estimativa de crescimento para 5,5 bilhões de dólares em 2025 (Kaur et al., 2021), impulsionado pela demanda por alimentos processados e pela consolidação da pipoca como opção de lanche, associada a hábitos alimentares saudáveis (Guimarães et al., 2025).

O cultivo do milho-pipoca oferece diversas vantagens por permitir a mecanização completa da área, poder ser armazenado por longos períodos com custos reduzidos e apresentar valor comercial considerável (Brugnera et al., 2003). Por se tratar de um milho especial, não é comercializado como *commodity*, alcançando valor agregado que pode ser até três vezes maior que o valor do milho comum (Paterniani et al., 2020). Em junho de 2026, a saca de 25 kg de milho-pipoca foi cotada em R\$ 162,00 na Ceasa/MG, enquanto a saca de 15 kg de milho verde

foi cotada em R\$ 40,00 (CEASAMINAS, 2026). O interesse pelo cultivo aumentou significativamente após 2010 em razão da demanda de agricultores e indústrias agropecuárias por culturas mais lucrativas para o plantio da segunda safra (Bertolucci, 2022).

Embora a produção seja lucrativa, a maior parte das sementes usadas no Brasil é importada, principalmente dos EUA e da Argentina (Oliveira, 2021). As cerealistas fornecem sementes híbridas importadas e assistência técnica aos produtores, firmando contratos de compra garantida com preço pré-estabelecido para toda a colheita, o que reduz os riscos de mercado para o agricultor (Silva, 2023). Segundo os produtores, isso ocorre principalmente em virtude da superioridade em qualidade e produtividade dos grãos importados em relação às sementes nacionais (Silva, 2023), o que motiva a geração de cultivares adaptadas às condições brasileiras, por exemplo, com alta NUE. Nesse contexto, compreender os desafios e impactos do uso do N na agricultura é fundamental para orientar o desenvolvimento desses materiais.

3.2 Desafios e impactos do uso do N na agricultura

O N é o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono, oxigênio e hidrogênio. É um nutriente limitante crítico para o crescimento e desenvolvimento vegetal, cujos teores podem variar de 1,5% a 2% da matéria seca da planta, correspondentes a até 16% da matéria seca em proteínas, conforme a espécie (Scheible et al., 2004; Taiz et al., 2022). Ele é constituinte essencial de enzimas que catalisam reações bioquímicas e atuam na síntese proteica, bem como de nucleotídeos que constituem os ácidos nucleicos como o DNA e o RNA. Além disso, integra a estrutura dos fitormônios que regulam processos de crescimento e resposta a estímulos ambientais. O N também faz parte das moléculas de clorofila, o pigmento mais importante necessário para a fotossíntese, processo fundamental para a produção de energia (Wagner, 2011; Taiz et al., 2022).

O N está presente na biosfera em diversas formas e em grande quantidade, representando cerca de 78% do seu volume na forma de N molecular (N_2). No entanto, essa reserva atmosférica não pode ser utilizada diretamente pela maioria dos organismos. Para que se torne acessível, é necessário que haja a quebra da ligação tripla covalente altamente estável entre os átomos de N, transformando-o

em amônia (NH_3) ou nitrato (NO_3^-). Esse processo ocorre tanto por meios naturais (FBN) quanto por métodos industriais (Taiz et al., 2024).

A fertilização com N inorgânico tende a aumentar significativamente a produtividade na maioria dos ecossistemas naturais e agrícolas, evidenciando a relevância do nutriente e a disponibilidade limitada no ambiente. Na agricultura, a FBN desempenha papel fundamental, tendo em vista que os fertilizantes nitrogenados de origem industrial envolvem custos financeiros e impactos ambientais, além de nem sempre estarem ao alcance de agricultores com menos recursos (Taiz et al., 2024).

Na segunda metade do século XX, o aumento da produtividade das culturas de cereais exigiu uma elevação significativa na produção e no uso de fertilizantes sintéticos à base de N. Embora esse nutriente seja essencial para o crescimento das plantas, cerca de metade do N aplicado acaba sendo desperdiçado, liberado no ambiente como poluente atmosférico ou aquático (Zhang et al., 2015). Os fertilizantes nitrogenados representam uma das principais fontes de emissão de GEE associados à atividade agrícola (Hungria et al., 2022). Segundo a FAO (2020), o consumo desses fertilizantes no Brasil cresceu mais de 200% entre 2000 e 2018, representando 4,7% da demanda global de adubos nitrogenados. Em escala global, de acordo com a FAO (2023), desde 1960 a aplicação de fertilizantes nitrogenados aumentou aproximadamente 10 vezes (de 11 milhões de toneladas em 1961 para 113 milhões de toneladas em 2020), com uma estimativa de crescimento entre 40 e 60% nos próximos 40 anos. E, segundo dados da Avaliação do Uso de Fertilizantes por Cultura em Nível Global (Ludemann et al., 2022), nos últimos anos, Brasil, China e EUA – maiores produtores globais de milho – utilizaram cerca de 38% de todo fertilizante nitrogenado consumido mundialmente, sendo a produção de milho a maior responsável pelo consumo desse insumo na agricultura (Risi et al., 2024).

Além das questões ambientais, o elevado custo dos fertilizantes nitrogenados é um desafio crescente para a agricultura. Inobstante o uso indiscriminado, a instabilidade geopolítica global impacta diretamente a oferta desses insumos. O Brasil é o maior importador de fertilizante do mundo, suprindo suas demandas com a importação de cerca de 85% desses insumos, principalmente oriundo da Rússia que tem participação de 23% nas importações de fertilizantes no Brasil. Com as sanções econômicas impostas pelo recente conflito

geopolítico, o Brasil se viu obrigado a buscar novos parceiros comerciais para importação da sua demanda de fertilizantes (Global Fert, 2025). Como o Brasil produz uma quantidade muito reduzida de fertilizantes nitrogenados, essa vulnerabilidade no suprimento global torna o N um insumo cada vez mais caro. Isso reforça a necessidade de estratégias inovadoras para aumentar a NUE das culturas, garantindo a segurança alimentar e a sustentabilidade da produção agrícola no país.

A NUE em milho constitui uma das principais linhas de pesquisa em genética e melhoramento, manejo e fisiologia vegetal em escala mundial, sendo amplamente investigada em programas consolidados nos EUA, França, Reino Unido e China, sobretudo, com destaque para contribuições de Schepers et al. (1992), Cassman et al. (2002), Moose e Below (2009), Ciampitti e Vyn (2013), Haegele et al. (2013), Simons et al. (2014), Mueller et al. (2019), Ciampitti e Lemaire (2022), Liu et al. (2024), Wang et al. (2025) e Zhang et al. (2026). Esses estudos evidenciam que a NUE em milho resulta da integração de processos fisiológicos e genéticos relacionados à absorção, assimilação, remobilização e utilização do N, fortemente influenciados por interações genótipo × ambiente e práticas de manejo.

No Brasil, pesquisas relevantes têm sido conduzidas principalmente por instituições como a Embrapa Milho e Sorgo e a Universidade Federal de Viçosa (UFV), envolvendo abordagens de melhoramento genético e fisiologia do milho sob diferentes níveis de disponibilidade de N (Souza et al., 2008; Magalhães et al., 2009; Torres et al., 2018; Netto et al., 2020; Mergener et al., 2021), incluindo a avaliação da eficiência de genótipos, a resposta a doses de N e estratégias de manejo da adubação nitrogenada em sistemas tropicais.

Em contraste, os estudos voltados especificamente ao milho-pipoca (*Zea mays* var. *everta*) permanecem não contemplados em nível mundial, estando concentrados, em sua maior parte, no Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF. A esse respeito, a UENF tem uma linha de pesquisa dedicada a esse tema, que tem como objetivo selecionar linhagens N-eficientes para a realização de cruzamentos visando ao conhecimento dos efeitos gênicos de características morfofisiológicas, bem como para a obtenção de híbridos superiores, além de investigação dos mecanismos da expressão genética de metabólitos subjacentes à expressão da NUE (Santos et al., 2017; Santos et al., 2019; Khan et al., 2020; Santos et al., 2020; Kurosawa et al., 2021; Khan et al., 2022; Amaral Junior et al.,

2023; Santos et al., 2023a; Santos et al., 2023b; Souza et al., 2023), incluindo colaboração científica com pesquisadora da Universidade de Nebraska (EUA) (Santos et al., 2025), sobretudo envolvendo pesquisa relacionada à metabolômica da NUE. Trata-se, portanto, de uma área de investigação promissora, com grande potencial, mas que ainda está em desenvolvimento. Melhorar a capacidade das plantas em absorver esse nutriente continua sendo uma prioridade, tendo em vista que a eficiência no seu aproveitamento é essencial para reduzir custos, aumentar a produtividade e, ao mesmo tempo, minimizar os impactos ambientais associados ao uso de fertilizantes nitrogenados.

3.3 Melhoramento genético para o aumento da NUE em milho-pipoca

3.3.1 Histórico do melhoramento institucional de milho-pipoca: prospecção de linhagens e híbridos com distintos níveis de NUE

A diversidade genética constitui a base dos programas de melhoramento genético, levando em consideração que o progresso genético depende da existência de variabilidade para os caracteres de interesse. Na ausência dessa variabilidade, a resposta à seleção torna-se limitada ou inexistente (Falconer e Mackay, 1996; Allard, 1999; Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2012). No milho comum, essa diversidade tem sido amplamente explorada para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas a estresses bióticos e abióticos, contribuindo para o aumento da produtividade agrícola e para a segurança alimentar (Tester e Langridge, 2010; Dwivedi et al., 2016; Varshney et al., 2021; Li et al., 2025). Estudos recentes reforçam que o uso de recursos genéticos amplos, incluindo *landraces*, germoplasma exótico e abordagens genômicas avançadas, é essencial para sustentar ganhos de produtividade em cenários de mudanças climáticas e intensificação agrícola (Voss-Fels et al., 2019; Li et al., 2025; Wu et al., 2026). A formação de painéis compostos por genótipos de diferentes origens e níveis de parentesco constitui uma estratégia importante para ampliar a variabilidade disponível, aumentar o poder de detecção de diferenças genéticas entre linhagens e reduzir os riscos de erosão genética ao longo dos ciclos de seleção (Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2012; Fu, 2015; Li et al., 2025).

Nesse contexto, a constituição do banco ativo de germoplasma (BAG) de milho-pipoca da UENF, teve início com a obtenção da população denominada UnB-

2U, oriunda de dois ciclos de seleção massal a partir de UnB, realizados em Campos dos Goytacazes, RJ, no período de 1994-1996, pelo Professor Joachim Friedrich Wilhelm von Bülow, quando da fundação da Universidade. Em seguida, por intermédio de autorização para importação do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), foram obtidos daquele Centro de Pesquisa um composto designado Raça Sul-Americana e populações oriundas de países considerados centros de diversidade genética da espécie, como México, Colômbia, Venezuela, Paraguai, Uruguai, Argentina e Bolívia. A estes se somaram os compostos CMS-42 e CMS-43, este último posteriormente designado BRS Angela por Pacheco et al. (2001), ambos cedidos pela Embrapa Milho e Sorgo, bem como o híbrido simples IAC-112 (Sawazaki et al., 1998), o híbrido *testcross* IAC-125 (Sawazaki et al., 2000) e a população SAM (*South American Mushroom*), cedidos pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Da mesma forma, as populações UFV Barão de Viçosa, Beija-Flor e Viçosa-Viçosa foram cedidas pela UFV. Adicionalmente, foi adquirido o híbrido triplo Zélia, da então Pioneer®, atual Corteva™ Agriscience. E, decorrente de parceria com o Prof. Carlos Alberto Scapim, da Universidade Estadual de Maringá (UEM), foram obtidas as populações SE-013, o híbrido triplo Zaeli (originado da empresa de mesmo nome), bem como as linhagens: P1, oriunda do híbrido triplo Zélia; P2 e P3, derivadas do composto CMS-42; P4, proveniente da população SAM; e P5 e P6, obtidas do híbrido Zaeli.

Após os trabalhos pioneiros conduzidos na UENF pelo Prof. Joachim von Bülow, o Programa de Melhoramento Genético de Milho-Pipoca foi reestruturado em 1998, com a implementação da seleção recorrente intrapopulacional utilizando a população UnB-2U. Essa estratégia foi fundamentada na predominância dos efeitos gênicos aditivos para a CE, evidenciada por Lyerly (1942), com base na comparação entre as médias de F_1 s biparentais e as médias dos genitores; por Dofing et al. (1991), mediante análise de gerações; por Larish e Brewbaker (1999), por meio de análise dialélica, e por Pereira e Amaral Junior (2001), utilizando o Delineamento I da Carolina do Norte (*North Carolina Design I*), proposto por Comstock e Robinson (1952). Foram, então, realizados dez ciclos de seleção recorrente intrapopulacional, culminando com o lançamento e registro de população melhorada, que foi denominada UENF-14, no sexto ciclo de seleção recorrente, em homenagem aos quatorze anos de trabalho demandados para se chegar a um material competitivo para lançamento (Daros et al., 2002; Daros et al.,

2004; Santos et al., 2007; Santos et al., 2008; Freitas Junior et al., 2009; Rangel et al., 2011; Silva et al., 2011; Amaral Junior et al., 2013; Freitas et al., 2014; Ribeiro et al., 2016; Guimarães et al., 2019; Schwantes et al., 2020).

Nesse ínterim, estudo conduzido por Coan et al. (2019) demonstrou que a CE apresenta herança mista, sendo controlada por um gene principal de efeito aditivo associado à ação de poligenes com efeitos aditivos e de dominância, evidenciando a natureza quantitativa e complexa desse caráter. Essa nova concepção da herança da principal característica de qualidade do milho-pipoca provocou mudança de rumo no programa de melhoramento populacional da UENF, dando início ao primeiro ciclo de seleção recorrente interpopulacional. Para tanto, foi constituída uma segunda população – além de UENF-14 C10 – denominada UENF-Sintética, formada pela reunião de nove linhagens oriundas dos acessos Zélia, CMS-42, BRS Angela, UFV Barão de Viçosa, Beija-Flor, IAC 112 e Raça Sul-Americana, as quais tinham boas médias para CE. Foram, assim, constituídas 200 famílias de irmãos-completos oriundas de UENF-14 C10 e UENF-Sintética, as quais foram selecionadas em dois locais – Campos dos Goytacazes e Itaocara – permitindo ganho predito de 9,20% para CE e de 8,64% para rendimento de grãos (RG) (Santos Junior et al., 2023), o que possibilitou o registro de seis híbridos interpopulacionais no MAPA, com destaque para Divíbrido (Amaral Junior et al., 2026).

Paralelamente às implementações dos ciclos de seleção recorrente, o Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF foi organizado em atividades de campo para a geração de linhagens dos acessos já contidos em seu BAG. O intento foi a utilização destas linhagens em avaliação *per se* e em cruzamentos – dialélicos e *testcrosses* – nestes últimos casos, para inferência sobre a herança, bem como para a geração e seleção de híbridos simples eficientes no uso do N, do fósforo e da água (Pena et al., 2016; Kamphorst et al., 2018; Gerhardt et al., 2019; Silva et al., 2019; Kamphorst et al., 2020; Lima et al., 2020; Santos et al., 2020; Kamphorst et al., 2021; Kamphorst et al., 2022; Khan et al., 2022; Santos et al., 2022; Bispo et al., 2023; Carvalho et al., 2023; Santos et al., 2023a; Santos et al., 2023b; Oliveira et al., 2024; Schmitt et al., 2024; Barboza Bispo et al., 2025; Leite et al., 2026, Lima et al., 2026; Santos et al., 2026).

Em particular ao estresse provocado pelo N, em trabalho pioneiro, Santos et al. (2017) avaliaram um painel de 29 linhagens S₇ de milho-pipoca do BAG da

UENF, previamente selecionadas para os principais atributos de importância econômica da cultura, a saber, RG e CE. Para isso, o experimento foi conduzido em dois locais – Campos dos Goytacazes e Itaocara – e sob duas condições de disponibilidade de N (baixa e ideal), em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Em se tratando das condições de fertilização, em alto N foi aplicada a adubação de base (32 kg N ha^{-1}) e a de cobertura (108 kg N ha^{-1}). Já na condição de baixo N, foi adotada a mesma quantidade de adubação de base com apenas 30% da adubação de cobertura da condição de alto N.

Para a seleção das linhagens mais eficientes e responsivas no uso do N, foi realizada a análise multivariada GGE biplot, que permitiu avaliar a interação genótipo $\times$ ambiente, levando em conta a variação fenotípica média de cada linhagem nos diferentes ambientes de N. O estudo revelou haver impactos da dose infra-ótima de N no solo sobre RG, mas não para com CE (Santos et al., 2017). Para RG, as linhagens que apresentaram rendimento superior à média foram P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9, P10, L70, L74 e L55, sendo classificadas, portanto, como eficientes e responsivas no uso do N. As demais linhagens tiveram um rendimento inferior à média geral e foram classificadas como ineficientes e não responsivas no uso do N. Para CE, as mesmas linhagens, com exceção de P2, P3 e P4, apresentaram as maiores médias (acima de 30 mL g^{-1}). Estas últimas, todavia, ainda foram consideradas para inclusão em programa de melhoramento, visto que mesmo apresentando médias intermediárias para a característica (acima de 25 mL g^{-1}), ainda assim eram valores aceitáveis para o padrão nacional à época.

Com este trabalho inicial de seleção *per se* de linhagens, estabeleceu-se a base do programa de melhoramento de milho-pipoca da UENF com enfoque na eficiência no uso do N. Por conta da variabilidade genética detectada entre as linhagens avaliadas, estas linhagens foram, por conseguinte, indicadas para serem incluídas em trabalhos subsequentes, inicialmente com a realização de dialelo para investigação de efeito da variância aditiva e de dominância para com a NUE, culminando na obtenção de híbridos simples N-eficientes (Santos et al., 2019), três dos quais foram registrados no MAPA (Amaral Junior et al., 2023). Outros estudos se seguiram e serão dissertados a seguir.

3.3.2 Elucidação dos efeitos genéticos que controlam características morfofisiológicas relacionadas à NUE em milho-pipoca

A compreensão dos mecanismos genéticos que influenciam características agronômicas é fundamental para o sucesso de programas de melhoramento voltados para o aumento da produção em condições de estresses abióticos, incluindo a baixa disponibilidade de N (Wani et al., 2021; Carvalho et al., 2023; Gallais e Hirel, 2004; Wang et al., 2026).

Em estudos de herança de características agronômicas em milho, os cruzamentos dialélicos têm sido amplamente empregados em programas de melhoramento por permitirem a decomposição dos efeitos genéticos em capacidade geral e específica de combinação, sendo fundamentais para a identificação de genitores superiores e para a compreensão da natureza dos efeitos aditivos e não aditivos envolvidos na expressão dos caracteres (Griffing, 1956; Nass et al., 2000; Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2014).

Em milho comum, essa abordagem tem sido aplicada tanto em condições ótimas quanto sob restrição de N, evidenciando a importância da interação genótipo × ambiente e a expressiva variabilidade entre híbridos em relação à NUE e ao desempenho agronômico, especialmente para caracteres como produtividade de grãos e componentes de rendimento, refletindo a natureza quantitativa e ambientalmente dependente desses caracteres (Cruz et al., 1984; Gama et al., 2002; Medici et al., 2005; Guedes et al., 2014; Heinz et al., 2019; Carvalho et al., 2023).

Apesar dos avanços obtidos em milho comum, a elucidação dos padrões de herança e da arquitetura genética associada à eficiência agronômica sob baixa disponibilidade de N ainda representa uma lacuna relevante em germoplasma de milho-pipoca, em decorrência da incipiência de estudos congêneres. Logo, em particular à cultura do milho-pipoca, emergem questões importantes sobre o modo de ação genética de características em cultivos sob baixa disponibilidade de N e, não obstante, no que diz respeito à aplicabilidade dos métodos de melhoramento para essas condições visando à otimização da eficiência de germoplasma no uso do nutriente.

Entre os raros trabalhos com milho-pipoca, cita-se o trabalho de Santos et al. (2019), que utilizaram dez linhagens S₇ de um painel previamente selecionado por Santos et al. (2017) para a realização de um estudo em esquema de dialelo

completo com recíprocos. A pesquisa, conduzida em Campos dos Goytacazes e Itaocara, respectivamente regiões Norte e Noroeste Fluminense, teve como objetivo investigar a ocorrência de efeitos gênicos extracromossômicos, bem como identificar a contribuição dos efeitos aditivos e não aditivos para duas características principais: eficiência agrônômica sob baixa disponibilidade de N (AELN) e média harmônica da performance relativa (HMRP). As linhagens utilizadas foram L61, L75 e L80 (previamente classificadas como ineficientes e não responsivas ao N), P2, P6 e P7 (classificadas como eficientes e responsivas ao N) e L54, L59, L76 e L77 (categorizadas como intermediárias em eficiência e responsividade ao uso de N). Foram obtidas 90 combinações híbridas, avaliadas juntamente com os dez genitores S₇ em delineamento em látice triplo 10 × 10, sob duas condições de N: alto N (adubação de base com 32 kg ha⁻¹ e cobertura com 128 kg N ha⁻¹) e baixo N (adubação de base com 32 kg ha⁻¹ e cobertura correspondente a 30% da dose recomendada). Concluiu-se que o controle genético da NUE é determinado, em parte, por efeitos aditivos, os quais desempenham papel predominante, embora os efeitos não aditivos também sejam relevantes na expressão do caráter. Além disso, foi observado que genes extracromossômicos podem influenciar a manifestação da NUE. Nesse contexto, em programas de seleção recorrente, os ganhos genéticos podem ser obtidos tanto pelo acúmulo de alelos favoráveis de efeito aditivo em esquemas intrapopulacionais, quanto pela exploração da heterose, resultante de interações alélicas favoráveis em esquemas interpopulacionais de melhoramento.

Posteriormente, tomando como base o estudo realizado por Santos et al. (2019), Santos et al. (2023) conduziram um experimento em casa de vegetação com o objetivo de compreender o controle genético de mecanismos morfofisiológicos associados à NUE em plantas de milho-pipoca cultivadas até o estágio de seis folhas completamente expandidas. Até então, os efeitos genéticos elucidados baseavam-se principalmente em características agrônômicas da cultura. No entanto, a integração de índices fisiológicos em conjunto com avaliações morfoagronômicas suscitou novas questões sobre a importância de outras características que poderiam auxiliar na melhor expressão genotípica da NUE.

Para isso, foram utilizadas quatro linhagens genitoras previamente selecionadas por Santos et al. (2017) quanto à NUE (P2 e P7, eficientes e

responsivas ao N; e L75 e L80, ineficientes e não responsivas ao N). Por meio de um esquema de dialelo completo, incluindo recíprocos, foram obtidas 12 combinações híbridas, as quais foram avaliadas juntamente com os genitores em duas condições de N, alto N (224,09 mg N L⁻¹) e baixo N (22,4 mg N L⁻¹), utilizando solução de Hoagland e Arnon (1950), modificada para fonte de nitrato. Diversas foram as características morfofisiológicas exploradas, incluindo altura da planta; diâmetro do colmo; área foliar; massa seca da folha, do colmo, da parte aérea e da raiz; estimativas do conteúdo de N nos tecidos vegetais (folha, colmo, parte aérea, raiz e planta toda); inferência da eficiência no uso do N e seus componentes (eficiência na aquisição e utilização); determinação de trocas gasosas foliares (taxa fotossintética líquida, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂); quantificação de eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm); e avaliação do conteúdo de pigmentos foliares (clorofila, flavonoide e antocianina) e do índice de balanço de N. Os resultados permitiram concluir que em milho-pipoca, durante o estágio vegetativo até V6, os efeitos de heterose relacionados à biomassa vegetal resultam em maior produção de matéria seca da parte aérea. Para as características avaliadas, em comparação com os genitores, o melhor desempenho dos híbridos foi ainda mais evidente em condições de baixa disponibilidade de N no solo, demonstrando que a adaptação do milho-pipoca a ambientes com deficiência de N requer a exploração do vigor híbrido. De modo geral, os resultados sugeriram que, em condições de limitação de N, os mecanismos adaptativos desenvolvidos pelos híbridos incluíram a redução do conteúdo total de clorofila e o aumento nos níveis de pigmentos acessórios, como antocianinas e flavonoides, os quais reduziram a coleta de luz pelos fotossistemas, mitigando os danos por excesso de energia de excitação e aumentando a proteção do aparato fotossintético contra espécies reativas de oxigênio, promovendo a eficiência fotoquímica máxima do PSII (Santos et al., 2023a).

3.3.3 Mecanismos moleculares subjacentes ao uso eficiente de N em plantas de milho-pipoca submetidas ao estresse por baixo N

A NUE em plantas é um processo complexo que envolve mecanismos fisiológicos interconectados, incluindo absorção, assimilação, transporte e remobilização de N, além de sua integração com o metabolismo primário e a fotossíntese (Masclaux-Daubresse et al., 2010; Xu et al., 2012). Em nível molecular,

a NUE é regulada por redes gênicas que controlam transportadores de nitrato e amônio, vias de sinalização e mecanismos de regulação transcricional, determinando a resposta das plantas à disponibilidade de N no ambiente (Wani et al., 2021; Braynen et al., 2025; Jia et al., 2025; Li et al., 2025).

Em milho comum, estudos recentes baseados em abordagens genômicas, incluindo GWAS, têm identificado locos e genes candidatos associados à NUE e a caracteres agronômicos sob diferentes níveis de disponibilidade de N, como produtividade de grãos, altura de planta e intervalo antese-espigamento (Sanchez et al., 2023). Esses avanços reforçam que a NUE é uma característica quantitativa altamente complexa, influenciada por múltiplos genes de pequeno efeito e fortemente dependente do ambiente (Wani et al., 2021; Sanchez et al., 2023; Li et al., 2025).

Apesar dos avanços significativos na elucidação dos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares da NUE em *Zea mays*, a quase totalidade do conhecimento disponível ainda deriva de estudos conduzidos com milho comum, havendo uma lacuna relevante no entendimento desses processos em milho-pipoca. Entre esses raros trabalhos com milho-pipoca, Khan et al. (2022) realizaram estudos em nível molecular investigando os perfis proteômicos de duas linhagens S₇ de milho-pipoca selecionadas por Santos et al. (2017), P2 (eficiente e responsiva no uso do N) e L80 (ineficiente e não responsiva ao uso do N), que foram submetidas a condições de alto (224,09 mg NO₃⁻ L⁻¹) e baixo (22,4 mg NO₃⁻ L⁻¹) fornecimento de N, em vasos em casa de vegetação. As plantas, crescidas até o estágio V6, foram avaliadas um dia antes da colheita para características morfológicas (altura de planta, área foliar, massa seca da folha, colmo e raiz), bem como relacionadas à NUE (conteúdo de N nas folhas, colmo e raiz) e a trocas gasosas foliares (taxa fotossintética líquida, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂ e transpiração).

Nesse estudo, a proteômica comparativa associada a características agronômicas e fisiológicas permitiu identificar proteínas-alvo envolvidas no transporte de N, metabolismo energético, metabolismo de N e biossíntese de ascorbato. Proteínas relacionadas ao metabolismo de carboidratos apresentaram maior acumulação nas plantas submetidas ao estresse por baixo N, elevando a produção de energia de forma alternativa para lidar com o ambiente de estresse nutricional. A abundância de proteínas relacionadas ao metabolismo de N na

linhagem ineficiente ao uso do N provavelmente contribuiu para a adaptação ao estresse por baixo N. Além de compreender a dinâmica da eficiência e responsividade ao N nas plantas, o estudo de Khan et al. (2022) selecionou proteínas-chave, incluindo ferredoxina-nitrito redutase (Fd-NiR), ascorbato peroxidase (APX), amido sintetase do tipo grânulo 1 (GBSS 1), shikimato quinase (SK), frutose-1,6-bisfosfato aldolase (FBA) e alanina aminotransferase (AlaAT), como candidatas para exploração em programas de melhoramento de milho-pipoca focados na NUE por meio do desenvolvimento de marcadores moleculares que permitam a seleção precoce de genótipos mais eficientes no uso do N, com perspectiva de contribuir para o estabelecimento de um modelo agrícola mais sustentável.

Mais recentemente, buscando desvendar novos mecanismos fisiológicos e moleculares relacionados com a resposta ao uso eficiente do N em milho-pipoca, Santos et al. (2025) investigaram o perfil proteômico completo (folhas e raízes) de duas linhagens contrastantes para NUE (P2, com alta NUE; e L80, com baixa NUE), em casa de vegetação, em condições distintas de disponibilidade de N. Foram avaliadas características morfológicas e fisiológicas, como *quenching* fotoquímico e não-fotoquímico, rendimento quântico do fotossistema II e fotossíntese potencial. Comparada à linhagem L80, crescida sob baixa disponibilidade de N, P2 apresentou 25,9% a mais de área foliar, com 22,4% das plantas mais altas, colmos 21,7% mais espessos e massa seca da parte aérea de magnitude 113% superior, além de valores mais elevados de *quenching* fotoquímico e não-fotoquímico e rendimento quântico do fotossistema II, resultando em uma fotossíntese máxima superior em 16,5% à de L80.

Nesse estudo, pela primeira vez o perfil proteômico de toda planta foi analisado. Nas folhas, a análise proteômica comparativa identificou 215 proteínas diferencialmente acumuladas em P2 e 168 em L80. Já nas raízes foram identificadas 127 proteínas em P2 e 172 em L80. Notadamente nas folhas, o metabolismo energético e a fotossíntese representaram as principais diferenças entre P2 e L80, como resposta ao estresse oxidativo. Já nas raízes, o transporte de nitrato, a assimilação de amônio e o metabolismo de aminoácidos contribuíram para a maior NUE da linhagem P2. Nesse sentido, esse estudo contribuiu para desvendar novos mecanismos moleculares pelos quais as plantas de milho-pipoca eficientes no uso do N se diferenciam de plantas ineficientes no uso do nutriente.

Todavia, ainda permanece um campo inexplorado de respostas metabólicas à NUE em milho-pipoca, sobretudo no que se refere à interação planta-microbioma.

3.3.4 Perspectivas para o programa de melhoramento genético de milho-pipoca para a NUE

Embora avanços tenham sido alcançados no melhoramento genético do milho-pipoca para aumentar a NUE, ainda há grande oportunidade de progressos com a integração de microrganismos benéficos como estratégia complementar. A adoção dessa abordagem está alinhada à Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU, 2015) e ao conceito de bioeconomia aplicada à agricultura, promovendo soluções mais sustentáveis e economicamente viáveis para a produção agrícola. Dessa forma, integrar esses microrganismos ao melhoramento genético e às práticas agrônômicas pode resultar em sistemas agrícolas mais eficientes e resilientes.

Os MPCVs, especialmente as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCVs), desempenham papel central na melhoria da eficiência nutricional das plantas e na sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Esses microrganismos atuam por meio de mecanismos como a FBN, a solubilização de nutrientes e a melhoria da eficiência no uso de fertilizantes, reduzindo a dependência de insumos nitrogenados sintéticos (Hungria et al., 2015; Goyal et al., 2021; Zeng et al., 2022; Chen et al., 2023).

Entre os principais grupos funcionais dessas bactérias estão os microrganismos diazotróficos, capazes de realizar a FBN por meio da enzima nitrogenase, responsável pela redução do N_2 atmosférico em amônia. Esse processo envolve diferentes sistemas enzimáticos dependentes de metais como molibdênio, vanádio e ferro, refletindo a diversidade metabólica desses organismos (Luxem et al., 2022; Martin del Campo et al., 2022).

Em sistemas simbióticos, como a associação entre rizóbios e leguminosas, a eficiência da fixação de N pode ser influenciada pela diversidade microbiana, com impacto direto na produtividade das culturas (Hungria et al., 2015; Taylor e Komatsu, 2024).

De forma integrada, esses processos aumentam a entrada de N reativo nos ecossistemas agrícolas e fortalecem a fertilidade do solo. O avanço no conhecimento sobre FBN amplia o potencial de aplicação de MPCVs em culturas

não leguminosas, contribuindo para uma agricultura mais sustentável (Goyal et al., 2021; Zeng et al., 2022; Chen et al., 2023).

Nesse contexto, a título de exemplo, a substituição de 25% do fertilizante nitrogenado pela inoculação com *Azospirillum brasilense* em cultivos de milho poderia reduzir em até 236 kg as emissões de dióxido de carbono equivalente (CO₂-e) por hectare (Hungria et al., 2022). Segundo o Painel Intergovernamental Sobre Mudança do Clima (IPCC, 2006), a conversão industrial de 1 kg de N corresponde à emissão de 10,5 kg de CO₂-e. Desse total, 4,5 kg são gerados durante a produção do fertilizante, enquanto aproximadamente 6 kg resultam do transporte, da aplicação e das emissões diretas e indiretas de óxido nitroso (N₂O). Logo, as BPCVs podem fixar uma quantidade significativa de N sem causar o mesmo impacto em termos de emissão de dióxido de carbono.

Spolaor et al. (2016), em experimentos com o híbrido de milho-pipoca IAC 125 conduzidos em Londrina e Maringá (PR), demonstraram que a inoculação com BPCVs – Masterfix L.[®] (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6) ou UEL (*A. brasilense* Ab-V5 e *Rhizobium* sp. 53GRM1) – elevou significativamente o RG na ausência de adubação nitrogenada de cobertura (0 kg N ha⁻¹). No ambiente de Londrina, os incrementos foram de 9,98% (367 kg ha⁻¹) para Masterfix L.[®] e 16,44% (605 kg ha⁻¹) para UEL; em Maringá, foram de 20,14% (465 kg ha⁻¹) e 32,81% (758 kg ha⁻¹), respectivamente, com médias gerais de 13,21% e 26,61% sobre o controle não inoculado.

Souza (2025), em experimentos com 28 híbridos de milho-pipoca oriundos de dialelo envolvendo sete linhagens e quatro testadores, conduzidos em Campos dos Goytacazes (RJ), demonstrou que a microbiolização das sementes com AzoTotal[®] (*A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6) elevou significativamente o RG em condição limitada de N, com incremento médio de 20,5% sobre o controle não inoculado e maior eficiência no cultivo de inverno. O híbrido L326 × L690 destacou-se no que concerne à associação entre RG e CE, e a inoculação reduziu a severidade de *Fusarium verticillioides*, sugerindo possível indução de resistência. Tais resultados evidenciam o potencial da bioinoculação como estratégia complementar ao melhoramento genético, favorecendo a NUE e a sustentabilidade da cultura.

Diante dos diversos benefícios proporcionados pelas BPCVs, é fundamental incorporá-las nas etapas de desenvolvimento de genótipos nos

programas de melhoramento genético. Essa abordagem tem sido considerada uma estratégia promissora para otimizar a responsividade dos genótipos, favorecendo sua ampla adoção e eficiência agrônômica (Reed e Glick, 2023). Além disso, para aprimorar a resposta do milho-pipoca à inoculação com esses microrganismos, é essencial compreender os mecanismos genéticos que regulam a interação planta-microrganismo, especialmente aqueles associados à variabilidade genotípica e ao microbioma associado às raízes.

3.4 Microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCVs): avanços e aplicações na agricultura

O modelo agrícola intensivo com base em insumos químicos tem sido amplamente associado à degradação do solo, perda de biodiversidade e impactos ambientais globais (Rockström et al., 2009; Foley et al., 2011; FAO, 2015; Lal, 2020). Nesse contexto, os MPCVs emergem como alternativas viáveis para reduzir o uso de fertilizantes sintéticos, ao mesmo tempo que aumentam a produtividade agrícola, representando opções mais promissoras para a transição para sistemas agrícolas sustentáveis (Ansabayeva et al., 2025). Esses organismos, que incluem bactérias e fungos, estabelecem relações mutualísticas com as plantas, promovendo seu crescimento por meio de diversos mecanismos fisiológicos e bioquímicos (Baron et al., 2020; Kumar et al., 2022).

Um estudo desenvolvido pelo IDR-Paraná (Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – Iapar-Emater) em parceria com a Embrapa Soja demonstrou que a FBN foi tão eficiente que possibilitou aos produtores de soja uma economia de cerca de US\$ 15,2 bilhões em fertilizantes químicos na safra 2019-2020, ao possibilitar o fornecimento de N para as plantas sem necessidade de recorrer à adubação com ureia, realçando, assim, o grande potencial do uso dos MPCVs para o estabelecimento de um modelo agrícola economicamente mais viável e ambientalmente seguro (Telles et al., 2023).

Os MPCVs atuam por meio de diversos mecanismos que podem ser classificados como diretos ou indiretos. Entre os mecanismos diretos, destaca-se a FBN, realizada por bactérias diazotróficas como *Rhizobium* e *Azospirillum*, capazes de converter o N₂ atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas, contribuindo para a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados (Kim e Rees, 1994; Garcia et al., 2021; Goyal et al., 2021). Outro mecanismo importante é a

solubilização de fosfato, pela qual bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* produzem ácidos orgânicos, fosfatases e outros metabólitos que disponibilizam fósforo anteriormente imobilizado no solo, favorecendo sua absorção pelas plantas (Rodríguez e Fraga, 1999; Alori et al., 2017; Zeng et al., 2022). Além disso, diversos MPCVs sintetizam fitormônios como auxinas, citocininas e giberelinas que regulam processos fisiológicos relacionados à divisão e alongação celular, ao desenvolvimento radicular e à absorção de nutrientes, promovendo maior crescimento e produtividade das culturas (Spaepen et al., 2007; Ahemad e Kibret, 2014; Ercole et al., 2025).

Já os mecanismos indiretos incluem a indução de resistência sistêmica (ISR), pela qual microrganismos como *Trichoderma* spp. e espécies de *Bacillus* ativam mecanismos de defesa da planta contra fitopatógenos, reduzindo a incidência e a severidade de doenças (Pieterse et al., 2014; Ilham et al., 2019; Ercole et al., 2025). Outro mecanismo importante é a produção de sideróforos, compostos capazes de quelar ferro (Fe^{3+}), restringindo sua disponibilidade para microrganismos fitopatogênicos e favorecendo sua aquisição pelas plantas e por microrganismos benéficos (Ahmed e Holmström, 2014; Santoyo et al., 2016). Além disso, diversos MPCVs aumentam a tolerância das plantas a estresses abióticos, como seca, salinidade e toxicidade por metais, pela produção de osmólitos compatíveis, enzimas antioxidantes, ACC-desaminase e outras moléculas bioativas que contribuem para a manutenção da homeostase celular (Glick, 2014; Ilham et al., 2019; Ercole et al., 2025). Em conjunto, esses processos promovem o crescimento vegetal, aumentam a resiliência das culturas frente a condições adversas e reforçam o potencial dos MPCVs como ferramentas estratégicas para uma agricultura mais sustentável (Ansabayeva et al., 2025; Ercole et al., 2025).

Apesar dos avanços significativos no uso de MPCVs, ainda há uma expressiva lacuna entre a elevada diversidade microbiana presente nos ecossistemas naturais e o número relativamente restrito de microrganismos efetivamente explorados e utilizados como insumos biológicos na agricultura. Solos tropicais, como os encontrados no Brasil, apresentam elevada complexidade e riqueza microbiana, sendo reconhecidos como importantes reservatórios de diversidade biológica, com alto potencial biotecnológico ainda pouco explorado (Faoro et al., 2010; Pylro et al., 2014; Andreote et al., 2017; Melo et al., 2021). Nesse contexto, o Brasil, por sua extensão territorial e diversidade de biomas,

abriga uma das maiores riquezas microbianas do planeta, representando um *hotspot* global para bioprospecção de microrganismos com potencial agrícola (Thompson et al., 2017; Glienke et al., 2024).

O Radar Tecnológico de Bioinsumos (Oliveira e Santos, 2023), fruto do Acordo de Cooperação Técnica entre o Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) e a Embrapa, mostra que o número de registro de biofertilizantes no Brasil é dividido em três principais categorias: estresse abiótico, fixação de N e solubilização de nutrientes. Destes, o número de registros para fixação de N representa apenas metade da categoria “estresse abiótico”. O Radar Tecnológico mostra ainda que, entre os pedidos de patente, produtos que utilizam bactérias representam o dobro daqueles que utilizam fungos. Em relação às bactérias mais utilizadas, destacam-se as do gênero *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Streptomyces*, que representam quase a totalidade dos pedidos, seguidas pelos gêneros *Rhizobium*, *Paenibacillus*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Methylobacterium*, *Pantoea* e *Glucanacetobacter*. Já em relação aos fungos, os pedidos registrados envolvem apenas três gêneros: *Trichoderma*, *Penicillium* e *Glomus* (Oliveira e Santos, 2023).

Esse levantamento revela um panorama ainda concentrado em poucos grupos taxonômicos, o que reforça a relevância de implementação de pesquisas que busquem diversificar a base microbiana dos insumos utilizados na agricultura. Nesse sentido, o presente projeto assume um papel estratégico ao direcionar seus esforços para o estudo de microrganismos que não figuram entre os mais recorrentes nos pedidos de patentes. As bactérias do gênero *Enterobacter* e os fungos do gênero *Purpureocillium*, foco dessa investigação, têm demonstrado, em estudos preliminares (Lin et al., 2012; Fukami et al., 2017; Baron et al., 2020; Ikeda et al., 2020; Moreno-Salazar et al., 2020; Ortega et al., 2020; Singh et al., 2021; Rigobelo et al., 2024b; He et al., 2025; Kimotho, 2025; Villanueva-Gaete et al., 2025; Pathak et al., 2026; Wang e Xu, 2026; Wen et al., 2026), potencial para a promoção de crescimento vegetal, constituindo opções promissoras para aplicação em estratégias biotecnológicas sustentáveis que otimizem o desempenho agrônomo das culturas.

3.5 FBN e atuação dos MPCVs

A FBN em formas assimiláveis pelas plantas é um processo altamente energético (Postgate, 1982). Isso se deve ao fato de que o N_2 atmosférico é formado por dois átomos de N, que se integram por uma forte ligação covalente tripla, o que confere elevada estabilidade e baixa reatividade química à molécula. Nesse contexto, a enzima nitrogenase desempenha papel central ao catalisar a redução do N_2 , promovendo a quebra dessa ligação e sua conversão em amônia (NH_3), pela incorporação sequencial de prótons e elétrons (Kim e Rees, 1994). A amônia produzida pode, então, ser assimilada por diferentes organismos e convertida em compostos nitrogenados orgânicos, variando conforme o microrganismo envolvido no processo de fixação.

Embora já exista uma série de sistemas de FBN descritos, esse processo é restrito aos organismos procariotos. De modo geral, os microrganismos capazes de fixar N (diazotróficos) utilizam de 16 moléculas de ATP para reduzir cada mol de N (Hubbell e Kidder, 2009). O cerne deste processo é o complexo enzimático nitrogenase, composto por duas metaloproteínas principais: a dinitrogenase redutase, também chamada de proteína ferro, contendo o cluster 4Fe-4S; e a dinitrogenase, uma proteína ferro-molibdênio, contendo os cofatores FeMo-co e P-cluster (Hoffman et al., 2014). O processo tem início com a ligação da molécula de N_2 ao sítio ativo do cofator FeMo-co na dinitrogenase. A dinitrogenase redutase, com a utilização de 16 moléculas de ATP, fornece os elétrons necessários para a redução do N molecular. Cada ciclo completo de fixação requer oito elétrons, seis para reduzir uma molécula de N_2 a duas moléculas de NH_3 sendo os dois elétrons restantes perdidos na produção de uma molécula de H_2 como subproduto obrigatório da reação (Hoffman et al., 2014).

A enzima nitrogenase é extremamente sensível ao oxigênio molecular, o que levou os microrganismos fixadores a desenvolverem sofisticados mecanismos de proteção. Bactérias aeróbias como *Azotobacter* utilizam uma combinação de consumo respiratório acelerado de oxigênio e proteínas protetoras específicas (Maier e Moshiri, 2000). Quando em associações simbióticas como as do *Rhizobium* com leguminosas, a planta hospedeira produz leghemoglobina, que mantém condições microaeróbicas ideais dentro dos nódulos radiculares (Rutten e Poole, 2019).

Após a fixação, o N ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) é incorporado ao metabolismo celular e posteriormente transferido para a planta hospedeira. Em microrganismos de vida livre, como *Azospirillum*, o NH_3 produzido é assimilado inicialmente via GS-GOGAT (glutamina sintetase-glutamato sintase), formando glutamina e glutamato, que podem ser liberados para o solo e absorvidos pelas raízes das plantas (Westby et al., 1987). Por sua vez, em simbioses mais especializadas, como no caso de *Rhizobium* e leguminosas, o processo é mais eficiente: o NH_3 produzido nos nódulos radiculares é rapidamente assimilado em aminoácidos, principalmente asparagina e glutamina, que são, então, transportados via xilema para a parte aérea da planta (Schulte et al., 2021). Esse fluxo de compostos nitrogenados não apenas supre as necessidades nutricionais da planta, como também regula a atividade dos microrganismos, mantendo um equilíbrio metabólico na interface simbiótica.

A complexidade desses processos de fixação de N reflete a diversidade de estratégias evolutivas desenvolvidas pelos microrganismos diazotróficos. Evans e Burris (1992) propuseram uma classificação funcional para esses organismos fundamentada em seu grau de associação com as plantas, favorecendo a compreensão das variações na eficiência e nos mecanismos de transferência de N. Essa categorização distingue três grupos principais: diazotrofos de vida livre, que fixam o N para seu próprio uso; diazotrofos associativos, que contribuem para o crescimento da planta sem a formação de estruturas diferenciadas, não estabelecendo uma simbiose; e os diazotrofos simbióticos, que estabelecem uma interação muito estreita entre o macro e o microsimbionte, sendo que em alguns casos são formadas estruturas diferenciadas, denominadas nódulos.

Em se tratando dos diazotróficos de vida livre, a maioria desses organismos é heterotrófica e depende de fontes de carbono disponíveis no ambiente para sustentar o processo de FBN, sendo os exsudados radiculares um dos principais substratos energéticos na rizosfera (Jones et al., 2003; Bürgmann et al., 2005; Zhao et al., 2024). Esses microrganismos colonizam preferencialmente o rizoplane e a rizosfera, onde estabelecem intensa interação com a planta hospedeira, influenciada por compostos liberados pelas raízes, que atuam como fontes de carbono, e sinais químicos que modulam a estrutura e a atividade da comunidade microbiana (Weller et al., 2002; Hinsinger et al., 2009).

Os diazotróficos associativos podem ser classificados, conforme a proposta de Baldani et al. (1997). No caso, há os endofíticos facultativos, capazes de colonizar tanto a rizosfera quanto o interior das raízes, e os endofíticos obrigatórios, restritos ao ambiente interno do tecido vegetal. Em ambos, não há a formação de uma estrutura onde ocorre a FBN. Já os diazotróficos simbióticos estabelecem uma associação altamente especializada com a planta hospedeira, culminando na formação de nódulos radiculares, estruturas especializadas nas quais ocorre a FBN de forma eficiente e mutualística (Oldroyd, 2013; Masson-Boivin e Sachs, 2018). Esse processo envolve reconhecimento molecular entre planta e bactéria, infecção controlada dos tecidos radiculares e diferenciação bacteriana em bacteroides ativos na fixação de N₂ (Oldroyd, 2013; Udvardi e Poole, 2013; Masson-Boivin e Sachs, 2018). Em sistemas agrícolas, essa simbiose é amplamente explorada por meio de inoculantes microbianos, com destaque para o uso de rizóbios eficientes, resultando em aumento de produtividade e redução da dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos (Hungria et al., 2020).

3.5.1 Interação entre *Purpureocillium* e *Enterobacter*: benefícios do consórcio de MPCVs

A interação entre diferentes MPCVs, como fungos e bactérias, tem sido cada vez mais reconhecida como uma abordagem promissora para intensificar a produtividade agrícola de forma sustentável. Estudos recentes têm demonstrado a eficácia do uso de consórcios microbianos para promoção de crescimento vegetal e redução de estresses abióticos em trigo (Karuppiyah et al., 2019a; Yadav et al., 2022), espinafre (Shilev et al., 2020a), manjerição (Shilev et al., 2020b), berinjela (Upamanya et al., 2020), milho (Karuppiyah et al., 2019b; Moradtalab et al., 2020), tomate (Muthuraja e Muthukumar, 2022), cevada (Kaur et al., 2022), arroz (Anshu et al., 2022), algodão (Metwally et al., 2022), tabaco (Begum et al., 2022), *Arabidopsis* (Dixit et al., 2023) e soja (Iturralde et al., 2020; Leite et al., 2024). Todavia, até o momento, não há relato na literatura que documente de forma direta e sistemática a interação simbiótica ou consorcial entre *Purpureocillium* e *Enterobacter* em contextos agrícolas, sobretudo para FBN ou para promoção de crescimento vegetal.

Os gêneros *Purpureocillium* (fungos filamentosos amplamente distribuídos) e *Enterobacter* (bactérias diazotróficas de vida livre ou endofíticas) se destacam

individualmente por apresentarem habilidades bioquímicas complementares. Enquanto espécies como *Purpureocillium lilacinum* são associadas à promoção de crescimento vegetal pela produção de metabólitos bioativos e, em alguns isolados, pela solubilização de fosfato e melhoria da disponibilidade de nutrientes na rizosfera (Moreno-Salazar et al., 2020; Villanueva-Gaete et al., 2025), *Enterobacter* spp. são conhecidas por sua capacidade de fixar N atmosférico e promover o crescimento vegetal pela produção de fitormônios e outras atividades benéficas, incluindo a mobilização de nutrientes e a tolerância a estresse abiótico (Ahemad e Kibret, 2014; Khan et al., 2021; Silva, 2023).

Nesse contexto, estudos envolvendo a bactéria *Bacillus* spp. e *P. lilacinum* demonstraram que a interação sinérgica entre eles não só melhora o controle de nematoides parasitas de plantas, mas também promove o crescimento e o desenvolvimento vegetal por mecanismos como solubilização de fosfato e produção de fitormônios (Leong et al., 2021; Engelbrecht et al., 2022; Sedhupathi et al., 2022). Por outro lado, consórcios entre *Enterobacter* spp. e fungos micorrízicos ou outros fungos de solo, como *Trichoderma* spp., também têm revelado sinergia na promoção do crescimento vegetal, resultando em maior absorção de nutrientes, acúmulo de biomassa e tolerância a estresses abióticos (Schulte et al., 2021; Ercole et al., 2025).

A potencial complementaridade entre *Purpureocillium* e *Enterobacter* reside, sobretudo, na combinação entre dois processos-chave: a solubilização de fósforo insolúvel no solo, promovida por ácidos orgânicos secretados por *Purpureocillium* (Moreno-Salazar et al., 2020; Villanueva-Gaete et al., 2025), e a FBN realizada por *Enterobacter* spp. (Westby et al., 1987; Maier e Moshiri, 2000). A atuação simultânea desses mecanismos pode favorecer significativamente o crescimento vegetal, haja vista que o fornecimento coordenado de N e fósforo é essencial para a síntese de proteínas, ácidos nucleicos e metabólitos secundários. Além disso, polissacarídeos produzidos por *P. lilacinum* têm demonstrado potencial na promoção do crescimento vegetal sob condições de estresse salino (He et al., 2025), o que pode ser complementado por bactérias como *Enterobacter cloacae*, capazes de modular o metabolismo vegetal pela produção de auxinas e ACC desaminase (Gamalero et al., 2023).

Assim, fundamentando-se nas evidências de interações funcionais semelhantes com outros microrganismos, pode-se fortemente presumir que a

associação entre *Purpureocillium* e *Enterobacter*, embora ainda pouco explorada, apresenta grande potencial biotecnológico, motivo pelo qual se acredita que a investigação de consórcios específicos entre esses dois gêneros possa representar uma nova fronteira na construção de bioinoculantes multifuncionais para uso agrícola sustentável.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção e preparação dos inóculos

Os microrganismos utilizados neste trabalho pertencem à coleção do Setor de Microbiologia Ambiental do Laboratório de Biotecnologia (LBT), localizado na UENF. Resumidamente, a bactéria *Enterobacter* sp. S3103 foi isolada da serrapilheira da restinga Paulo Cesar Vinha, em Guarapari, Espírito Santo. Inicialmente, este isolado foi testado quanto ao potencial de promoção do crescimento vegetal por meio de ensaios de solubilização de fosfato, produção de compostos indólicos (hormônios) e tolerância à salinidade. Posteriormente, a bactéria foi avaliada na planta aquática *Salvinia auriculata* no que se refere à tolerância à salinidade, conforme descrito por Silva (2023). O fungo *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, por sua vez, foi isolado de lavouras de café conilon e selecionado para verificação do potencial de biodegradação do herbicida glifosato, solubilização de fosfato e de promoção de crescimento vegetal em tomate, conforme descrito por Villanueva-Gaete et al. (2025).

4.1.1 Inóculo bacteriano

Inicialmente, foi feito o estriamento da bactéria em placa de *Petri* contendo o meio de cultivo Luria Bertani (LB) sólido com glicose. A placa foi incubada em estufa bacteriológica por 24 h a 30 °C. Posteriormente, uma alçada da bactéria foi inserida no *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 50 mL de LB líquido. O frasco foi

vedado com manta e gaze e colocado em *shaker* por 4 h, com uma rotação de 150 rpm.

4.1.2 Inóculo fúngico

Para a preparação do inóculo de *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, primeiramente uma mistura de 200 g de arroz parboilizado umedecido com 100 mL de água destilada foi acondicionada em um saco plástico resistente a altas temperaturas. Na face do saco, foi feito um recorte retangular de 13 × 9 cm, sobre o qual foi fixado um pedaço de papel filtro (14 × 10 cm) com fita apropriada para autoclavagem. O conjunto foi esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 min e, posteriormente, deixado esfriar até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, em condições assépticas, o saco foi aberto e 10 discos de micélio, com cerca de 5 mm de diâmetro, retirados de cultura fúngica previamente cultivada em meio sólido, foram adicionados ao arroz esterilizado. O saco foi novamente fechado com fita. A incubação foi conduzida em incubadora B.O.D, num fotoperíodo de 24 h de escuridão, por 7 dias.

Após o período de incubação, foi feito o preparo da suspensão de esporos. O arroz colonizado foi transferido para um béquer de 1000 mL e adicionados 500 mL de água destilada autoclavada. Com o auxílio de um bastão de vidro, o arroz foi agitado cuidadosamente para desprender os esporos do micélio, resultando em uma suspensão mais escura, enquanto o arroz ficou esbranquiçado. A mistura foi, então, filtrada através de gaze fixada na boca de outro béquer de 1000 mL, separando os esporos presentes na solução do arroz que ficou retido na gaze.

O volume da suspensão de esporos foi obtido e transferido para uma garrafa de vidro autoclavada. Para determinar a concentração de esporos, uma amostra foi retirada da suspensão e diluída em uma proporção de 1:100, pela adição de 10 µL da suspensão a 990 µL de água destilada autoclavada. Posteriormente, 50 µL dessa diluição foram colocados na câmara de Neubauer, tendo a contagem dos esporos sido feita com o auxílio de um microscópio. Após a contagem, foi calculada a concentração total de esporos na suspensão e determinado o fator de diluição para ajustar a concentração da suspensão para 1×10^8 esporos mL⁻¹.

4.1.3 Inoculação na turfa

A turfa de esfagno comercial foi previamente autoclavada e utilizada como veículo para a inoculação dos microrganismos nas plantas de milho-pipoca. O procedimento de inoculação foi feito 24 h antes do plantio, nas seguintes proporções para cada condição experimental: para o tratamento com bactéria, foram utilizados 150 g de turfa acrescidos de 50 mL do inóculo bacteriano; para o tratamento com fungo, 150 g de turfa acrescidos de 50 mL do inóculo fúngico; para o tratamento do consórcio, 150 g de turfa foram acrescidos de 25 mL de cada inóculo (bacteriano e fúngico); e para o tratamento controle, 150 g de turfa foram acrescidos de 50 mL de água destilada autoclavada. As misturas foram feitas em béqueres autoclavados e, após homogeneização, os recipientes foram vedados com plástico-filme e mantidos em temperatura ambiente até o momento do plantio.

4.2 Genótipos

Foram utilizados três genótipos: duas linhagens endogâmicas S₇, sendo uma obtida por cessão da UEM e outra desenvolvida na própria UENF, além do híbrido entre elas. Trata-se, respectivamente, das linhagens P2 (derivada do Composto CMS-42, da Embrapa Sete Lagoas, adaptada a clima temperado/tropical e de ciclo precoce) e L80 (derivada da variedade de polinização aberta Viçosa, oriunda de cessão da UFV, adaptada a clima temperado/tropical e de ciclo tardio), e o híbrido P2×L80.

As linhagens foram avaliadas para NUE por Santos et al. (2017) e Santos et al. (2019) em condições de campo e, posteriormente, por Santos et al. (2023a; 2023b; 2025) sob condições controladas e contrastantes quanto à disponibilidade de N (100% do N necessário para milho e 10% do N necessário; ou seja, 224,09 mg NO₃⁻L⁻¹ e 22,41 mg NO₃⁻L⁻¹, respectivamente), culminando com a consolidação da classificação de P2 como eficiente e responsiva (ER) e de L80 como ineficiente e não responsiva (INR) no uso do N.

4.3 Ensaio para a avaliação de linhagens e híbrido

4.3.1 Delineamento experimental e condições ambientais

Essa etapa experimental foi conduzida em casa de vegetação da Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias

(CCTA) da UENF, em Campos dos Goytacazes, RJ (21°9'S; 41°10'W, 14 m acima do nível do mar) de 12 de fevereiro a 20 de março de 2025.

Os experimentos foram arranjados em delineamento de blocos completos casualizados. Cada condição de inoculação – bactéria (*Enterobacter* sp. S3103), fungo (*Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1), consórcio (bactéria + fungo) e controle (não inoculado) – foi conduzida em mesa experimental distinta, sendo considerada um experimento. Em cada condição, os três genótipos (duas linhagens e um híbrido) foram distribuídos em sete blocos completos casualizados, com uma planta por parcela, totalizando 21 parcelas por condição e 84 unidades experimentais (Figura 1).

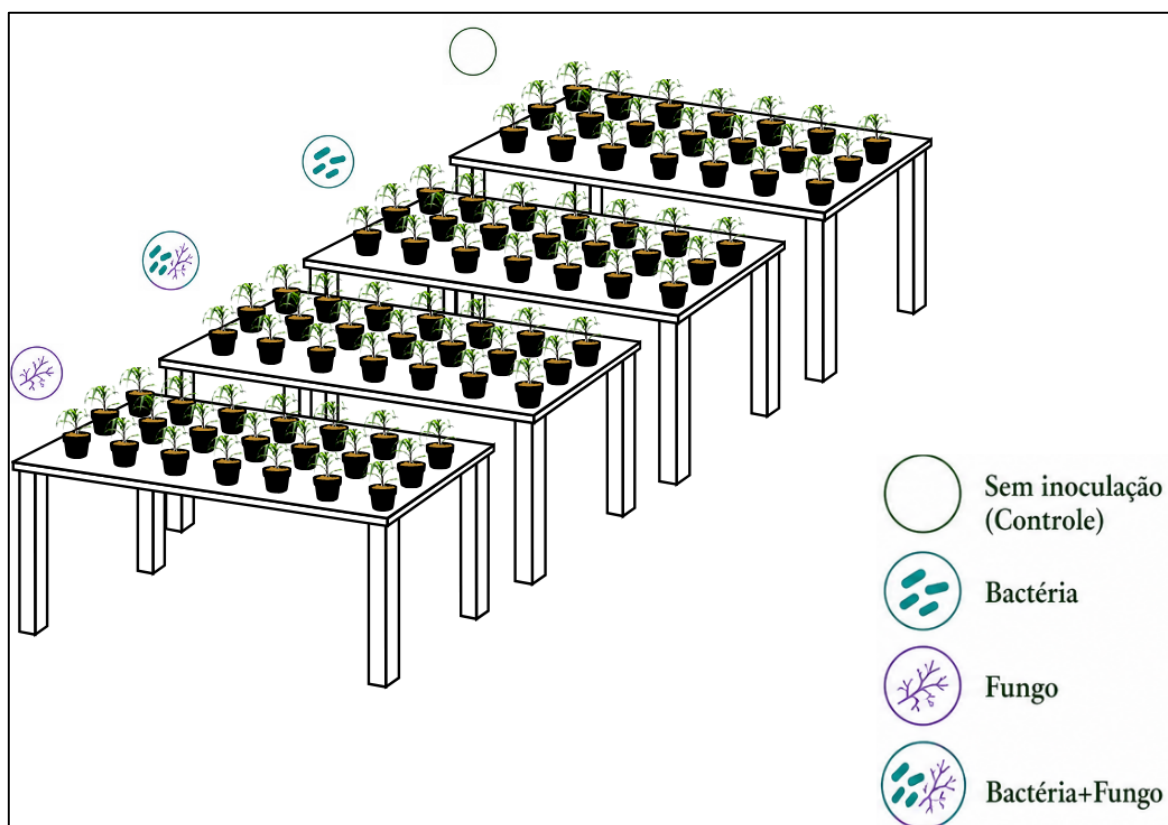


Figura 1. Representação meramente ilustrativa do delineamento experimental. Cada mesa corresponde a uma condição de inoculação (experimento), contendo os três genótipos distribuídos em sete blocos completos casualizados, em que cada vaso contendo uma única planta representava uma repetição biológica.

Para tanto, sementes de cada genótipo foram pré-germinadas em papel *germitest* embebido em água destilada por 8 dias a 25 °C, com umidade relativa de 65%. Posteriormente, as plantas foram transferidas para vasos plásticos com 2,3

dm³, contendo substrato inerte (areia). A inoculação foi feita adicionando 1 g de turfa previamente inoculada e 1 mL da suspensão do respectivo inóculo, diretamente no sistema radicular. Aos cultivos com bactéria e fungo, aplicou-se 1 mL da suspensão bacteriana e fúngica, respectivamente. No consórcio, utilizou-se 1 mL da mistura contendo 25 mL de cada inóculo e, no controle, 1 mL de água destilada autoclavada.

A partir do terceiro dia após o plantio (DAP), foi aplicada solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada para a fonte de nitrato (NO₃⁻) para o fornecimento de N (Tabela 1). Nos dois primeiros dias após o plantio, as plantas receberam a solução a ¼ da força. Posteriormente, a solução foi mantida na concentração de 10% e fornecida diariamente até que as plantas atingissem o estágio vegetativo V5 (cinco folhas totalmente expandidas), o que ocorreu aos 36 DAP.

Tabela 1. Solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), modificada para fonte de nitrato (NO₃⁻), utilizada para a manutenção da baixa disponibilidade de N no cultivo de plantas de milho-pipoca até o estágio V5.

Solução estoque	Concentração (mL L ⁻¹)
	10% de N
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O (2 mol L ⁻¹)	0.4
KNO ₃ (2 mol L ⁻¹)	-
MgSO ₄ (1 mol L ⁻¹)	2
FeEDTA (25 g L ⁻¹)	1
Micro*	1
H ₃ BO ₃ (25 mM)	1
NaNO ₃ (2 mol L ⁻¹)	-
CaCl ₂ (2 mol L ⁻¹)	1.6
KCl (1 mol L ⁻¹)	4
K ₂ HPO ₄ (1 mol L ⁻¹)	1
K ₂ SO ₄ (0, 5 mol L ⁻¹)	1

* Micro: CuSO₄5H₂O = 125 mg L⁻¹; KCl = 3728 mg L⁻¹; MnSO₄H₂O = 845 mg L⁻¹; ZnSO₄7H₂O = 578 mg L⁻¹; (NH₄)₆Mo₇O₂₄4H₂O = 88 mg L⁻¹.

Os valores de temperatura (°C) e umidade relativa (%) foram obtidos por meio de um sensor (ATMOS 14, Meter, Pullman, EUA), enquanto a radiação fotossinteticamente ativa (μmol m⁻² s⁻¹) foi quantificada por meio de um piranômetro,

ambos conectados a um *Data Logger* (modelo ZL6, Meter). Dados das médias dos valores obtidos demonstram que as plantas foram submetidas a uma radiação fotossinteticamente ativa de $548 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a uma temperatura média de $27,3^\circ\text{C}$ e a uma umidade relativa de 74% (Figura 2).

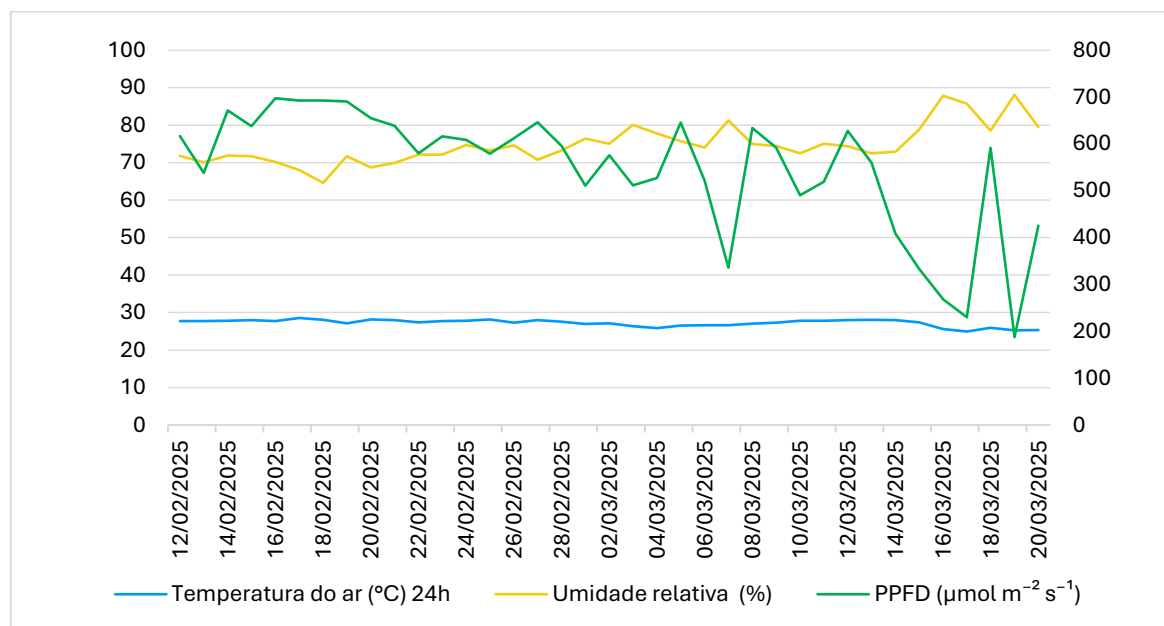


Figura 2. Condições ambientais registradas em experimentos realizados em casa de vegetação com três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *ilacinum* FSC-1, o consórcio entre os dois microrganismos e um controle sem inoculação. PPFD: radiação fotossinteticamente ativa.

4.3.2 Características fisiológicas avaliadas

4.3.2.1 Trocas gasosas foliares

As medidas de trocas gasosas foram mensuradas com o auxílio de um analisador de gás infravermelho (IRGA), modelo LI-6400 (LI-COR, Lincoln, NE, USA), equipado com uma câmara foliar de 6 cm^2 e fonte de luz de 6400-40 LCF (LI-COR). Essa avaliação foi feita um dia antes da colheita, entre 08h30min e 10h30min. As condições ambientais da câmara foliar consistiram em uma densidade de fluxo de fótons fotossintetizantes de $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, na concentração de $420 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , com umidade relativa do ar entre 55 e 60% e temperatura de 33°C . A taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a

condutância estomática (g_s , mmol CO₂ m⁻² s⁻¹), a taxa de transpiração (E , mmol H₂O m⁻² s⁻¹) e a concentração intercelular de CO₂ (C_i , μmol CO₂ mol⁻¹) foram avaliadas na última folha desenvolvida de cada planta em estágio fenológico V5.

4.3.3 Características morfológicas avaliadas

4.3.3.1 Medidas de crescimento

As avaliações do crescimento da parte aérea foram feitas no momento da colheita. A altura da planta (AP, cm) foi determinada com o auxílio de uma fita métrica graduada, adotando como critério a medição da distância entre a superfície do solo e a base da última folha completamente expandida (língua visível). O diâmetro do colmo (DC, mm) foi mensurado na região correspondente ao terço médio do colmo, utilizando um paquímetro digital.

4.3.3.2 Massa seca da parte aérea e da raiz

Folhas e colmos (parte aérea) foram colhidos em estágio V5 e separados da raiz com o auxílio de um estilete. Imediatamente após, as amostras foram acondicionadas separadamente em sacos de papel *kraft* e armazenadas em estufa a 65 °C até a estabilização da massa seca de cinco amostras aleatórias, para determinação da massa seca foliar (MSF, g) e do colmo (MSC, g), que, somadas, compuseram a massa seca da parte aérea (MSPA, g). Juntamente com a massa seca radicular (MSR, g), essas inferências compuseram a estimativa da massa seca total da planta (MST, g).

4.3.4 Quantificação de N nas plantas e cálculo da eficiência de uso do nitrogênio

Após a pesagem para determinação da massa seca, todas as amostras da parte aérea e da raiz foram moídas. Em seguida, no Laboratório de Nutrição Mineral da UENF, o teor de N foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990), tendo sido obtido o conteúdo de N da parte aérea (CNPA: MSPA × teor de N na parte aérea, mg), da raiz (CNR: MSR × teor de N na raiz, mg) e da planta (CNP: soma de CNPA e CNR, mg).

A NUE (g mg⁻¹) foi calculada pela razão entre a MSPA e o N total aplicado, por meio da expressão:

$$NUE = \frac{MSPA}{N \text{ total aplicado}}$$

A eficiência de absorção do N (NUpE, mg mg⁻¹) foi estimada por meio da razão entre o CNP e o N total aplicado, com base na expressão:

$$NUpE = \frac{CNP}{N \text{ total aplicado}}$$

A eficiência de utilização do N (NUtE, g mg⁻¹) foi inferida com base na razão entre a MSPA e o CNPA, por meio da seguinte fórmula:

$$NUtE = \frac{MSPA}{CNPA}$$

A eficiência de translocação de N (NTrE, mg mg⁻¹) foi calculada pela razão entre o CNPA e o CNP, qual seja:

$$NTrE = \frac{CNPA}{CNP}$$

4.4 Avaliação da heterose

Para cada característica, a heterose relativa (H %) foi obtida pela diferença entre o valor médio obtido pelo híbrido (F₁) em relação aos valores médios apresentados por seus genitores (MP), conforme as seguintes expressões:

$MP = \frac{P1+P2}{2}$ e $H\% = \left(\frac{F1-MP}{MP} \right) \times 100$. Nesses casos, P1 e P2 referem-se às médias dos genitores P2 e L80, e F₁ refere-se à média do desempenho do híbrido P2×L80 (Hallauer et al., 2010).

A heterobeltiose relativa (Htb %) foi obtida pela diferença entre o valor médio obtido pelo híbrido (F₁) em relação ao valor médio apresentado pelo genitor superior (PS), conforme a seguinte expressão:

$$Htb\% = \left(\frac{F1-PS}{PS} \right) \times 100.$$

A significância da heterose foi avaliada pelo teste *t* aplicado ao contraste entre a média do híbrido e a média de suas linhagens parentais $[H - (P_1 + P_2)/2]$. A heterobeltiose foi estimada em relação à linhagem parental de maior média para cada característica e condição de inoculação, sendo sua significância avaliada pelo teste *t* aplicado ao contraste entre a média do híbrido e a média dessa linhagem parental. Os testes foram realizados com base no erro residual do modelo de análise de variância (ANOVA), adotando 5% de probabilidade.

4.5 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada no RStudio (R Core Team, 2025). Primeiramente, a normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias foi verificada pelo teste de Hartley.

A ANOVA conjunta dos experimentos foi realizada de acordo com o modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + B/A_{j(i)} + G_k + AG_{ik} + \varepsilon_{ijk}$, em que Y_{ijk} representa o valor observado do k -ésimo genótipo no j -ésimo bloco da i -ésima condição de inoculação; μ é a média geral; A_i é efeito fixo da i -ésima condição de inoculação; $B/A_{j(i)}$ é efeito aleatório do j -ésimo bloco dentro da i -ésima condição de inoculação; G_k é efeito fixo do k -ésimo genótipo; AG_{ik} é efeito fixo da interação entre a i -ésima condição de inoculação e o k -ésimo genótipo; e ε_{ijk} é o erro aleatório associado à observação Y_{ijk} , assumindo distribuição normal $N(0, \sigma^2)$. Posteriormente, as médias foram comparadas pelos testes de Dunnett ($p < 0,05$) e de Tukey ($p < 0,05$) e os gráficos, construídos com o auxílio do *software* Prism GraphPad, incluíram barras de erro representando o erro-padrão da média (SEM). A significância estatística foi indicada por asteriscos (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; e ***, $p < 0,001$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeitos da inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 nas trocas gasosas foliares

A análise de variância evidenciou diferenças genotípicas para todas as variáveis de trocas gasosas avaliadas, com efeito significativo de genótipo sobre a taxa fotossintética líquida (A ; $p < 0,05$), a condutância estomática (g_s ; $p < 0,001$), a transpiração (E ; $p = 0,001$) e a concentração intercelular CO_2 (C_i ; $p < 0,05$) (Tabela 2). Esses resultados demonstram a existência de diferenças fisiológicas intrínsecas entre P2, L80 e seu híbrido P2×L80, independentemente dos tratamentos microbianos. O efeito de microrganismos também foi significativo para A ($p = 0,001$), g_s ($p = 0,001$) e E ($p < 0,001$) (Tabela 2), o que demonstra que a inoculação microbiana provocou alterações sobre essas três variáveis; por outro lado, C_i não foi afetada pelos tratamentos ($p > 0,05$). A interação genótipo × microrganismo ($G \times M$), por outro lado, não foi significativa para nenhuma das quatro características, indicando que não houve evidência estatística de alteração do padrão geral de resposta aos tratamentos entre os genótipos (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da ANOVA conjunta de características de trocas gasosas foliares de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 35 DAP, em casa de vegetação.

Fonte de Variação	GL	A	g_s	E	C_i
Genótipo (G)	2	40,6515*	0,0044***	0,8219**	2235,0366*
Microrganismo (M)	3	57,6696**	0,0034**	0,7452***	179,6249 ^{ns}
G × M	6	12,1543 ^{ns}	0,0010 ^{ns}	0,1834 ^{ns}	978,9787 ^{ns}
Resíduo	66	9,5383	0,0006	0,1131	625,3811

Os valores apresentados correspondem aos quadrados médios. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e ns = não significativo pelo teste F. GL: Graus de liberdade; A: taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s : condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E: taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i : concentração intercelular de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$).

Considerando o efeito dos microrganismos, o teste de Dunnett evidenciou que bactéria e fungo diferiram significativamente do controle para A, g_s e E, enquanto o consórcio diferiu do controle apenas para E (Tabela 3). Como a interação G × M não foi significativa para essas variáveis, esses efeitos correspondem às médias dos tratamentos considerando conjuntamente os três genótipos. Em relação ao controle, a inoculação com bactéria aumentou A em 18,7%, g_s em 24,5% e E em 19,5%, enquanto o fungo promoveu incrementos de 20,2%, 22,4% e 20,6%, respectivamente. O consórcio, por sua vez, resultou em aumento significativo de 13,5% em E, mas os incrementos observados para A (11,8%) e g_s (13,0%) não diferiram estatisticamente do controle. Para C_i , não foi detectado efeito significativo dos tratamentos microbianos (Figura 3, Tabela 3).

Tabela 3. Médias* de variáveis de trocas gasosas foliares de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 35 DAP, em casa de vegetação.

Variável	Genótipo			Condição de inoculação			
	P2×L80	L80	P2	Controle	Bactéria	Fungo	Consórcio
A	19,65 ^a	22,18 ^b	20,63 ^{ab}	18,48	21,94* (+18,7%)	22,21* (+20,2%)	20,65 (+11,8%)
g_s	0,120 ^a	0,146 ^b	0,138 ^b	0,117	0,146* (+24,5%)	0,143* (+22,4%)	0,132 (+13,0%)
E	2,11 ^a	2,47 ^b	2,37 ^b	2,04	2,44* (+19,5%)	2,46* (+20,6%)	2,32* (+13,5%)
C_i	114,9 ^a	128,1 ^{ab}	133,2 ^b	123,8	129,67 (+4,7%)	122,89 (-0,8%)	125,16 (+1,1%)

* As médias apresentadas para genótipos correspondem às médias de dado genótipo em todos os tratamentos microbianos; letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias dos tratamentos microbianos correspondem às médias estimadas considerando conjuntamente os três genótipos. Valores entre parênteses representam a variação percentual em relação ao controle (não inoculado), e o asterisco indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). A ausência de asterisco indica diferença não significativa. Esses efeitos principais foram considerados em razão da ausência de interação significativa genótipo × microrganismo para as quatro variáveis. A: taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s: condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E: taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i: concentração intercelular de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$).

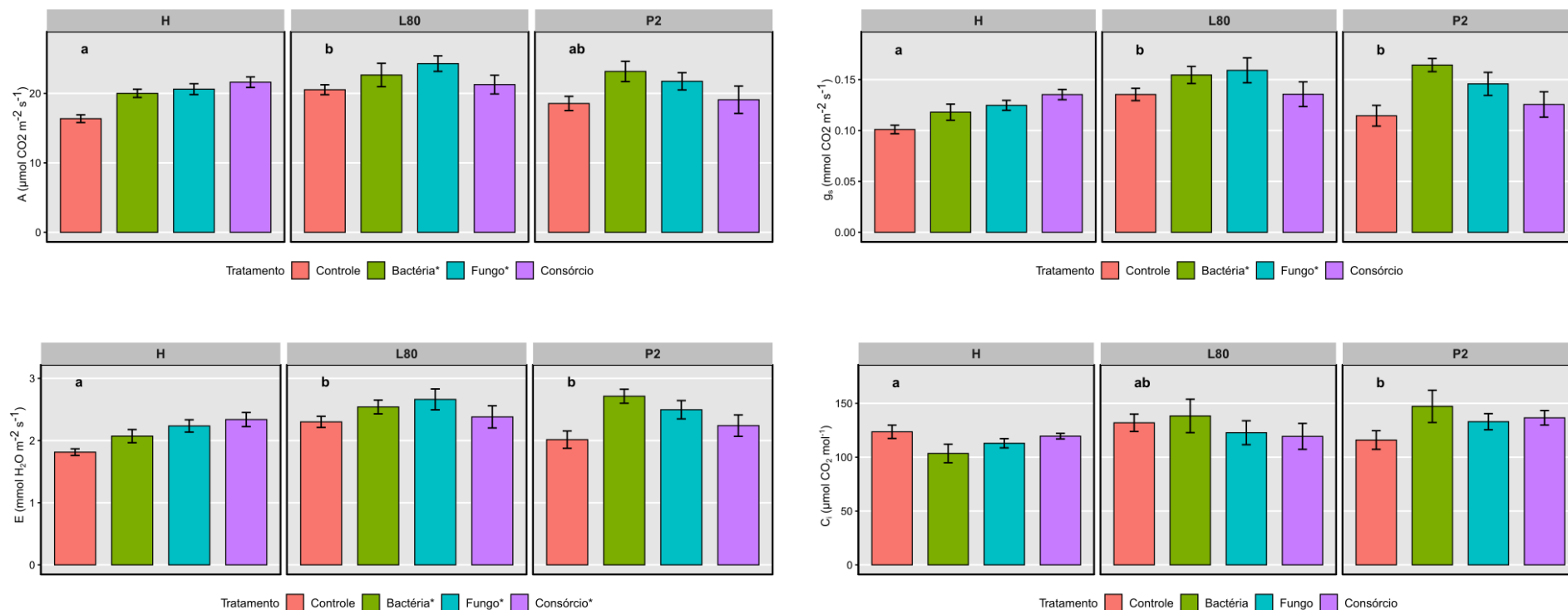


Figura 3. Estimativas de médias de características fisiológicas (A: taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s : condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E: taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i : concentração intercelular de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)) de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre os dois microrganismos e um controle sem inoculação. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre genótipos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Por meio do teste de Tukey (Tabela 3), ficou evidenciado que L80 apresentou A significativamente superior à do híbrido P2×L80, enquanto P2 não diferiu de nenhum desses genótipos. Para g_s e E , tanto P2 quanto L80 apresentaram valores significativamente superiores aos observados no híbrido P2×L80, sem diferença entre os dois parentais. Para C_i , P2 apresentou valor significativamente superior ao híbrido P2×L80, enquanto L80 não diferiu de P2 nem do híbrido (Figura 3, Tabela 3).

O aumento simultâneo de A , g_s e E promovido pelas inoculações individuais com *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, sem alteração significativa em C_i , sustenta a hipótese de que esses microrganismos tenham favorecido a assimilação de carbono por meio de efeitos combinados sobre a regulação estomática e sobre processos relacionados à utilização do CO_2 no mesófilo. O incremento de g_s , acompanhado pelo aumento de E , demonstra maior fluxo de CO_2 e vapor de água pelos estômatos, enquanto os valores inalterados de C_i indicam que essa maior condutância não resultou em acúmulo de CO_2 no espaço intercelular, disponível para ser fixado pela RuBisCO. Em conjunto, esses resultados sugerem haver maior utilização do carbono disponibilizado no interior da folha e indicam que o aumento da taxa fotossintética não esteve associado apenas à maior abertura estomática, mas também a alterações em etapas posteriores da fixação de CO_2 pelo Ciclo de Calvin. Em contraste, o consórcio microbiano aumentou significativamente apenas E , sem efeito significativo sobre A ou g_s , indicando que a coinoculação não reproduziu o mesmo padrão fisiológico observado para os microrganismos aplicados isoladamente. Esse comportamento sugere uma alteração distinta na relação entre assimilação de carbono e perda de água sob coinoculação.

Esses efeitos positivos observados em decorrência dos MPCVs do presente trabalho podem ser atribuídos a diferentes mecanismos de ação dos microrganismos. No caso do gênero *Enterobacter*, destaca-se a produção da enzima ACC desaminase, que reduz os níveis de etileno nas raízes e contribui para tolerar estresses e promover crescimento radicular, além da produção de auxinas, especialmente o ácido indolacético (AIA), que influenciam positivamente a abertura estomática e a atividade fotossintética (Glick, 2014; Nutaratat et al., 2017; Orozco-

mosqueda et al., 2020). Esses efeitos hormonais podem se refletir indiretamente na regulação fisiológica da planta, incluindo ajustes na condutância estomática e na eficiência fotossintética. Outro mecanismo inclui a FBN, amplamente descrita em diferentes grupos de diazotróficos associativos (Döbereiner e Day, 1976; Baldani et al., 1999; Reed et al., 2011; Lin et al., 2012). Adicionalmente, tem-se a produção de sideróforos, que desempenham papel central na competição por ferro na rizosfera, podendo resultar em inibição do crescimento de microrganismos fitopatogênicos e outros competidores microbianos (Ahmed e Holmström, 2014; Davidov et al., 2025). Já a solubilização e a mineralização de fosfatos por microrganismos do solo promovem maior disponibilidade de fósforo na rizosfera, favorecendo a nutrição e o desenvolvimento vegetal (Vessey, 2003; Richardson et al., 2009; Bashan et al., 2014; Villanueva-Gaete et al., 2025). Entrementes, *Purpureocillium lilacinum*, além de seu reconhecido potencial no controle biológico de fitonematoides, tem sido descrito como um microrganismo com atividade bioestimulante, contribuindo para a melhoria da nutrição mineral e do crescimento vegetal por meio de efeitos indiretos sobre a rizosfera (Rigobelo et al., 2024b).

5.2 Efeitos da inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 no crescimento vegetal

A análise de variância evidenciou interação $G \times M$ significativa ($p < 0,001$) para MSF, MSC, MSR, MSPA, MST e AP ($p < 0,01$) (Tabela 4). Dessa forma, para essas características, o efeito da inoculação variou entre P2, L80 e o híbrido P2×L80, sendo necessário avaliar os tratamentos microbianos separadamente dentro de cada genótipo. Para DC, não foram detectados efeito de microrganismo ($p > 0,05$) ou interação $G \times M$ ($p > 0,05$), enquanto o efeito de genótipo foi significativo ($p < 0,001$, Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da ANOVA conjunta de características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.

Fonte de variação	GL	MSF	MSC	MSR	MSPA	MST	AP	DC
Genótipo (G)	2	2,6198***	5,5024***	92,9893***	15,6822***	164,1524***	940,7157***	14,3151***
Microorganismo (M)	3	0,2470*	0,3686*	48,8917***	1,0568**	52,2323***	34,0874**	0,1611 ns
G × M	6	0,7225***	0,5505***	30,1771***	2,3443***	34,3928***	19,6955**	0,3462 ns
Resíduo	69	0,0655	0,1074	0,3838	0,2499	0,6773	5,9485	0,4426

Os valores apresentados correspondem aos quadrados médios. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns = não significativo pelo teste F. GL: Graus de liberdade; MSF: massa seca foliar (g); MSC: massa seca do colmo (g); MSR: massa seca radicular (g); MSPA: massa seca da parte aérea (g); MST: massa seca total (g); AP: altura de planta (cm); DC: diâmetro do colmo (mm).

O desdobramento da interação pelo teste de Dunnett evidenciou respostas contrastantes entre os genótipos (Tabela 5, Figura Suplementar 1). No híbrido P2×L80, o consórcio reduziu significativamente a MSF e a MSPA em 12,7% e 13,5%, respectivamente (Tabela 5). As alterações mais pronunciadas, entretanto, ocorreram no sistema radicular, tendo *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 e o consórcio de ambos reduzido a MSR em 62,5%, 63,2% e 42,1%, respectivamente, em relação ao controle. Essas reduções foram acompanhadas por decréscimos de 41,0%, 43,5% e 33,4% na MST, respectivamente (Tabela 5). Como a redução de MSR foi acompanhada pela redução da biomassa total, o efeito observado no híbrido não correspondeu apenas a uma redistribuição de biomassa entre raízes e parte aérea, mas a uma redução efetiva do acúmulo de matéria seca.

Em L80, as diferenças significativas foram restritas ao consórcio, que aumentou a MSR em 31,3% e a MST em 13,9%, sem alteração significativa de MSF, MSC, MSPA ou AP (Tabela 5). Em P2, por sua vez, foram observadas respostas opostas entre a inoculação bacteriana e a coinoculação. *Enterobacter* sp. S3103 reduziu significativamente MSF, MSC, MSR, MSPA e MST em 12,8%, 18,9%, 38,0%, 15,8% e 26,4%, respectivamente. Em contraste, o consórcio de bactéria e fungo aumentou MSF em 23,7%, MSR em 22,5%, MSPA em 13,7% e MST em 17,9% (Tabela 5). Para AP, tanto o fungo quanto o consórcio promoveram incrementos significativos, de 16,1% e 12,1%, respectivamente (Tabela 5). O aumento de AP promovido pelo fungo ocorreu sem alteração significativa das características de biomassa seca, enquanto, sob coinoculação, o aumento em altura foi acompanhado pelo incremento de biomassa foliar, radicular, da parte aérea e total (Tabela 5).

Tabela 5. Médias das características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.

Variável	Genótipo	Controle	Bactéria	Fungo	Consórcio
MSF	P2×L80	2,93	3,08	2,94	2,55* (-12,7%)
	L80	2,44	2,20	2,47	2,33
	P2	2,77	2,41* (-12,8%)	3,04	3,42* (+23,7%)
MSC	P2×L80	2,74	3,03	2,82	2,35
	L80	1,88	1,80	2,11	1,97
	P2	2,73	2,21* (-18,9%)	3,02	2,83
MSR	P2×L80	12,91	4,84* (-62,5%)	4,75* (-63,2%)	7,47* (-42,1%)
	L80	3,61	3,23	3,66	4,74* (+31,3%)
	P2	5,05	3,13* (-38,0%)	5,27	6,18* (+22,5%)
MSPA	P2×L80	5,66	6,11	5,76	4,90* (-13,5%)
	L80	4,32	3,99	4,58	4,30
	P2	5,49	4,62* (-15,8%)	6,06	6,25* (+13,7%)
MST	P2×L80	18,57	10,95* (-41,0%)	10,50* (-43,5%)	12,38* (-33,4%)
	L80	7,93	7,23	8,24	9,04* (+13,9%)
	P2	10,54	7,75* (-26,4%)	11,34	12,43* (+17,9%)
AP	P2×L80	32,17	32,39	32,97	30,53
	L80	27,57	26,01	28,56	28,80
	P2	36,50	37,07	42,37* (+16,1%)	40,91* (+12,1%)

* Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Valores entre parênteses representam a variação percentual em relação ao controle. Somente diferenças estatisticamente significativas recebem indicação percentual na interpretação textual. MSF: massa seca foliar (g); MSC: massa seca do colmo (g); MSR: massa seca radicular (g); MSPA: massa seca da parte aérea (g); MST: massa seca total (g); AP: altura de planta (cm).

Para DC, em razão da ausência de interação $G \times M$ ($p > 0,05$) e de efeito dos microrganismos ($p > 0,05$) (Tabela 4), as diferenças foram restritas aos genótipos. Pelo teste de Tukey, o híbrido P2×L80 apresentou maior DC (12,68 mm), seguido por L80 (11,93 mm) e P2 (11,21 mm), com diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três genótipos.

Com base nos resultados obtidos para as características de crescimento e de trocas gasosas foliares, pode-se inferir que o aumento da atividade fotossintética instantânea promovido pelos microrganismos não resultou necessariamente em maior acúmulo de biomassa. Embora a bactéria *Enterobacter* sp. S3103 e o fungo *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 tenham aumentado significativamente A , g_s e E quando os genótipos foram considerados conjuntamente, as respostas de crescimento foram altamente dependentes do genótipo e da inoculação microbiana, o que pode ser corroborado pelos valores observados no híbrido P2×L80, no qual o incremento da atividade fotossintética ocorreu concomitantemente com uma expressiva redução da biomassa radicular e total, enquanto em P2 a coinoculação promoveu ganhos de crescimento e, em L80, seus efeitos não foram observados na mesma magnitude.

A desassociação entre o processo de assimilação de CO_2 e o acúmulo de matéria seca observado no híbrido pode estar associada a alterações na utilização e na partição do carbono assimilado. O balanço de carbono da planta depende não apenas da assimilação fotossintética, mas também da respiração, da manutenção metabólica, da alocação de fotoassimilados entre órgãos e da deposição nas raízes (Brauner et al., 2018). Interações com microrganismos da rizosfera podem modificar a alocação de carbono das plantas para as raízes e a rizosfera, de modo que parte do carbono assimilado pode ser direcionado à manutenção dessas interações em detrimento de sua incorporação à biomassa estrutural (Morgan et al., 2005). Em milho, o rastreamento de ^{14}C demonstrou que a inoculação com *Azospirillum brasilense* pode aumentar a alocação de carbono recém-assimilado para as raízes e sua posterior liberação na forma de substratos carbônicos na rizosfera, demonstrando que modificações na fotossíntese podem estar acompanhadas por alterações importantes no destino do carbono assimilado (Housh et al., 2021).

A natureza genótipo-dependente dessas respostas evidencia que a resposta das plantas à baixa disponibilidade de N é consistente com trabalhos

anteriores, em que os efeitos de fungos promotores de crescimento não são uniformes entre combinações planta-microrganismo (Campos et al., 2020; Vaccaro et al., 2024). Em milho, Baron et al. (2020) observaram que a inoculação com diferentes isolados de *Purpureocillium lilacinum* produziu respostas contrastantes, incluindo redução de crescimento e biomassa em algumas combinações planta-microrganismo, atribuída pelos autores à ausência do estabelecimento de uma interação favorável e, potencialmente, à competição por recursos e ao custo energético associado à manutenção dessa interação. No presente trabalho, portanto, a resposta negativa do híbrido P2×L80, o efeito positivo da coinoculação em P2 e a resposta mais limitada de L80 reforçam que o balanço entre os custos e os benefícios da associação com os MCPVs depende da combinação específica entre o genótipo hospedeiro e o microrganismo. Em P2, por outro lado, o consórcio promoveu aumento simultâneo da MSF, MSR, MSPA e MST, além da AP, caracterizando uma resposta de crescimento que envolveu tanto a parte aérea quanto o sistema radicular (Tabela 5). Esse resultado contrasta diretamente com a inoculação isolada de *Enterobacter* sp. S3103, que reduziu MSF, MSC, MSR, MSPA e MST no mesmo genótipo. Assim, o efeito positivo da coinoculação não pode ser atribuído simplesmente à presença da bactéria, mas à resposta resultante da associação entre os dois microrganismos e P2. Consórcios microbianos podem reunir mecanismos distintos, incluindo modulação hormonal e alterações na disponibilidade de nutrientes, mas o resultado da coinoculação depende da compatibilidade entre os microrganismos e da interação estabelecida com a planta hospedeira, podendo resultar em efeitos sinérgicos, neutros ou antagônicos (Santoyo et al., 2021). Essa dependência fica evidente nos presentes resultados, levando em consideração que o mesmo consórcio aumentou a MST em P2 e L80, mas a reduziu no híbrido P2×L80 (Tabela 5).

A inoculação isolada com *P. aff. lilacinum* FSC-1 também alterou o crescimento de P2, mas de forma distinta daquela observada sob coinoculação. O fungo promoveu aumento de 16,1% na AP sem alterar significativamente MSF, MSC, MSR, MSPA ou MST (Tabela 5). Portanto, o aumento em altura não foi acompanhado por maior acúmulo de matéria seca, sugerindo uma resposta relacionada principalmente ao alongamento ou à arquitetura da planta. Isolados de *P. lilacinum* apresentam características promotoras de crescimento, incluindo produção de AIA e solubilização de fósforo (Baron et al., 2020; Villanueva-Gaete et

al., 2025). Assim, a participação de mecanismos relacionados à regulação hormonal constitui uma hipótese para o aumento de AP observado em P2, embora esse mecanismo hormonal não tenha sido avaliado para o isolado FSC-1 neste trabalho. Logo, trabalhos futuros poderão elucidar de que maneira os MCPVs estudados promovem a regulação hormonal em genótipos de milho-pipoca sob baixo N.

Em L80, o efeito significativo do consórcio concentrou-se no sistema radicular, com aumento de 31,3% na MSR, acompanhado por incremento de 13,9% na MST, sem alteração significativa da biomassa da parte aérea (Tabela 5). Esse padrão indica que a resposta inicial à coinoculação nesse genótipo ocorreu predominantemente no compartimento radicular, permitindo inferir uma alteração da exploração do substrato e da capacidade de aquisição de recursos. Os MPCVs podem modificar a arquitetura e o funcionamento do sistema radicular por meio de sinalização hormonal e de alterações na disponibilidade de nutrientes, com consequências para sua aquisição pela planta (Vacheron et al., 2013).

5.3 Efeitos da inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 na eficiência de uso do N

A análise de variância mostrou efeito significativo de genótipo, microrganismo e da interação $G \times M$ para todos os conteúdos de N avaliados, incluindo folha, colmo, raiz, parte aérea e planta inteira (Tabela 6). A interação também foi significativa para NUE, NUpE, NUtE e NTrE, indicando que os efeitos da inoculação sobre o acúmulo e a eficiência de uso de N dependeram do genótipo (Tabela 6). Dessa forma, as comparações entre os tratamentos microbianos foram realizadas dentro de P2, L80 e P2×L80 pelo teste de Dunnett, podendo ser encontradas na Tabela 7, Figura Suplementar 2 e Figura Suplementar 3.

Tabela 6. Resumo da ANOVA conjunta para conteúdo de N e índices de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.

Conteúdos de N						
Fonte de variação	GL	N folha	N colmo	N raiz	N parte aérea	N planta
Genótipo (G)	2	217,158***	59,921*	1797,358***	369,571***	3082,715***
Microrganismo (M)	3	199,934***	282,941***	850,115***	635,443***	948,086***
G × M	6	154,113***	91,192***	748,172***	468,083***	1867,555***
Resíduo	69	18,008	14,433	68,106	44,998	111,747
Eficiência de uso de N						
Fonte de variação	GL	NUE	NUpE	NUtE	NTrE	
G	2	0,001242***	0,244180***	0,001823***	0,063976***	
M	3	0,000084**	0,075097***	0,004947***	0,069766***	
G × M	6	0,000186***	0,147928***	0,000550**	0,015756*	
Resíduo	69	0,000020	0,008851	0,000131	0,005254	

Os valores apresentados correspondem aos quadrados médios. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns = não significativo pelo teste F. GL: Graus de liberdade; N folha: Conteúdo de N foliar (mg); N colmo: Conteúdo de N no colmo (mg); N raiz: Conteúdo de N na raiz (mg); N parte aérea: Conteúdo de N na parte aérea (mg); N planta: Conteúdo de N na planta (mg); NUE: Eficiência de uso de N (g mg^{-1}); NUpE: Eficiência de absorção de N (mg mg^{-1}); NUtE: Eficiência de utilização de N (g mg^{-1}); NTrE: Eficiência de translocação de N (mg mg^{-1}).

No híbrido P2×L80, a bactéria provocou aumento do conteúdo de N da folha em 34,2%, do colmo em 71,5% e da parte aérea em 45,2% em relação ao controle (Tabela 7). Esse maior acúmulo na parte aérea, entretanto, ocorreu simultaneamente à redução de 46,4% no conteúdo radicular de N. Apesar da redução numérica de 10,4% no conteúdo total de N da planta sob inoculação bacteriana, essa diferença não foi significativa (Tabela 7). O fungo reduziu o N radicular em 52,6% e o conteúdo de N total da planta em 32,3%, enquanto o consórcio promoveu reduções de 39,4% e 20,0%, respectivamente (Tabela 7). Assim, fungo e consórcio reduziram a quantidade total de N acumulada pelo híbrido, enquanto a bactéria alterou principalmente a distribuição do nutriente entre raízes e parte aérea.

Em L80, as alterações foram concentradas principalmente nos tratamentos com fungo e consórcio. O conteúdo de N da parte aérea aumentou 33,4% e 38,3%, respectivamente (Tabela 7). Entretanto, para o conteúdo total de N da planta apenas o consórcio promoveu aumento significativo de 27,5%, enquanto o aumento de 19,8% observado sob inoculação com fungo não diferiu do controle (Tabela 7). No colmo, fungo e consórcio promoveram aumentos de 113,2% e 103,7%, respectivamente, sem alteração significativa do conteúdo radicular de N (Tabela 7).

Em P2, o fungo aumentou o conteúdo de N no colmo, na parte aérea e na planta em 106,1%, 32,9% e 33,4%, respectivamente. O consórcio promoveu aumentos de 43,3% no conteúdo de N foliar, 109,3% no N do colmo, 52,8% no N das raízes, 59,7% no N da parte aérea e 56,9% no N da planta inteira (Tabela 7). Nesse genótipo, portanto, a coinoculação aumentou o acúmulo de N em ambos os compartimentos, aéreo e radicular.

Tabela 7. Médias de conteúdo de N e índices de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.

Conteúdo de N					
Variável	Genótipo	Controle	Bactéria	Fungo	Consórcio
N folha	P2×L80	29,46	39,55* (+34,2%)	24,95	29,27
	L80	25,71	29,53	27,68	30,14
	P2	29,52	31,35	32,13	42,31* (+43,3%)
N colmo	P2×L80	12,30	21,09* (+71,5%)	16,39	16,65
	L80	8,27	11,64	17,63* (+113,2%)	16,85* (+103,7%)
	P2	9,72	9,56	20,02* (+106,1%)	20,33* (+109,3%)
N raiz	P2×L80	64,44	34,54* (-46,4%)	30,55* (-52,6%)	39,03* (-39,4%)
	L80	25,92	22,60	26,46	29,40
	P2	27,04	16,68	36,23	41,31* (+52,8%)
N parte aérea	P2×L80	41,76	60,64* (+45,2%)	41,35	45,92
	L80	33,97	41,16	45,31* (+33,4%)	46,99* (+38,3%)
	P2	39,23	40,90	52,15* (+32,9%)	62,65* (+59,7%)
N planta	P2×L80	106,20	95,18 (-10,4%)	71,90* (-32,3%)	84,94* (-20,0%)
	L80	59,89	63,76	71,77 (+19,8%)	76,39* (+27,5%)
	P2	66,27	57,58	88,38* (+33,4%)	103,96* (+56,9%)

Tabela 7 - Cont.

Eficiência de uso de N					
Variável	Genótipo	Controle	Bactéria	Fungo	Consórcio
NUE	P2×L80	0,050	0,054	0,051	0,044* (-13,5%)
	L80	0,038	0,036	0,041	0,038
	P2	0,049	0,041* (-15,8%)	0,054	0,056* (+13,7%)
NUpE	P2×L80	0,945	0,847 (-10,4%)	0,640* (-32,3%)	0,756* (-20,0%)
	L80	0,533	0,567	0,639 (+19,8%)	0,680* (+27,5%)
	P2	0,590	0,513	0,787* (+33,4%)	0,925* (+56,9%)
NUE	P2×L80	0,136	0,102* (-25,4%)	0,140	0,107* (-21,2%)
	L80	0,128	0,100* (-21,8%)	0,102* (-20,4%)	0,093* (-27,6%)
	P2	0,141	0,114* (-18,9%)	0,117* (-17,2%)	0,100* (-29,0%)
NTrE	P2×L80	0,399	0,638* (+59,8%)	0,573* (+43,5%)	0,542* (+35,6%)
	L80	0,584	0,641	0,633	0,619
	P2	0,594	0,726* (+22,2%)	0,590	0,604

* Diferença significativa em relação ao respectivo controle, dentro de cada genótipo, pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Valores entre parênteses representam a variação percentual em relação ao controle. A ausência de asterisco indica ausência de diferença significativa. N folha: Conteúdo de N foliar (mg); N colmo: Conteúdo de N no colmo (mg); N raiz: Conteúdo de N na raiz (mg); N parte aérea: Conteúdo de N na parte aérea (mg); N planta: Conteúdo de N na planta (mg); NUE: Eficiência de uso de N (g mg^{-1}); NUpE: Eficiência de absorção de N (mg mg^{-1}); NUE: Eficiência de utilização de N (g mg^{-1}); NTrE: Eficiência de translocação de N (mg mg^{-1}).

As alterações em NUpE acompanharam as diferenças no conteúdo total de N. No híbrido, fungo e consórcio reduziram NUpE em 32,3% e 20%, respectivamente. Em L80, apenas o consórcio aumentou significativamente essa eficiência, em 27,5%; o aumento de 19,8% sob fungo não diferiu do controle, enquanto em P2 os incrementos foram de 33,4% e 56,9%, respectivamente (Tabela

7). Para NUE, o consórcio reduziu o índice em 13,5% no híbrido, enquanto em P2 a bactéria promoveu redução de 15,8% e o consórcio, aumento de 13,7%. Não houve alteração significativa de NUE em L80 (Tabela 7).

A NUtE foi reduzida pelo fungo e pelo consórcio no híbrido e pelos três tratamentos nos dois parentais. Em P2, por exemplo, o consórcio aumentou NUpE em 56,9% e NUE em 13,7%, mas reduziu NUtE em 29% (Tabela 7). Nesse tratamento, portanto, o aumento na quantidade de N adquirida pela planta foi proporcionalmente superior ao incremento de biomassa aérea. NUpE e NUtE representam componentes distintos da eficiência global de uso de N, relacionados, respectivamente, à capacidade de aquisição do nutriente e à conversão do N adquirido em produção vegetal, e podem variar de maneira independente entre genótipos (Moll et al., 1982; Xu et al., 2012).

Para NTrE, os três tratamentos aumentaram os valores no híbrido, enquanto em P2 apenas a bactéria promoveu alteração significativa (Tabela 7). No híbrido, os aumentos de NTrE ocorreram juntamente com reduções de 39,4 a 52,6% no conteúdo radicular de N. Para fungo e consórcio, a maior proporção de N direcionada à parte aérea não esteve associada a uma maior aquisição do nutriente, uma vez que o conteúdo total de N e de NUpE foi reduzido sob esses tratamentos. Para a bactéria, apesar da redução do N radicular e do aumento de NTrE, o conteúdo total de N e de NUpE não diferiu significativamente do controle (Tabela 7).

Em P2, a resposta ao consórcio esteve diretamente relacionada ao crescimento e ao status nutricional: a coinoculação aumentou o conteúdo total de N e NUpE em 56,9% e NUE em 13,7% (Tabela 7), juntamente com os aumentos observados em MSF, MSR, MSPA e MST (Tabela 5). O aumento de 52,8% no conteúdo radicular de N (Tabela 7) também acompanhou o incremento de 22,5% na MSR (Tabela 5), sugerindo que o maior desenvolvimento do sistema radicular tenha contribuído para a aquisição de N sob baixa disponibilidade do nutriente. Alterações na arquitetura e no desenvolvimento radicular estão entre os mecanismos pelos quais microrganismos associados às raízes podem ampliar a exploração do substrato e modificar a aquisição de nutrientes (Vacheron et al., 2013; Pradhan et al., 2025). MPCVs como *Enterobacter* e *Purpureocillium*, modulam a emissão de raízes laterais e pelos radiculares via síntese de auxinas (AIA) e redução de etileno (ACC desaminase) (Orozco-Mosqueda et al., 2020;

Rigobelo et al., 2024a). Nesse caso, o maior crescimento sob consórcio esteve associado principalmente ao aumento da aquisição de N, tendo em vista que essa condição não promoveu aumento significativo de *A* no efeito geral dos tratamentos. Por consequência, o ganho de biomassa observado em P2 não pode ser atribuído simplesmente a um aumento da taxa fotossintética.

Em L80, o consórcio aumentou NUpE e o conteúdo total de N, enquanto os aumentos numéricos de 19,8% observados para ambas as variáveis sob fungo não foram significativos e nenhum dos dois tratamentos promoveu aumento significativo de MSPA ou NUE (Tabela 5 e Tabela 7). Na condição de inoculação com consórcio, o incremento de 27,5% no conteúdo total de N (Tabela 7) ocorreu juntamente com aumentos de 31,3% na MSR e de 13,9% na MST (Tabela 5), enquanto o conteúdo de N da parte aérea aumentou 38,3% (Tabela 7). O N adicional adquirido, portanto, não resultou em aumento proporcional da biomassa da parte aérea, o que é compatível com a redução de NUtE nesse tratamento. Para fungo, os aumentos numéricos de NUpE e do conteúdo total de N não diferiram do controle e não foram acompanhados por incremento significativo de biomassa, embora essa condição tenha aumentado *A* quando os genótipos foram considerados conjuntamente. Como não houve interação $G \times M$ para *A*, esse efeito fotossintético não pode ser atribuído especificamente a L80, mas mostra que maior assimilação de carbono no conjunto dos genótipos não implicou, necessariamente, maior produção de biomassa em cada genótipo.

No híbrido, fungo e consórcio reduziram NUpE e o conteúdo total de N (Tabela 7), acompanhando as reduções observadas em MSR e MST (Tabela 5). A bactéria também reduziu MSR e MST, mas não promoveu redução significativa de NUpE ou do conteúdo total de N. Importante destacar que a bactéria aumentou em 45,2% o conteúdo de N da parte aérea, mas reduziu em 46,4% o conteúdo de N radicular e não alterou significativamente o conteúdo total de N da planta, apesar da redução numérica de 10,4% (Tabela 7), indicando que, nessa condição, *Enterobacter* sp. S3103 alterou a distribuição do N acumulado entre a parte aérea e as raízes, sem alteração significativa da aquisição global do nutriente. Esse resultado também deve ser considerado em conjunto com as trocas gasosas, haja vista bactéria e fungo aumentaram *A* no efeito geral dos tratamentos, enquanto, no híbrido, fungo e consórcio reduziram a aquisição de N, e os três tratamentos reduziram o acúmulo de biomassa radicular e total sob inoculação. Novamente,

como a interação $G \times M$ não foi significativa para A , não é possível atribuir esse aumento fotossintético especificamente ao híbrido, ainda assim, a análise conjunta das variáveis mostra que o efeito positivo dos microrganismos sobre a assimilação instantânea de CO_2 não foi acompanhado por um aumento generalizado da aquisição de N ou da biomassa.

Considerando que a eficiência de uso de N resulta da integração entre absorção, translocação, assimilação e utilização do nutriente, alterações positivas em apenas um desses componentes não implicam necessariamente maior eficiência global ou maior produção de biomassa (Roell e Zurbruggen, 2020; Leal Junior et al., 2025). Da mesma forma, os resultados mostram que maior taxa fotossintética instantânea não necessariamente se traduz em maior acúmulo de matéria seca, considerando que o crescimento depende também da aquisição e utilização de nutrientes, da respiração e da partição do carbono assimilado. Essa relação fica particularmente evidente no contraste entre P2 e o híbrido: em P2, o maior crescimento sob consórcio coincidiu com maior aquisição de N, mesmo sem aumento significativo de A ; no híbrido, por outro lado, as reduções de NUpE sob o fungo e consórcio e de biomassa sob os tratamentos microbianos ocorreram em um experimento no qual as inoculações individuais promoveram aumento geral de A .

5.4 Expressão da heterose e indícios de transgressividade gênica sob inoculação microbiana e estresse por baixo N

A exploração da heterose constitui uma estratégia central para obtenção de híbridos superiores em milho. Entretanto, sua magnitude e direção variam entre caracteres e condições ambientais, tornando importante identificar quais atributos efetivamente expressam vantagem do híbrido sob baixa disponibilidade de N. Em milho-pipoca, essa informação pode auxiliar tanto na escolha de combinações parentais quanto na definição de caracteres com maior potencial de exploração em programas de melhoramento voltados à eficiência no uso de nutrientes (Santos et al., 2019; Santos et al., 2023a). Nesse contexto, avaliar a heterose sob diferentes inoculações também permite determinar se a associação com MPCVs modifica os caracteres nos quais a superioridade híbrida se manifesta.

Para as trocas gasosas, não foram observadas heterose ($H\%$) ou heterobeltiose ($Htb\%$) positivas e significativas em nenhuma das condições avaliadas (Tabela 8). No controle, o híbrido apresentou $H\%$ negativa para A (-

16,3%), g_s (-19,1%) e E (-15,9%), acompanhada de Htb% também negativa e significativa (-20,3%, -25,4% e -21,2%) (Tabela 8). Sob inoculação bacteriana, a resposta negativa foi mais evidente: A , g_s , C_i e E apresentaram H% de -12,6%, -26,0%, -27,5% e -21,1%, respectivamente, acompanhada de Htb% também negativa e significativa para g_s , C_i e E (-28,2%, -29,7% e -23,7%) (Tabela 8). Sob inoculação fúngica, somente g_s e E apresentaram H% e Htb% negativas e significativas (H% de -18,2% e -13,3% e Htb% de -21,6% e -16,0%, respectivamente). Enquanto em A , somente a Htb% foi negativa e significativa (-15,1%) (Tabela 8), com a coinoculação, por outro lado, nenhum dos quatro caracteres de trocas gasosas apresentou H% e/ou Htb% significativas (Tabela 8). Assim, embora as inoculações tenham modificado as trocas gasosas dos genótipos individualmente, esses caracteres não apresentaram, nas condições avaliadas, evidência de vantagem heterótica positiva que justificasse sua priorização direta para exploração do vigor híbrido.

Tabela 8. Médias dos parentais P2 e L80 e do híbrido P2×L80, estimativas de heterose (H%) e heterobeltiose (Htb%) e respectivas significâncias para as características avaliadas em experimentos com genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 (bactéria), *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 (fungo), o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação que foram avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação.

Condição	Característica	P2	L80	H	H (%)	Sig. H	Htb (%)	Sig. Htb
Controle	A	18,543	20,525	16,360	-16,3	*	-20,3	*
	g_s	0,115	0,135	0,101	-19,1	*	-25,4	*
	C_i	115,951	131,942	123,592	-0,3	ns	-6,3	ns
	E	2,015	2,300	1,814	-15,9	*	-21,2	*
	MSF	2,765	2,439	2,926	12,5	*	5,8	ns
	MSC	2,727	1,885	2,737	18,7	**	0,3	ns
	MSR	5,046	3,611	12,911	198,3	***	155,9	***
	MSPA	5,493	4,324	5,663	15,4	**	3,1	ns
	MST	10,539	7,934	18,574	101,1	***	76,2	***
	AP	36,500	27,571	32,167	0,4	ns	-11,9	**
	DC	11,109	11,681	12,982	13,9	***	11,1	***
	N folha	29,518	25,706	29,461	6,7	ns	-0,2	ns
	N colmo	9,715	8,269	12,302	36,8	ns	26,6	ns
	N raiz	27,039	25,918	64,436	143,3	***	138,3	***
	N parte aérea	39,233	33,975	41,763	14,1	ns	6,4	ns
	N planta	66,273	59,893	106,198	68,3	***	60,2	***
	NUE	0,049	0,038	0,050	15,4	**	3,1	ns
	NUpE	0,590	0,533	0,945	68,3	***	60,2	***
	NUtE	0,141	0,128	0,136	1,3	ns	-3,3	ns
	NTrE	0,594	0,584	0,399	-32,2	***	-32,8	***

Tabela 8. Cont.

Condição	Característica	P2	L80	H	H (%)	Sig. H	Htb (%)	Sig. Htb
Bactéria	A	23,156	22,645	20,006	-12,6	*	-13,6	ns
	g_s	0,164	0,155	0,118	-26,0	***	-28,2	***
	C_i	147,203	138,323	103,496	-27,5	**	-29,7	**
	E	2,713	2,540	2,071	-21,1	***	-23,7	***
	MSF	2,410	2,198	3,085	33,9	***	28,0	***
	MSC	2,213	1,797	3,030	51,1	***	36,9	***
	MSR	3,131	3,231	4,837	52,0	***	49,7	***
	MSPA	4,623	3,995	6,115	41,9	***	32,3	***
	MST	7,754	7,226	10,952	46,2	***	41,2	***
	AP	37,071	26,014	32,386	2,7	ns	-12,6	***
	DC	11,213	11,834	12,706	10,3	***	7,4	*
	N folha	31,346	29,526	39,548	29,9	***	26,2	***
	N colmo	9,557	11,637	21,095	99,1	***	81,3	***
	N raiz	16,681	22,595	34,537	75,9	***	52,9	**
	N parte aérea	40,903	41,163	60,642	47,8	***	47,3	***
	N planta	57,585	63,758	95,179	56,9	***	49,3	***
	NUE	0,041	0,036	0,054	41,9	***	32,3	***
	NUpE	0,513	0,567	0,847	56,9	***	49,3	***
	NUtE	0,114	0,100	0,102	-5,2	ns	-11,1	*
	NTrE	0,726	0,641	0,638	-6,6	ns	-12,0	*

Tabela 8. Cont.

Condição	Característica	P2	L80	H	H (%)	Sig. H	Htb (%)	Sig. Htb
Fungo	A	21,740	24,282	20,607	-10,4	ns	-15,1	*
	g_s	0,146	0,159	0,125	-18,2	*	-21,6	*
	C_i	132,983	122,741	112,946	-11,7	ns	-15,1	ns
	E	2,496	2,662	2,235	-13,3	*	-16,0	*
	MSF	3,043	2,472	2,937	6,5	ns	-3,5	ns
	MSC	3,022	2,107	2,818	9,9	ns	-6,7	ns
	MSR	5,271	3,663	4,748	6,3	ns	-9,9	ns
	MSPA	6,065	4,579	5,756	8,1	ns	-5,1	ns
	MST	11,336	8,242	10,503	7,3	ns	-7,3	ns
	AP	42,371	28,557	32,967	-7,0	*	-22,2	***
	DC	11,441	12,111	12,637	7,3	**	4,3	ns
	N folha	32,127	27,675	24,953	-16,5	*	-22,3	**
	N colmo	20,020	17,633	16,394	-12,9	ns	-18,1	ns
	N raiz	36,230	26,462	30,554	-2,5	ns	-15,7	ns
	N parte aérea	52,147	45,308	41,346	-15,1	*	-20,7	**
	N planta	88,377	71,770	71,901	-10,2	ns	-18,6	**
	NUE	0,054	0,041	0,051	8,1	ns	-5,1	ns
	NUpE	0,787	0,639	0,640	-10,2	ns	-18,6	**
	NUtE	0,117	0,102	0,140	27,9	***	19,8	***
	NTrE	0,590	0,633	0,573	-6,3	ns	-9,4	ns

Tabela 8. Cont.

Condição	Característica	P2	L80	H	H (%)	Sig. H	Htb (%)	Sig. Htb
Consórcio	A	19,085	21,262	21,608	7,1	ns	1,6	ns
	g_s	0,126	0,136	0,135	3,6	ns	-0,2	ns
	C_i	136,567	119,352	119,560	-6,6	ns	-12,5	ns
	E	2,240	2,380	2,338	1,2	ns	-1,8	ns
	MSF	3,420	2,328	2,553	-11,2	*	-25,4	***
	MSC	2,825	1,968	2,347	-2,1	ns	-16,9	*
	MSR	6,180	4,740	7,475	36,9	***	20,9	***
	MSPA	6,246	4,296	4,901	-7,0	ns	-21,5	***
	MST	12,426	9,036	12,375	15,3	***	-0,4	ns
	AP	40,914	28,800	30,533	-12,4	***	-25,4	***
	DC	11,059	12,096	12,392	7,0	*	2,4	ns
	N folha	42,312	30,141	29,271	-19,2	**	-30,8	***
	N colmo	20,334	16,847	16,647	-10,5	ns	-18,1	ns
	N raiz	41,310	29,400	39,025	10,4	ns	-5,5	ns
	N parte aérea	62,645	46,987	45,918	-16,2	**	-26,7	***
	N planta	103,955	76,387	84,944	-5,8	ns	-18,3	**
	NUE	0,056	0,038	0,044	-7,0	ns	-21,5	***
	NUpE	0,925	0,680	0,756	-5,8	ns	-18,3	**
	NUtE	0,100	0,093	0,107	11,4	ns	7,3	ns
	NTrE	0,604	0,619	0,542	-11,5	ns	-12,5	ns

H (%) = heterose calculada em relação à média dos parentais. A significância de H% foi avaliada pelo teste *t* aplicado ao contraste entre a média do híbrido e a média dos parentais $[H - (P2 + L80)/2]$. Htb (%) = heterobeltiose calculada em relação ao parental de maior média para cada característica e condição de inoculação. A significância de Htb% foi avaliada pelo teste *t* aplicado ao contraste entre a média do híbrido e a média desse parental. Os testes foram realizados com base no erro residual do modelo de análise de variância, adotando-se 5% de probabilidade. *, ** e *** indicam significância a $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente; ns = não significativo. H: híbrido P2×L80; A: taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s : condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E: taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i : concentração intercelular de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$); MSF: massa seca foliar (g); MSC: massa seca do colmo (g); MSR: massa seca radicular (g); MSPA: massa seca da parte aérea (g); MST: massa seca total (g); AP: altura de planta (cm); DC: diâmetro do colmo (mm); N folha: Conteúdo de N foliar (mg); N colmo: Conteúdo de N no colmo (mg); N raiz: Conteúdo de N na raiz (mg); N parte aérea: Conteúdo de N na parte aérea (mg); N planta: Conteúdo de N na planta (mg); NUE: Eficiência de uso de N (g mg^{-1}); NUpE: Eficiência de absorção de N (mg mg^{-1}); NUtE: Eficiência de utilização de N (g mg^{-1}); NTrE: Eficiência de translocação de N (mg mg^{-1}).

O padrão foi diferente para os caracteres de crescimento. Na ausência de inoculação, MSF, MSC, MSR, MSPA, MST e DC apresentaram H% positiva e significativa. Entretanto, apenas MSR, MST e DC também apresentaram Htb% positiva e significativa, com valores de 155,9%, 76,2% e 11,1%, respectivamente. A MSR destacou-se particularmente, com H% de 198,3% (Tabela 8), demonstrando que a superioridade do híbrido sob baixo N esteve fortemente associada ao desenvolvimento do sistema radicular. A MST apresentou comportamento semelhante, com H% de 101,1% (Tabela 8), indicando que essa vantagem radicular foi acompanhada por superioridade no acúmulo total de biomassa. Isto nos permite inferir que, sob baixo N e na ausência de inoculação, o híbrido intensificou o investimento no sistema radicular como possível estratégia adaptativa para ampliar a exploração do substrato e compensar a limitação nutricional (Lynch, 2013). Em contraste, a AP não apresentou H% significativa e exibiu Htb% negativa (-11,9%) (Tabela 8), evidenciando que maior altura não constituiu componente da superioridade híbrida nessa condição.

A inoculação com *Enterobacter* sp. S3103 foi a condição que revelou o conjunto mais amplo de caracteres com H% e Htb% positivas e significativas. MSF, MSC, MSR, MSPA e MST apresentaram H% de 33,9%, 51,1%, 52,0%, 41,9% e 46,2%, respectivamente, acompanhadas por Htb% de 28,0%, 36,9%, 49,7%, 32,3% e 41,2%. O DC também manteve vantagem significativa, com H% de 10,3% e Htb% de 7,4% (Tabela 8). Portanto, diferentemente do controle, em que a expressão mais pronunciada do vigor híbrido esteve concentrada principalmente na raiz e na biomassa total, a inoculação bacteriana ampliou essa vantagem para diferentes componentes da biomassa aérea e radicular. Para o melhoramento, esse resultado indica que caracteres relacionados ao acúmulo de matéria seca apresentam elevado potencial para exploração da superioridade híbrida na presença da bactéria. Esse padrão é coerente com a hipótese de que a presença do microrganismo pode ter reduzido a pressão por exploração radicular sob baixo nível de N, permitindo que o híbrido direcionasse mais recursos para crescimento estrutural e acúmulo de matéria seca acima do solo (Yáñez et al., 2023; Menge et al., 2024; Perkowski et al., 2024; Galindo et al., 2025).

A inoculação isolada com *P. aff. lilacinum* FSC-1 produziu um padrão mais restrito. Nenhum componente de biomassa apresentou H% significativa, enquanto DC manteve H% positiva (7,3%). A AP apresentou H% e Htb% negativa (-7,0% e -

22,2%, respectivamente) (Tabela 8). Dessa forma, entre os caracteres morfológicos avaliados, o DC foi o único a manter vantagem híbrida estatisticamente sustentada sob inoculação fúngica.

Sob coinoculação, a resposta também foi específica para determinadas características. A MSR apresentou H% de 36,9% e Htb% de 20,9%, ambas significativas, enquanto a MST apresentou H% positiva de 15,3%, não tendo superado significativamente P2 (genitor superior desta característica). O DC novamente apresentou H% positiva (7,0%). Em contraste, a MSF apresentou H% (-11,2%) e Htb% (-25,4%) negativas, e a AP também foi inferior tanto à média parental (-12,4%) quanto a P2 (-25,4%). Para MSC e MSPA, a H% não foi significativa, embora o híbrido tenha apresentado valores significativamente inferiores a P2 (Tabela 8). Assim, a coinoculação preservou vantagem híbrida principalmente para o desenvolvimento radicular e para o diâmetro do colmo, mas não promoveu uma superioridade generalizada para o crescimento da parte aérea.

As estimativas de H% e Htb% para o conteúdo de N variaram acentuadamente em função da condição de inoculação e do tecido avaliado. No controle, o híbrido apresentou H% e Htb% significativas apenas para o conteúdo de N na raiz (143,3% e 138,3%, respectivamente) e na planta inteira (68,3% e 60,2%) (Tabela 8). Esses resultados indicam que, na ausência de inoculação, o vigor híbrido se expressa principalmente na aquisição de N pelo sistema radicular, sem reflexo significativo na partição do nutriente para a parte aérea. Sob inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, a H% e Htb% foram significativas em todos os tecidos avaliados, com destaque para o colmo (99,1% e 81,3%), raiz (75,9% e 52,9%), planta inteira (56,9% e 49,3%), parte aérea (47,8% e 47,3%) e folha (29,9% e 26,2%) (Tabela 8). A inoculação bacteriana promoveu, portanto, a expressão do vigor híbrido também na partição e translocação de N para a parte aérea, sugerindo que o híbrido responde à interação com a bactéria promotora de crescimento de forma superior à dos parentais. Em contraste, a inoculação com *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 resultou em estimativas negativas de H% e Htb%, indicando menor acúmulo de N no híbrido em relação aos parentais. Essa inferioridade foi significativa para a folha (-16,5% e -22,3%) e para a parte aérea (-15,1% e -20,7%), além da Htb% negativa na planta inteira (-18,6%). Sob coinoculação, o padrão foi semelhante ao do fungo isolado, com H% e Htb% negativas e significativas na folha (-19,2% e -30,8%) e na parte aérea (-16,2% e -26,7%), bem como Htb% negativa

na planta inteira (-18,3%) (Tabela 8). Esses resultados evidenciam que a presença do fungo, isoladamente ou em consórcio, suprime a heterose do híbrido para o acúmulo de N, denotando transgressividade gênica negativa.

Entre os componentes da eficiência de uso do N, também foram observadas respostas contrastantes entre inoculações. No controle, NUE e NUpE apresentaram H% positiva de 15,4% e 68,3%, respectivamente, mas somente NUpE também apresentou Htb% positiva e significativa de 60,2% (Tabela 8). A elevada vantagem híbrida para NUpE, juntamente com a forte H% observada para MSR, indica que a aquisição de N constitui um componente particularmente relevante da superioridade do híbrido sob baixo N na ausência de inoculação. Em contrapartida, NTrE apresentou H% (-32,2%) e Htb% (-32,8%) negativas e significativas (Tabela 8). Também, para essa circunstância, aventa-se transgressividade gênica negativa.

A inoculação bacteriana modificou esse padrão e promoveu H% e Htb% positivas tanto para NUE quanto para NUpE. A NUE apresentou H% de 41,9% e Htb% de 32,3%, enquanto NUpE apresentou valores de 56,9% e 49,3%, respectivamente. NUtE e NTrE, por outro lado, não apresentaram diferenças significativas para H%, enquanto para Htb%, ambas apresentaram valores negativos significativos de -11,1% e -12,0%, respectivamente (Tabela 8). Assim, o efeito favorável da bactéria sobre a expressão do vigor híbrido esteve associado principalmente à aquisição de N e à eficiência global de uso do nutriente, além do amplo conjunto de caracteres de biomassa favorecidos nessa condição.

Com *P. aff. lilacinum* FSC-1, a resposta deslocou-se da aquisição para a utilização do N. A NUpE apresentou Htb% (-18,6%) negativa, enquanto NUtE apresentou H% de 27,9% e Htb% de 19,8%, ambas significativas (Tabela 8). Esse contraste demonstra que diferentes componentes da NUE podem apresentar bases heteróticas distintas e responder de maneira oposta à inoculação microbiana. Nesse caso, o fungo não favoreceu a vantagem híbrida para aquisição de N, mas revelou superioridade do híbrido na utilização do nutriente absorvido.

Na coinoculação, nenhum dos componentes da eficiência de uso do N tiveram H% significativa. NUE e NUpE apresentaram Htb% negativas e significativas de -21,5% e -18,3%, respectivamente (Tabela 8).

A heterose, ou vigor híbrido, caracteriza-se, fundamentalmente, pela vantagem adaptativa da progênie em relação a seus genitores, que pode ser

quantificada por crescimento mais rápido, maior biomassa, maior fertilidade floral e, conseqüentemente, maiores rendimentos (Birchler et al., 2010; Hallauer et al., 2010). Geneticamente, o fenômeno é explicado por modelos clássicos que incluem a hipótese da dominância, relativa ao mascaramento de alelos recessivos deletérios; a sobredominância, que propõe o desempenho superior de loci heterozigotos (Moll et al., 1964); e a epistasia, referente às interações favoráveis entre loci (Melchinger et al., 2007).

Contudo, revisões recentes propõem que a heterose também deve ser compreendida sob uma perspectiva integrada, na qual o vigor híbrido não resulta apenas da constituição genética intrínseca da planta, mas também das interações entre o genótipo e a microbiota associada, contribuindo para uma visão ampliada do fenômeno sob a ótica do holobionte (Wagner et al., 2021; Hochholdinger e Yu, 2025).

Compreender como a heterose se manifesta sob condições de limitação de N e como a associação com microrganismos benéficos modula essa resposta constitui um campo de investigação promissor e ainda raramente explorado na literatura. Contribuições nesse sentido podem ser inferidas, por analogia, a partir do trabalho de Simão (2025), que investigou o potencial de um painel de bactérias candidatas à solubilização de fosfato e suas interações funcionais com genótipos de milho-pipoca. Nesse estudo observou-se que os efeitos de capacidade específica de combinação associados aos componentes genéticos de dominância e epistasia, foram predominantes para a massa seca foliar e variáveis fisiológicas, denotando que a exploração da heterose para eficiência no uso de nutrientes pode ser potencializada pela interação com MPCVs.

Considerados em conjunto, os resultados do presente trabalho permitem identificar características com diferentes níveis de interesse para a exploração do vigor híbrido sob baixa disponibilidade de N. O DC foi a característica mais consistente, apresentando heterose positiva em todas as condições (Tabela 8), o que indica estabilidade da vantagem híbrida para essa característica, independentemente da inoculação. Essa resposta evidencia que, mesmo na ausência de incrementos expressivos em altura, o cruzamento avaliado manteve vantagem estrutural associada ao maior espessamento do colmo, possivelmente refletindo uma estratégia de crescimento com maior direcionamento de recursos

para sustentação mecânica da parte aérea, em detrimento do alongamento longitudinal.

A MSR também se destacou, com superioridade sobre a média dos pais e sobre o genitor superior no controle, na inoculação bacteriana e na coinoculação (Tabela 8), revelando elevado potencial para exploração da arquitetura de crescimento associada à aquisição de recursos sob deficiência de N. A MST apresentou forte vantagem híbrida no controle e com a bactéria, enquanto os demais componentes de biomassa mostraram resposta particularmente favorável à inoculação bacteriana (Tabela 8).

Entre os caracteres relacionados ao N, N raiz, N planta e NUpE mostraram maior potencial de exploração no controle e sob inoculação bacteriana, enquanto NUtE emergiu como característica de maior interesse sob inoculação fúngica. Esses padrões indicam que a superioridade híbrida para eficiência de uso do N não decorre necessariamente dos mesmos processos fisiológicos em todas as condições, levando em consideração que determinadas combinações favorecem predominantemente a aquisição do nutriente, enquanto outras favorecem sua utilização. Para o programa de melhoramento, essa distinção é relevante porque permite direcionar a seleção de parentais e híbridos não apenas para a NUE final, mas também para os componentes fisiológicos responsáveis por sua expressão.

De modo geral, a inoculação bacteriana foi a condição que expôs o maior número de caracteres com H% e Htb% positivas, sobretudo para biomassa, conteúdos de N, NUE e NUpE. A inoculação fúngica apresentou efeito mais específico, destacando NUtE, enquanto a coinoculação preservou vantagens principalmente para MSR e DC (Tabela 8). Assim, a resposta heterótica não deve ser tratada como propriedade única do híbrido, mas como característica dependente do caráter e da condição biológica em que o genótipo é avaliado. A identificação de MSR, DC, MST, NUpE e NUtE como caracteres que expressam vantagens híbridas em diferentes contextos fornece alvos mais definidos para orientar a seleção e a formação de combinações parentais destinadas ao desenvolvimento de híbridos de milho-pipoca mais eficientes sob baixa disponibilidade de N.

A ocorrência de um híbrido (F_1) muito superior ou muito inferior aos dois genitores constitui uma pista relevante de forte não aditividade genética e pode levantar a hipótese de participação de epistasia na expressão dos caracteres

(Rieseberg et al., 1999; Mackay et al., 2021). No presente trabalho, os resultados forneceram indícios nesse sentido, especialmente pela ocorrência de transgressões pronunciadas e pela mudança da magnitude ou da direção da heterose entre as condições de inoculação.

A arquitetura genética que propicia a transgressão é comum em populações cultivadas (Rieseberg et al., 2003). Em relação à transgressão positiva (F_1 superior aos dois parentais), no controle os casos mais evidentes foram observados para MSR, MST, N raiz, N planta e NUpE. Sob inoculação bacteriana, o padrão se ampliou, com o F_1 superando os dois parentais para MSF, MSC, MSR, MSPA, MST, DC, N folha, N colmo, N raiz, N parte aérea, N planta, NUE e NUpE. Sob inoculação fúngica, o caso positivo mais consistente foi NUtE, enquanto no consórcio MSR permaneceu como um caso claro de superioridade transgressiva (Tabela 8).

Houve também situações em que o F_1 ficou abaixo de ambos os genitores, caracterizando transgressão negativa. No controle, A, g_s , E e NTrE apresentaram F_1 abaixo dos dois parentais, sendo NTrE o exemplo mais expressivo. Sob inoculação bacteriana, a depressão híbrida para caracteres de trocas gasosas foi mais evidente, com o F_1 abaixo dos dois parentais para A, g_s , C_i e E. Sob inoculação fúngica isto ocorreu para A, g_s , E, N folha e N parte aérea. No consórcio, N folha e N parte aérea foram os principais exemplos, enquanto várias outras características apresentaram heterobeltiose negativa sem, contudo, ficarem abaixo dos dois parentais (Tabela 8).

Um aspecto que se deve destacar ocorreu sob a inoculação bacteriana: o mesmo ambiente em que ocorreu forte superioridade do F_1 para biomassa, conteúdos de N e NUpE também produziu inferioridade transgressiva para vários componentes das trocas gasosas. Essa oposição entre conjuntos de caracteres é uma pista de que a epistasia possa influenciar a expressão fenotípica, o que, se confirmado, requereria maior acuidade no procedimento seletivo para identificação de indivíduos de interesse para o melhoramento aplicado (Perkins e Jinks, 1970; Melchinger et al., 2007; Labroo et al., 2021).

A pista de epistasia ganha força porque o mesmo cruzamento muda de magnitude e, em alguns caracteres, de direção conforme a condição microbiana. NUpE é o exemplo mais claro: o híbrido supera os dois parentais no controle e sob bactéria, aproxima-se da amplitude parental sob fungo e retoma posição

intermediária no consórcio. A taxa de transpiração (E) segue padrão análogo, com transgressão negativa no controle e sob bactéria, permanece numericamente abaixo dos pais sob fungo e aproxima-se da amplitude parental no consórcio. Essa dependência da não aditividade em relação ao ambiente microbiano aponta para arquitetura genética complexa e sustenta a hipótese de interações gênicas condicionadas pelo ambiente (Perkins e Jinks, 1970; Mather e Jinks, 1982; Li et al., 2018).

Contudo, é importante ressaltar que o delineamento com apenas dois genitores e o F_1 não permite decompor os componentes da ação gênica, como dominância, sobredominância e epistasia (Cockerham, 1954; Mather e Jinks, 1982; Falconer e Mackay, 1996). Para confirmar a hipótese de epistasia, seriam necessárias gerações segregantes ou delineamentos genéticos específicos. A análise de médias de gerações, empregando gerações segregantes como F_2 e retrocruzamentos, permite estimar e testar os componentes aditivo, dominante e epistático (Jinks, 1956; Mather e Jinks, 1982). Dialelos ampliados com a inserção da geração F_2 possibilitam a decomposição dos componentes da ação gênica (Hayman, 1954; Griffing, 1956), e desvios do modelo dialélico fornecem teste para epistasia e ligação (Gardner e Eberhart, 1966). Em milho, tais procedimentos são consolidados para a estimativa de componentes de variância e de ação gênica (Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2014).

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou que a inoculação, isolada ou consorciada, de *Enterobacter* sp. S3103 e *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1 alterou a resposta morfofisiológica e nutricional de genótipos de milho-pipoca contrastantes para a NUE em condição limitante de N, com efeitos fortemente dependentes da combinação específica entre genótipo e inóculo. De forma geral, os microrganismos estimularam as trocas gasosas foliares, com incrementos na A , g_s e E , sem alteração de C_i . Contudo, na maioria das situações, esse estímulo não gerou um maior acúmulo de biomassa, um descompasso possivelmente associado ao curto período de avaliação (estádio V5) e às condições de baixa disponibilidade de N impostas.

As respostas quanto ao conteúdo de N e às eficiências de uso de N variaram conforme o genótipo. Na linhagem eficiente e responsiva (P2), o consórcio microbiano destacou-se por elevar o N em todos os compartimentos e incrementar a NUpE e a NUE. Na linhagem ineficiente (L80), os benefícios concentraram-se no acúmulo de N no colmo. No híbrido, por outro lado, predominaram efeitos negativos sobre a biomassa e a NUpE. Em conjunto, esses resultados evidenciaram o desacoplamento entre a assimilação instantânea de CO_2 , a aquisição de N e o acúmulo de matéria seca, confirmando que a NUE integra componentes que variam de forma independente e que alterações positivas em um único componente não asseguram ganho global de eficiência ou de biomassa.

A análise das estimativas de heterose evidenciou ampla variação da resposta do híbrido P2×L80 entre características e condições microbianas, com casos de transgressão positiva, em que o F₁ superou ambos os parentais, e de transgressão negativa, em que apresentou média inferior à dos dois genitores. Entre os exemplos positivos mais expressivos destacaram-se MSR, MST, N raiz, N planta e NUpE no controle, além de um conjunto amplo de características de biomassa e eficiência de N sob inoculação bacteriana. Em sentido oposto, caracteres de trocas gasosas apresentaram depressão híbrida particularmente acentuada sob bactéria; N folha e N parte aérea apresentaram transgressão negativa sob fungo e consórcio e NTrE exibiu forte depressão híbrida no controle.

Esses padrões demonstram forte expressão de efeitos genéticos não aditivos, sugerindo "pistas de epistasia", embora não possam ser atribuídos exclusivamente à interação entre alelos de locos distintos. A elevada magnitude de algumas transgressões, associada à mudança de direção da heterose do mesmo cruzamento entre condições microbianas, fornece pistas de que interações gênicas entre locos podem participar da resposta e que sua expressão pode ser condicionada pelo ambiente microbiano. Entretanto, a distinção entre dominância, sobredominância e epistasia exige delineamentos genéticos adicionais e não pode ser estabelecida apenas pelas médias dos dois parentais e do F₁.

Conclui-se que a inoculação microbiana, especialmente em consórcio, apresenta potencial para incrementar a NUE em genótipos eficientes de milho-pipoca, sendo sua recomendação condicionada à base genética do material. Estudos futuros, com avaliações em estádios mais avançados e maior período de convivência planta-microrganismo, são necessários para consolidar o uso desses microrganismos como ferramenta de manejo sustentável da adubação nitrogenada e para orientar sua incorporação em programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Ahmed, E., & Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Allard, R. W. (1999). *Principles of plant breeding* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Freitas Júnior, S. P., Candido, L. S., Vitorazzi, C., Pena, G. F., Ribeiro, R. M., Silva, T. R. C., Pereira, M. G., Scapim, C. A., Viana, A. P., & Carvalho, G. F. (2013). UENF 14: A new popcorn cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13, 218–220. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332013000300013>
- Amaral Júnior, A. T., Ribeiro, R. M., Santos, A., Souza, Y. P., Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Viana, F. N., Khan, S., Santos Junior, D. R., Santos, T. O., Bispo, R. B., Freitas, M. S. M., Cruz, C. D., & Vivas, M. (2023). UENF N01, UENF

- N02 and UENF N03: Popcorn cultivars with elevated nitrogen-use effectiveness. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23(3), e44642. <https://doi.org/10.1590/1984-70332023v23n3c26>
- Amaral Júnior, A. T., Santos Junior, D. R., Santos, T. O., Viana, F. N., Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Ribeiro, R. M., Leite, J. T., Gonçalves, G. R., Figueiredo, J. S., Santos, M. S., Simao, B. R., Carvalho, C. M., Fernandes, I. P. G., Galvao, D. C., Souza, D. V. T., & Damasceno Junior, P. C. (2026). Divíbrido: High-yielding popcorn variety. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 26, 1–e51362627. <https://doi.org/10.1590/1984-70332026v26n2c22>
- Andreote, F. D., Gumiere, T., & Durrer, A. (2014). Exploring interactions of plant microbiomes. *Scientia Agricola*, 71(6), 528–539. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0195>
- Andreote, F.D., de Cássia Pereira e Silva, M., Melo, V.M., Roesch, L. (2017). The Brazilian Soil Microbiome. In: Pylro, V., Roesch, L. (eds) *The Brazilian Microbiome*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59997-7_3
- Ansabayeva, A., Makhambetov, M., Rebouh, N. Y., Abdelkader, M., Saudy, H. S., Hassan, K. M., Nasser, M. A., Ali, M. A. A., & Ebrahim, M. (2025). Plant growth-promoting microbes for resilient farming systems: Mitigating environmental stressors and boosting crops productivity—A review. *Horticulturae*, 11(3), 260. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030260>
- Anshu, A., Agarwal, P., Mishra, K., Yadav, U., Verma, I., Chauhan, S., Srivastava, P. K., & Singh, P. C. (2022). Synergistic action of *Trichoderma koningiopsis* and *T. asperellum* mitigates salt stress in paddy. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28, 987–1004. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01192-6>
- Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA). (2024). *Anuário estatístico do setor de fertilizantes 2024*. ANDA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). AOAC.
- Baldani, J. I., & Baldani, V. L. D. (2005). History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian

- experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 77(3), 549–579.
<https://doi.org/10.1590/S0001-37652005000300014>
- Baldani, J. I., Baldani, V. L. D., & Döbereiner, J. (1999). Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 29, 46–52.
<https://doi.org/10.1007/s003740050027>
- Baldani, V. L. D., Oliveira, E., Balota, E., Baldani, J. I., Kirchhof, G., & Döbereiner, J. (1997). *Burkholderia brasiliensis* sp. nov., uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 69(1), 116.
- Barboza Bispo, R., Teixeira do Amaral Junior, A., Santos, T. de O., de Lima, V. J., Simão, B. R., Freitas, M. S. M., Kamphorst, S. H., Carvalho, C. M., Lamêgo, D. L., Nicácio Viana, F., Bernardo, W. P., Campostrini, E., & Bressan-Smith, R. (2025). Morphophysiological approach to heterosis in phosphorus use efficiency in popcorn. *Cogent Food & Agriculture*, 11(1).
<https://doi.org/10.1080/23311932.2025.2452347>
- Barbosa, J. Z., Roberto, L. A., 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, Article 104276.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104276>
- Baron, N. C., De Souza Pollo, A., & Rigobelo, E. C. (2020). *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. *PeerJ*, 8, e9005.
<https://doi.org/10.7717/peerj.9005>
- Barriga, P., & Vencovsky, R. (1973). Heterose da produção de grãos e de outros caracteres agronômicos em cruzamentos intervarietais em milho (*Zea mays* L.). *Ciência e Cultura*, 25, 880–885.
- Bashan, Y., De-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil* 378, 1–33.
<https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>

- Begum, N., Wang, L., Ahmad, H., Akhtar, K., Roy, R., Khan, M. I., & Zhao, T. (2022). Co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and the plant growth-promoting rhizobacteria improve growth and photosynthesis in tobacco under drought stress by up-regulating antioxidant and mineral nutrition metabolism. *Microbial Ecology*, 83, 971–988. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01815-7>
- Bennetzen, J. L., Chandler, V. L., & Schnable, P. (2001). National Science Foundation-sponsored workshop report. maize genome sequencing project. *Plant Physiology*, 127(4), 1572–1578. <https://doi.org/10.1104/pp.127.4.1572>
- Bernardo, R. (2021). Predictive breeding in maize during the last 90 years. *Crop Science*, 61, 2872–2881. <https://doi.org/10.1002/csc2.20529>
- Bertolucci, M. F. (2022). *Análise da concentração e expansão da produção e do beneficiamento do milho-pipoca (Zea mays L. var. everta (Sturtev.) L. H. Bailey) no Brasil* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás]. Repositório da UFG. <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/12009>
- Birchler, J. A., Yao, H., Chudalayandi, S., Vaiman, D., & Veitia, R. A. (2010). Heterosis. *Plant Cell*, 22, 2105–2112. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076133>
- Bispo, R. B., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Pena, G. F., Santos, T. O., Leite, J. T., Viana, F. N., Santos Júnior, D. R., Lamêgo, D. L., Oliveira, U. A., Ribeiro, R. M., Pereira, T. N. S., & Khan, S. (2023). Assessing combining abilities of popcorn inbred lines for agronomic and root traits under contrasting water conditions: Towards developing drought-tolerant genotypes. *Stresses*, 3, 586–604. <https://doi.org/10.3390/stresses3030041>
- Bononi, L., Chiaramonte, J. B., Pansa, C. C., Moitinho, M. A., & Melo, I. S. (2020). Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improves soybean plant growth. *Scientific Reports*, 10, Article 2858. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>
- Bottomley, P. J., & Myrold, D. D. (2015). Biological N inputs. In E. A. Paul (Ed.), *Soil microbiology, ecology and biochemistry* (4th ed., pp. 447–470). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415955-6.00015-3>

- Brauner, K., Birami, B., Brauner, H.A. & Heyer, A.G. (2018), Diurnal periodicity of assimilate transport shapes resource allocation and whole-plant carbon balance. *Plant J*, 94: 776-789. <https://doi.org/10.1111/tpj.13898>
- Braynen, J., Zhang, L., Kumari, S., Olson, A., Kumar, V., Regulski, M., Liseron-Monfils, C., Gaudinier, A., Bågman, A.-M., Abbitt, S., Frank, M. J., Shen, B., Kochian, L. V., Brady, S. M., & Ware, D. (2025). Decoding nitrogen uptake efficiency in maize and sorghum: Insights from comparative gene regulatory networks. *The Plant Journal*, 124(6), e70631. <https://doi.org/10.1111/tpj.70631>
- Brugnera, A., Pinho, R. G. V., Pacheco, C. A. P., & Alvarez, C. G. D. (2003). Resposta de cultivares de milho-pipoca a doses de adubação de semeadura. *Ceres*, 50(290), 417–429.
- Brunson, A. M. (1937). Popcorn breeding. *Yearbook of Agriculture*, 1, 395–404.
- Bürgmann, H., Meier, S., Bunge, M., Widmer, F., & Zeyer, J. (2005). Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. *Environmental Microbiology*, 7, 1711-1724. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00818.x>
- Campos, P. M. S., Borie, F., Cornejo, P., Meier, S., López-Ráez, J. A., López-García, Á., & Seguel, A. (2021). Wheat root trait plasticity, nutrient acquisition and growth responses are dependent on specific arbuscular mycorrhizal fungus and plant genotype interactions. *Journal of Plant Physiology*, 256, 153297. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153297>
- Canellas, L. P., Balmori, D. M., Médici, L. O., Aguiar, N. O., & Campostrini, E. (2013). A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, 366, 119–132. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1382-5>
- Carena, M. J. (2005). Breeding maize for improved heterosis. In *Plant breeding reviews* (Vol. 25, pp. 35–71). John Wiley & Sons.
- Carena, M. J. (2021). Germplasm enhancement and cultivar development: The need for sustainable breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*,

21(Special Issue), e385621S4. <https://doi.org/10.1590/1984-70332021v21sa17>

Carvalho, C. M., Khan, S., Teixeira do Amaral Junior, A., Lima, V. J., Souza Silva, J. G., Catarino Fuly, L. M., Leite, J. T., Santos Junior, D. R., Viana, F. N., Souza, R., Vieira, H. D., & Kamphorst, S. H. (2023). Early selection for drought tolerance in popcorn based on gene effects estimated in seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1203972>

Carvalho, M. N., Oliveira, G. H. F., Souza Júnior, C. L., & Môro, G. V. (2023). Genetic control of agronomic efficiency under nitrogen availability in maize. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23(2), e44392329. <https://doi.org/10.1590/1984-70332023v23n2a21>

Cassim, B. M. A. R., Lisboa, I. P., Besen, M. R., Otto, R., Cantarella, H., Inoue, T. T., & Batista, M. A. (2024). Nitrogen: From discovery, plant assimilation, sustainable usage to current enhanced efficiency fertilizers technologies – A review. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 48, e0230037. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20230037>

Cassman, K. G., Dobermann, A., & Walters, D. T. (2002). Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management. *Ambio*, 31(2), 132–140. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-31.2.132>

Centrais de Abastecimento de Minas Gerais S.A. (CEASAMINAS). Sistema de consulta ao boletim diário de preços. Disponível em: https://minas1.ceasa.mg.gov.br/detec/filtro_boletim/filtro_boletim.php. Acesso em: 29 jun. 2026.

Chandel, N., Kumar, A., & Kumar, R. (2024). Towards sustainable agriculture: Integrating agronomic practices, environmental physiology and plant nutrition. *International Journal of Plant & Soil Science*, 36(6), 492–503. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i64651>

Chen, W., Li, X., Zhang, Y., Wang, J., Zhao, L., & Liu, H. (2023). Plant growth regulators improve nitrogen metabolism, yield, and quality of soybean–rhizobia

- symbiosis. *Annals of Microbiology*, 73, Article 15. <https://doi.org/10.1186/s13213-023-01721-y>
- Ciampitti, I. A., & Lemaire, G. (2022). From use efficiency to effective use of nitrogen: A dilemma for maize breeding improvement. *Science of the Total Environment*, 826, Article 154125. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154125>
- Ciampitti, I. A., & Vyn, T. J. (2013). Grain nitrogen source changes over time in maize: A review. *Crop Science*, 53, 366–377. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.07.0439>
- Coan, M. M. D., Pinto, R. J. B., Kuki, M. C., Amaral Júnior, A. T., Figueiredo, A. S. T., Scapim, C. A., & Warburton, M. (2019). Inheritance study for popping expansion in popcorn vs. flint corn genotypes. *Agronomy Journal*, 111(4), 2174–2183. <https://doi.org/10.2134/agronj2019.04.0295>
- Cockerham C. C. (1954). An Extension of the Concept of Partitioning Hereditary Variance for Analysis of Covariances among Relatives When Epistasis Is Present. *Genetics*, 39(6), 859–882. <https://doi.org/10.1093/genetics/39.6.859>
- Comstock, R. E., & Robinson, H. F. (1952). Estimation of average dominance of genes. In J. W. Gowen (Ed.), *Heterosis: A record of researches directed toward explaining and utilizing the vigor of hybrids* (pp. xx–xx). Iowa State College Press.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2012). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético* (4th ed.). UFV.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2014). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético* (Vol. 2, 3rd ed.). Editora UFV.
- Cruz, C. D., Silva, J. C., & Sedyama, C. S. (1984). Efeito da seleção prévia e de irregularidade no stand sobre as estimativas dos componentes de variância genotípica em um dialelo entre linhagens de milho. *Revista Ceres*, 31(176), 238–247.

- Cruz, C. D., & Vencovsky, R. (1989). Comparação de alguns métodos de análise dialética. *Revista Brasileira de Genética*, 12(1), 425–438.
- Daros, M., Amaral Júnior, A. T., & Pereira, M. G. (2002). Genetic gain for grain yield and popping expansion in a full-sib recurrent selection in popcorn. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(3), 339–344.
- Daros, M., Amaral Júnior, A. T., Pereira, M. G., Santos, F. S., Gabriel, A. P. C., Scapim, C. A., Freitas Júnior, S. P., & Silvério, L. (2004). Recurrent selection in inbred popcorn families. *Scientia Agricola*, 61(6), 609–614. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162004000600008>
- Davidov, Y., Tejman-Yarden, N., Robinson, A., Rahav, G., & Nissan, I. (2025). Enterobactin and salmochelin S4 inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, Article 1456046. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1456046>
- Diepenbrock, C. H., Tang, T., Jines, M., Technow, F., Lira, S., Podlich, D., Cooper, M., & Messina, C. D. (2022). Can we harness digital technologies and physiology to hasten genetic gain in U.S. maize breeding? *Plant Physiology*, 188(2), 1141–1157. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab527>
- Dixit, R., Bisht, N., Misra, S., Gupta, S. C., & Chauhan, P. S. (2023). *Bacillus* consortia modulate transcriptional and metabolic machinery of *Arabidopsis* plants for salt tolerance. *Current Microbiology*, 80, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03187-2>
- Döbereiner, J., & Day, J. M. (1976). Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In W. E. Newton & C. J. Nyman (Eds.), *Nitrogen fixation* (Vol. 2, pp. 518–538). Washington State University Press. (Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation, 1974, Pullman, Washington).
- 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, 715–718. <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100030035x>

- Duvick, D. N. (2005). Genetic progress in yield of United States maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, 50, 193–202.
- Dwivedi, S. L., Ceccarelli, S., Blair, M. W., Upadhyaya, H. D., Are, A. K., & Ortiz, R. (2016). Landrace germplasm for improving yield and abiotic stress adaptation. *Trends in Plant Science*, 21(1), 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.10.012>
- Editora Gazeta. (2020). *Mato Grosso lidera também no milho-pipoca*. <https://editoragazeta.com.br/mato-grosso-lidera-tambem-no-milho-pipoca/>
- Eiz, I. (2022). Nutritional value and health benefits of popcorn. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 11(5), 1. <https://www.ejmoams.com/ejmoams-articles/nutritional-value-and-health-benefits-of-popcorn-87942.html>
- Eleutério, Á., Gama, E. E. G., & Morais, A. R. (1988). Combining ability and heterosis in maize intervarietal hybrids adapted to acid soils. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 23(3), 247–253. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab1988.v23.13825>
- Engelbrecht, G., Claassens, S., Mienie, C. M. S., & Fourie, H. (2022). Filtrates of mixed *Bacillus* spp inhibit second-stage juvenile motility of root-knot nematodes. *Rhizosphere*, 22, Article 100528. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100528>
- Ercole, T. G., Bonotto, D. R., Hungria, M., Kava, V. M., & Galli, L. V. (2025). The role of endophytic bacteria in enhancing plant growth and health for sustainable agriculture. *Antonie van Leeuwenhoek*, 118, Article 88. <https://doi.org/10.1007/s10482-025-02100-0>
- Evans, H. J., & Burris, R. H. (1992). Highlights in biological nitrogen fixation during the last 50 years. In G. Stacey, R. H. Burris, & H. J. Evans (Eds.), *Biological nitrogen fixation* (pp. 1–42). Chapman and Hall.
- Evenson, R. E., & Gollin, D. (2003). Assessing the impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science*, 300(5620), 758–762. <https://doi.org/10.1126/science.1078710>

- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics* (4th ed.). Longman.
- Fantin, G. M., Sawazaki, E., & Barros, B. C. (1991). Avaliação de genótipos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças e à qualidade da pipoca. *Summa Phytopathologica*, 17(2), 90–104.
- Faoro, H., Alves, A. C., Souza, E. M., Rigo, L. U., Cruz, L. M., Al-Janabi, S. M., Monteiro, R. A., Baura, V. A., & Pedrosa, F. O. (2010). Influence of soil characteristics on the diversity of bacteria in the Southern Brazilian Atlantic Forest. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(14), 4744–4749. <https://doi.org/10.1128/AEM.03025-09>
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D., & Zaks, D. P. M. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478, 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2015). *Status of the world's soil resources (SWSR) – Main report*. FAO. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/i5199e>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). *World food and agriculture – Statistical yearbook 2020*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1329en>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2023). *FAOSTAT – Fertilizers by nutrient*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RFN>
- Franco, A. A., & Döbereiner, J. (1994). A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. *Summa Phytopathologica*, 20(1), 68–74.
- Freitas, I. L. J., Amaral Júnior, A. T., Freitas Júnior, S. P., Cabral, P. D. S., Ribeiro, R. M., & Gonçalves, L. S. A. (2014). Genetic gains in the UENF-14 popcorn population with recurrent selection. *Genetics and Molecular Research*, 13, 518–527.

- Freitas Júnior, S. P., Amaral Júnior, A. T., Rangel, R. M., & Viana, A. P. (2009). Genetic gains in popcorn by full-sib recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9, 1–7.
- Fu, Y. B. (2015). Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 128(11), 2131–2142. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2585-y>
- Fu, Z., Yan, J., Zheng, Y., Warburton, M. L., Crouch, J. H., & Li, J.-S. (2010). Nucleotide diversity and molecular evolution of the *PSY1* gene in *Zea mays* compared to some other grass species. *Theoretical and Applied Genetics*, 120(4), 709–720. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1188-x>
- Fukami, J., Ollero, F. J., Megías, M., & Hungria, M. (2017). Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. *AMB Express*, 7(1), Article 153. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0453-7>
- Galinat, W. C. (1979). *Ciba-Geigy agrochemicals: Maize*. Ciba-Geigy Agrochemicals.
- Galindo, F. S., Thiengo, C. C., Pagliari, P. H., Bernardes, J. V. S., dos Santos, G. D., Longato, P. A. F., Vilela, L. S., Teixeira Filho, M. C. M., & Lavres, J. (2025). Synergism of *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* for enhanced N-use efficiency and maize growth: Evidence from ¹⁵N isotopic and physiological responses. *Physiologia Plantarum*, 177(2), Article e70205. <https://doi.org/10.1111/ppl.70205>
- Gallais, A., & Hirel, B. (2004). An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, 55(4), 295–306. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh006>
- Gama, E. E. G., Magnavaca, R., Parentoni, S. N., Pacheco, C. A. P., Guimarães, P. E. O., & Oliveira, A. C. (1993). Evaluation of maize (*Zea mays* L.) top crosses for their potential use in a breeding program. *Pesquisa Agropecuária*

Brasileira, 28(4), 481–487. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab1993.v28.3900>

Gama, E. E. G., Marriel, I. E., Guimarães, P. E. O., Parentoni, S. N., Santos, M. X., Pacheco, C. A. P., Meireles, W. F., Ribeiro, P. H. E., & Oliveira, A. C. (2002). Combining ability for nitrogen use in a selected set of inbred lines from a tropical maize population. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 1(3), 68–77.

Gamalero, E., Santoyo, G., & Glick, B. R. (2023). Plant growth promoters. In M. J. Goss & M. Oliver (Eds.), *Encyclopedia of soils in the environment* (2nd ed., pp. 418–427). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822974-3.00177-4>

Garcia, M. V. C., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2021). Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: Case study of a composite inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* for the soybean crop. *AMB Express*, 11, Article 71. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01230-8>

Gardner, C. O., & Eberhart, S. A. (1966). Analysis and Interpretation of the Variety Cross Diallel and Related Populations. *Biometrics*, 22(3), 439–452. <https://doi.org/10.2307/2528181>

Gerhardt, I. F. S., Teixeira do Amaral Junior, A., Ferreira Pena, G., Moreira Guimarães, L. J., Lima, V. J., Vivas, M., Araújo Diniz Santos, P. H., Alves Ferreira, F. R., Mendonça Freitas, M. S., & Kamphorst, S. H. (2019). Genetic effects on the efficiency and responsiveness to phosphorus use in popcorn as estimated by diallel analysis. *PLoS One*, 14, Article e0216980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216980>

Ghosh, A., Kumar, A., & Biswas, G. (2024). Exponential population growth and global food security: Challenges and alternatives. In *Bioremediation of emerging contaminants from soils* (pp. 1–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13993-2.00001-3>

- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Glienke, C., Petters-Vandresen, D. A. L., Souto, A. S. S., Marinoni, L., & Silva, M. (2024). Microbiological collections in Brazil: Current status and perspectives. *Diversity*, 16(2), Article 116. <https://doi.org/10.3390/d16020116>
- GlobalFert. (2025). *Outlook Global Fert – 6º report anual do mercado de fertilizantes*. <https://globalfert.com.br/outlook-globalfert-2025/>
- Goodman, M. M., & Smith, J. S. C. (1987). Botânica. In E. Paterniani & G. P. Viegas (Orgs.), *Melhoramento e produção do milho* (pp. 41–78). Fundação Cargill.
- Govindasamy, P., Muthusamy, S. K., Bagavathiannan, M., Mowrer, J., Jagannadham, P. T. K., Maity, A., Halli, H. M., S. G. K., Vadivel, R., D. T. K., Raj, R., Pooniya, V., Babu, S., Rathore, S. S., M. L., & Tiwari, G. (2023). Nitrogen use efficiency—a key to enhance crop productivity under a changing climate. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1121073. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1121073>
- Goyal, R. K., Schmidt, M. A., & Hynes, M. F. (2021). Molecular biology in the improvement of biological nitrogen fixation by rhizobia and extending the scope to cereals. *Microorganisms*, 9(1), Article 125. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010125>
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Australian Journal of Biological Sciences*, 9, 463–493. <https://scispace.com/pdf/concept-of-general-and-specific-combining-ability-in-37z9lazbvi.pdf>
- Guedes, F. L., Diniz, R. P., Balestre, M., Ribeiro, C. B., Camargos, R. B., & Souza, J. C. (2014). Inheritance of nitrogen use efficiency in inbred progenies of tropical maize based on multivariate diallel analysis. *The Scientific World Journal*, 2014, Article 894710. <https://doi.org/10.1155/2014/894710>
- Guimarães, A. G., Amaral Júnior, A. T., Pena, G. F., Almeida Filho, J. E., Pereira, M. G., & Santos, P. H. A. D. (2019). Genetic gains in the popcorn population

- UENF-14: Developing the ninth generation of intrapopulation recurrent selection. *Revista Caatinga*, 32, 625–633. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n307rc>
- Guimarães, L. J. M., Santana, D. P., & Vasconcellos, J. H. (2025). Milho-pipoca. In *Embrapa – Agência de Informação Tecnológica*. <https://www.embrapa.br/web/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/sistemas-diferenciais-de-cultivo/milho-pipoca>
- Haeghele, J. W., Cook, K. A., Nichols, D. M., & Below, F. E. (2013). Changes in nitrogen use traits associated with genetic improvement for grain yield of maize hybrids released in different decades. *Crop Science*, 53, 1256–1268. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.07.0429>
- Hallauer, A. R. (1999). Heterosis: What have we learned? What have we done? Where are we headed? In J. G. Coors & S. Pandey (Eds.), *Genetics and exploitation of heterosis in crops* (pp. 45–70). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2134/1999.geneticsandexploitation.c45>
- Hallauer, A. R., & Carena, M. J. (2009). Maize breeding. In M. J. Carena (Ed.), *Handbook of plant breeding: Cereals* (pp. 3–98). Springer.
- Hallauer, A. R., Carena, M. J., & Miranda Filho, J. B. (2010). *Quantitative genetics in maize breeding* (3rd ed.). Springer.
- Hallauer, A. R., & Carena, M. J. (2012). Recurrent selection methods to improve germplasm in maize. *Maydica*, 57(4), 266–283.
- Hayman B. I. (1954). The Theory and Analysis of Diallel Crosses. *Genetics*, 39(6), 789–809. <https://doi.org/10.1093/genetics/39.6.789>
- He, Y.-L., He, C.-M., Dai, W.-W., Pan, Q.-N., Ju, X.-Y., & Yuan, B. (2025). Isolation and evaluation of polysaccharides from *Paecilomyces lilacinus* as plant bio-stimulants to enhance growth and secondary metabolite accumulation in peppermint under salt tolerance. *International Journal of Biological*

Macromolecules, 329(Pt 1), Article 147774.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.147774>

Heffer, P., Gruère, A., & Roberet, T. (2017). *Assessment of fertilizer use by crop at the global level*. International Fertilizer Industry Association.

Heinz, R., Ribeiro, L. P., Gonçalves, M. C., Bhering, L. L., & Teodoro, P. E. (2019). Selection of parents for low nitrogen stress through the combining ability of maize partially inbred lines. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 41, Article e42705.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v41i1.42705>

Hinsinger, P., Bengough, A. G., Vetterlein, D., & Young, I. M. (2009). Rhizosphere: Biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil*, 321(1–2), 117–152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>

Hoagland, D., & Arnon, D. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil* (Circular No. 347). California Agricultural Experiment Station.

Hochholdinger, F., & Yu, P. (2025). Molecular concepts to explain heterosis in crops. *Trends in Plant Science*, 30(1), 95–104.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.07.018>

Hoffman, B. M., Lukoyanov, D., Yang, Z.-Y., Dean, D. R., & Seefeldt, L. C. (2014). Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: The next stage. *Chemical Reviews*, 114(8), 4041–4062. <https://doi.org/10.1021/cr400641x>

Housh, A. B., Powell, G., Scott, S., Anstaett, A., Gerheart, A., Benoit, M., Waller, S., Powell, A., Guthrie, J. M., Higgins, B., Wilder, S. L., Schueller, M. J., & Ferrieri, R. A. (2021). Functional mutants of *Azospirillum brasilense* elicit beneficial physiological and metabolic responses in *Zea mays* contributing to increased host iron assimilation. *The ISME Journal*, 15(5), 1505–1522.
<https://doi.org/10.1038/s41396-020-00866-x>

Hubbell, D. H., & Kidder, G. (2009). *Biological nitrogen fixation* (UF/IFAS Extension Publication SL16). University of Florida.

Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of

- maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331, 413–425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M., & Mendes, I. C. (2015). Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis?. In *Biological Nitrogen Fixation*, F.J. de Bruijn (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9781119053095.ch99>
- Hungria, M., Ribeiro, R. A., & Nogueira, M. A. (2018). Draft genome sequences of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6, commercially used in inoculants for grasses and legumes in Brazil. *Genome Announcements*, 6(20), e00393-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00393-18>
- Hungria, M., Nogueira, M. A., Campos, L. J. M., Menna, P., Brandi, F., & Ramos, Y. G. (2020). Seed pre-inoculation with *Bradyrhizobium* as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. *Agronomy Journal*, 112(6), 5222–5236. <https://doi.org/10.1002/agj2.20392>
- 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. <https://doi.org/10.1002/agj2.21150>
- Ikeda, A. C., Savi, D. C., Hungria, M., Kava, V., Glienke, C., & Galli-Terasawa, L. V. (2020). Bioprospecting of elite plant growth-promoting bacteria for the maize crop. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 42, Article e44364. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.44364>
- Ilham, B., Nouredine, C., Philippe, G., Mohammed, E. G., Brahim, E., Sophie, A., Martine, N., & Muriel, M. (2019). Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis thaliana* by *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum* used as seed treatments. *Agriculture*, 9(8), Article 166. <https://doi.org/10.3390/agriculture9080166>
- International Fertilizer Association (IFA). (2024). *Medium-term fertilizer outlook 2024–2028: Summary report*. https://www.fertilizer.org/wp-content/uploads/2024/08/2024_ifa_medium_term_outlook_report.pdf

- IPCC. (2006). *Diretrizes do IPCC para inventários nacionais de gases de efeito estufa*. IPCC. <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/index.html>
- Iturralde, E. T., Stocco, M. C., Faura, A., Mónaco, C. I., Cordo, C. A., Pérez Giménez, J., & Lodeiro, A. R. (2020). Coinoculation of soybean plants with *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma harzianum*: Coexistence of both microbes and relief of nitrate inhibition of nodulation. *Biotechnology Reports*, 26, Article e00461. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00461>
- James, E. K., & Olivares, F. L. (1998). Infection and colonization of sugarcane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 17(1), 77–119. <https://doi.org/10.1080/07352689891304195>
- Jia, G., Chen, G., Zhang, Z., Tian, C., Wang, Y., Luo, J., Zhang, K., Zhao, X., Zhao, X., Li, Z., Sun, L., Yang, W., Guo, Y., Friml, J., Gong, Z., & Zhang, J. (2025). Ferredoxin-mediated mechanism for efficient nitrogen utilization in maize. *Nature Plants*, 11, 643-659. <https://doi.org/10.1038/s41477-025-01934-w>
- Jiang, F., Yin, X., Li, Z. W., Guo, R., Wang, J., Fan, J., Zhang, Y., Kang, M. S., & Fan, X. (2023). Predicting heterosis via genetic distance and the number of SNPs in selected segments of chromosomes in maize. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1111961. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1111961>
- Jinks, J. (1956). The F₂ and backcross generations from a set of diallel crosses. *Heredity*, 10(1), 1–30. <https://doi.org/10.1038/hdy.1956.1>
- Jones, D. F. (1918). The effects of inbreeding and crossbreeding upon development in maize. *Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin*, 207, 1–100.
- Jones, D. L., Farrar, J., & Giller, K. E. (2003). Associative nitrogen fixation and root exudation — What is theoretically possible in the rhizosphere? *Symbiosis*, 35(1–3), 19–38.
- Kamphorst, S. H., Amaral Júnior, A. T., Lima, V. J., Santos, P. H. A. D., Rodrigues, W. P., Vivas, J. M. S., Gonçalves, G. M. B., Schimtt, K. F. M., Leite, J. T., Vivas, M., Mora, F., Ortega, J. L. A., Ramalho, J. C., & Campostrini, E. (2020). Comparison of selection traits for effective popcorn (*Zea mays* L. var. *Everta*)

- breeding under water limiting conditions. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01289>
- Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Amaral Júnior, A. T., Schimtt, K. F. M., Leite, J. T., Carvalho, C. M., Silva, R. M. R., Xavier, K. B., Ferreira, F. R. A., Santos, P. H. A. D., & Campostrini, E. (2018). Research article: Popcorn breeding for water-stress tolerance or for agronomic water-use efficiency? *Genetics and Molecular Research*, 17, Article gmr18184.
- Kamphorst, S. H., Amaral Júnior, A. T., Lima, V. J., Carena, M. J., Azeredo, V. C., Mafra, G. S., Santos, P. H. A. D., Leite, J. T., Schimtt, K. F. M., Santos Junior, D. R., Bispo, R. B., Santos, T. O., Oliveira, U. A., Pereira, J. L., Lamego, D. L., Carvalho, C. M., Gomes, L. P., Silva, J. G. S., Campostrini, E., (2021). Driving sustainable popcorn breeding for drought tolerance in Brazil. *Frontiers in Plant Science*, 12, xx–xxx.
- Kamphorst, S. H., Amaral Júnior, A. T., Vergara-Diaz, O., Gracia-Romero, A., Fernandez-Gallego, J. A., Chang-Espino, M. C., Buchailot, M. L., Rezzouk, F. Z., Lima, V. J., Serret, M. D., & Ortega, J. L. A. (2022). Heterosis and reciprocal effects for physiological and morphological traits of popcorn plants under different water conditions. *Agricultural Water Management*, 261, Article 107371.
- Kantety, R. V., Zeng, X., Bennetzen, J. L., & Zehr, B. E. (1995). Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Molecular Breeding*, 1, 365–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248414>
- Karuppiyah, V., Sun, J., Li, T., Vallikkannu, M., & Chen, J. (2019a). Co-cultivation of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 and *Bacillus amyloliquefaciens* 1841 causes differential gene expression and improvement in the wheat growth and biocontrol activity. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 1068. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01068>
- Karuppiyah, V., Sun, J., Li, T., Vallikkannu, M., & Chen, J. (2019b). Simultaneous and sequential based co-fermentations of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 and *Bacillus amyloliquefaciens* 1841: A strategy to enhance gene expression

- and metabolites to improve biocontrol and plant growth promoting activity. *Microbial Cell Factories*, 18, Article 185. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1233-7>
- Kaur, S., Rakshit, S., Choudhary, M., Das, A. K., & Kumar, R. R. (2021). Meta-analysis of QTLs associated with popping traits in maize (*Zea mays* L.). *PLoS One*, 16(8), Article e0256389. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256389>
- Kaur, T., Devi, R., Kumar, S., Sheikh, I., Kour, D., & Yadav, A. N. (2022). Microbial consortium with nitrogen fixing and mineral solubilizing attributes for growth of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heliyon*, 8, Article e09326. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09326>
- Khan, M. A., Sahile, A. A., Jan, R., Asaf, S., Hamayun, M., Imran, M., Adhikari, A., Kang, S.-M., Kim, K.-M., & Lee, I.-J. (2021). Halotolerant bacteria mitigate the effects of salinity stress on soybean growth by regulating secondary metabolites and molecular responses. *BMC Plant Biology*, 21(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02937-3>
- Khan, S., Amaral Júnior, A. T., Ferreira, F. R. A., Kamphorst, S. H., Gonçalves, G. M. B., Freitas, M. S. M., Silveira, V., Souza Filho, G. A., Amaral, J. F. T., Bressan-Smith, R. E., Khalil, I. H., Vivas, J. M. S., Souza, Y. P., & Peçanha, D. A. (2020). Limited nitrogen and plant growth stages discriminate well nitrogen use, uptake and utilization efficiency in popcorn. *Plants*, 9(7), Article 893. <https://doi.org/10.3390/plants9070893>
- Khan, S., Pinto, V. B., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, G. M. B., Corrêa, C. C. G., Ferreira, F. R. A., Souza, G. A. R., Campostrini, E., Freitas, M. S. M., Vieira, M. E., Santos, T. O., Lima, V. J., Kamphorst, S. H., Amaral, J. F. T., Mora-Poblete, F., Souza Filho, G. A., & Silveira, V. (2022). Revealing the differential protein profiles behind the nitrogen use efficiency in popcorn (*Zea mays* var. *everta*). *Scientific Reports*, 12(1), Article 1521. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05545-9>
- Kim, J., & Rees, D. C. (1994). Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33(2), 389–397. <https://doi.org/10.1021/bi00168a001>

- Kimotho, R. N. (2025). A fungal endophyte systemically colonizes cereal crops and confers protection against *Fusarium* pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 136(7), Article lxaf172. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxaf172>
- Koo, D. H., & Jiang, J. (2008). Extraordinary tertiary constrictions of *Tripsacum dactyloides* chromosomes: Implications for karyotype evolution of polyploids driven by segmental chromosome losses. *Genetics*, 179(2), 1119–1123. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.087726>
- Krug, C. A., Conagin, A., & Junqueira, A. A. B. (1996). *Cultura e adubação do milho*. Instituto Brasileiro de Potassa.
- Kumar, M., Ahmad, S., & Singh, R. P. (2022). Plant growth promoting microbes: Diverse roles for sustainable and ecofriendly agriculture. *Energy Nexus*, 7, Article 100133. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100133>
- Kurosawa, R. N. F., Amaral Júnior, A. T., Vivas, M., Almeida, R. N., Vivas, J. M. S., Lima, V. J., & Silveira, S. F. (2021). Diallel analysis for resistance to northern leaf blight in popcorn under contrasting nitrogen availability. *Agronomy Journal*, 113, Article agj2.20590.
- Labroo, M. R., Studer, A. J., & Rutkoski, J. E. (2021). Heterosis and hybrid crop breeding: A multidisciplinary review. *Frontiers in Genetics*, 12, Article 643761. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.643761>
- Lal, R. (2020). Soil organic matter and water retention. *Agronomy Journal*, 112(5), 3265–3277. <https://doi.org/10.1002/agj2.20282>
- Lamkey, K. R., & Edwards, J. W. (1999). Quantitative genetics of heterosis. In J. G. Coors & S. Pandey (Eds.), *Genetics and exploitation of heterosis in crops* (pp. 31–48). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2134/1999.geneticsandexploitation.c4>
- Larish, L. L. B., & Brewbaker, J. L. (1999). Diallel analyses of temperate and tropical popcorns. *Maydica*, 44, 279–284.

- Leal Junior, G. A., Romano, T., Pereira, G. S., Lavres Junior, J., Figueira, A., & Bessalho Filho, J. C. (2025). Nitrogen uptake and physiological use efficiency in Brazilian sugarcane (*Saccharum* × spp.) cultivars: A gist of current understanding. *South African Journal of Botany*, 178, 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.01.014>
- Leite, J. T., Amaral Júnior, A. T., Lima, V. J., Santos Junior, D. R., Oliveira, U. A., Viana, F. N., Santos, M. S., Gomes, L. P., Lamêgo, D. L., Carvalho, C. M., Bernardo, W. P., Campostrini, E., Vieira, H. D., & Kamphorst, S. H. (2026). Path to achieving higher productivity in popcorn under drought conditions. *Agronomy*, 16, Article 1284. <https://doi.org/10.3390/agronomy16131284>
- Leite, R. C., Hungria, M., Leite, R. C., Ávila, W. S., & Silva, G. B. (2024). Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* spp. and Amazonian strains of *Trichoderma asperellum* and *Bacillus amyloliquefaciens* increases the productivity and profitability of the crop. *Crop Science*, 64(1), 422–441. <https://doi.org/10.1002/csc2.21091>
- Leong, S. S., Leong, S. C. T., Pau, C. G., & Beattie, G. A. C. (2021). In vitro bioassay of *Purpureocillium lilacinum* and *Bacillus thuringiensis* for control of *Meloidogyne incognita* on black pepper (*Piper nigrum* L.) in Sarawak, Malaysia, Northern Borneo. *Journal of the Entomological Research Society*, 23, 41–59. <https://doi.org/10.51963/jers.v23i1.1960>
- Li, J., Cao, H., Li, S., Dong, X., Zhao, Z., Jia, Z., & Yuan, L. (2025). Genetic and molecular mechanisms underlying nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Genetics and Genomics*, 52(3), 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2024.10.007>
- Li, X., Piao, L., Duan, W., Bai, Y., Zhu, N., Tang, Q., He, F., Ren, H., & Gu, Y. (2025). Optimal nitrogen accumulation and remobilization can synergistically improve maize yield and nitrogen-use efficiency under low-nitrogen conditions. *Agronomy*, 15(5), Article 1159. <https://doi.org/10.3390/agronomy15051159>
- Li, X., Li, Y., Sun, Y., Li, S., Cai, Q., Li, S., Sun, M., Yu, T., Meng, X., & Zhang, J. (2025). Integrating Genetic Diversity and Agronomic Innovations for Climate-

- Resilient Maize Systems. *Plants*, 14(10), 1552.
<https://doi.org/10.3390/plants14101552>
- Li, Z., Coffey, L., Garfin, J., Miller, N. D., White, M. R., Spalding, E. P., de Leon, N., Kaeppler, S. M., Schnable, P. S., Springer, N. M., & Hirsch, C. N. (2018). Genotype-by-environment interactions affecting heterosis in maize. *PLoS one*, 13(1), e0191321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191321>
- Lima, V. J., Viana, A. P., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Leite, J. T., Santos, P. H. A. D., Bispo, R. B., & Santos, T. O. (2020). Exploring the use of testers to maximize selection accuracy of partially inbred S3 popcorn progenies. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 15, xx–xxx.
- Lima, V. J., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Barboza Bispo, R., Santos, T. O., Carvalho, C. M., Oliveira, U. A., Viana, F. N., Campostrini, E., Santos, M. S., Guimarães, L. J. M., & Vivas, M. (2026). Genetic effects of physiological and morphoagronomic traits in popcorn under water deficit stress. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 13, 25647-1–25647-17.
- Lin, L., Li, Z., Hu, C., Zhang, X., Chang, S., Yang, L., Li, Y., & An, Q. (2012). Plant growth-promoting nitrogen-fixing enterobacteria are in association with sugarcane plants growing in Guangxi, China. *Microbes and Environments*, 27(4), 391–398. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me11275>
- Liu, W., He, G., & Deng, X. W. (2024). Toward understanding and utilizing crop heterosis in the age of biotechnology. *iScience*, 27(2), Article 108901. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108901>
- Liu, Y., Bai, M., Shen, F., Wu, Z., Yang, J., Li, N., Liu, H., Dai, J., & Han, X. (2024). Enhancing soybean and maize yields through improved nitrogen and soil water use efficiencies: A 40-year study on the impact of farmyard manure amendment in Northeast China. *Plants*, 13(4), Article 500. <https://doi.org/10.3390/plants13040500>
- Liu-Xu, L., González-Hernández, A. I., Camañes, G., Vicedo, B., Scalschi, L., Llorens, E. (2024). Harnessing green helpers: Nitrogen-fixing bacteria and other beneficial microorganisms in plant–microbe interactions for sustainable

- agriculture. *Horticulturae*, 10(6), Article 621. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10060621>
- Liu, Z. J., Shan, L. L., & Chen, X. F. (2024). Identification and growth-promoting effect of *Paecilomyces lilacinus* a biocontrol fungi for walnut rot disease. *PLoS ONE*, 19(12), Article e0314160. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314160>
- Lopes, A. S., & Guilherme, L. R. G. (2016). A career perspective on soil management in the Cerrado region of Brazil. *Advances in Agronomy*, 137, 1–72. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.12.004>
- Ludemann, C. I., Gruère, A., Heffer, P., & Dobermann, A. (2022). Global data on fertilizer use by crop and by country. *Scientific Data*, 9, Article 501. <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01592-z>
- Luo, P., Yang, L., Zhu, Y., Liu, M., He, Y., Liu, C., & He, W. (2025). Second genome: Rhizosphere microbiome as a key external driver of nitrogen use efficiency in maize. *Plants*, 14(23), Article 3680. <https://doi.org/10.3390/plants14233680>
- Luxem, K.E., Kraepiel, A.M.L., Zhang, L., Waldbauer, J.R., & Zhang, X. (2022). Carbon substrate re-orders relative growth of a bacterium using Mo-, V-, or Fe-nitrogenase for nitrogen fixation. *Environmental Microbiology*, 24(4), 2170–2176. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16001>
- Lyerly, P. J. (1942). Some genetic and morphological characters affecting the popping expansion of popcorn. *Journal American Society of Agronomy*, 34, 986–995.
- Lynch, J. P. (2013). Steep, cheap and deep: An ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Annals of Botany*, 112(2), 347–357. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs293>
- Machado, J. R. A., & Bermudez, F. (2020). Cultivares. In E. D. Eicholz, C. Bredemeier, F. Bermudez, J. R. A. Machado, M. Garrafa, N. B. Bispo, R. F. Aires (Orgs.), *Informações técnicas para o cultivo do milho e sorgo na região subtropical do Brasil: safras 2019/20 e 2020/21* (pp. 112–123). Associação Brasileira de Milho e Sorgo.

- Machado, P. F. (1997). *Efeitos das condições de colheita e secagem sobre a capacidade de expansão de milho pipoca* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa]. UFV.
- Mackay, I. J., Cockram, J., Howell, P. & Powell, W. (2021). Understanding the classics: the unifying concepts of transgressive segregation, inbreeding depression and heterosis and their central relevance for crop breeding. *Plant Biotechnology Journal*, 19(1), 26-34. <https://doi.org/10.1111/pbi.13481>
- Magalhães, P. C., Durães, F. O. M., & Paiva, E. (2009). *Fisiologia do milho sob estresse nutricional e hídrico*. Embrapa Milho e Sorgo.
- Maier, R. J., & Moshiri, F. (2000). Role of the *Azotobacter vinelandii* nitrogenase-protective Shethna protein in preventing oxygen-mediated cell death. *Journal of Bacteriology*, 182(13), 3854–3857. <https://doi.org/10.1128/JB.182.13.3854-3857.2000>
- Marin, V. A., Baldani, V. L. D., Teixeira, K. R. S., & Baldani, J. I. (1999). *Fixação biológica de nitrogênio: Bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical*. EMBRAPA-CNPAB.
- Martin del Campo, J. S., Rigsbee, J., Batista, M. B., Mus, F., Rubio, L. M., Einsle, O., Peters, J. W., Dixon, R., Dean, D. R., & Dos Santos, P. (2022). Overview of physiological, biochemical, and regulatory aspects of nitrogen fixation in *Azotobacter vinelandii*. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 57(5–6), 492–538. <https://doi.org/10.1080/10409238.2023.2181309>
- Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., & Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany*, 105(7), 1141–1157. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq028>
- Masson-Boivin, C., & Sachs, J. L. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia — the roots of a success story. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.001>

- Mather, K., Jinks, J.L. (1982). *Biometrical Genetics: The Study of Continuous Variation*. 3. ed. London: Chapman & Hall. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4899-3406-2>
- Matta, F. P., & Viana, J. M. S. (2001). Testes de capacidade de expansão em programas de melhoramento de milho pipoca. *Scientia Agricola*, 58(4), 845–851. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162001000400029>
- Matteoli, F. P., Olivares, F. L., Venancio, T. M., Rocha, L. O., Irineu, L. E. S. S., & Canellas, L. P. (2020). *Herbaspirillum*. In *Beneficial microbes in agro-ecology* (pp. 493–508). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00023-X>
- Medici, L. O., Pereira, M. B., Lea, P. J., & Azevedo, R. A. (2005). Diallel analysis of maize lines with contrasting responses to applied nitrogen. *Journal of Agricultural Science*, 142(5), 535–541. <https://doi.org/10.1017/S002185960400468X>
- Melchinger, A. E., Utz, H. F., Piepho, H.-P., Zeng, Z.-B., & Schön, C. C. (2007). The role of epistasis in the manifestation of heterosis: A systems-oriented approach. *Genetics*, 177(3), 1815–1825. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.077537>
- Melo, V. F., Barros, L. S., Silva, M. C. S., Veloso, T. G. R., Senwo, Z. N., Matos, K. S., & Nunes, T. K. O. (2021). Soil bacterial diversities and response to deforestation, land use and burning in North Amazon, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 158, Article 103775. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103775>
- Menge, D. N. L., Wolf, A. A., Funk, J. L., Perakis, S. S., & Carreras Pereira, K. A. (2024). Nitrogen fixation and fertilization have similar effects on biomass allocation in nitrogen-fixing plants. *Ecology and Evolution*, 14, Article e70309. <https://doi.org/10.1002/ece3.70309>
- Mergener, R. A., Sangoi, L., & Coelho, A. E. (2021). Nitrogen source does not change the morphophysiological characteristics of maize on a clay soil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 20, Article e1220. <https://doi.org/10.18512/rbms2021vol20e1220>

- Metwally, R. A., Azab, H. S., Al-Shannaf, H. M., & Rabie, G. H. (2022). Prospective of mycorrhiza and *Beauveria bassiana* silica nanoparticles on *Gossypium hirsutum* L. plants as biocontrol agent against cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *BMC Plant Biology*, 22, Article 409. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03763-x>
- Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). (2024). *MAPA leva boas práticas do agro brasileiro para feira internacional de fertilizantes*. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/2024/mapa-leva-boas-praticas-do-agro-brasileiro-para-feira-internacional-de-fertilizantes>
- Miranda, G. V., Coimbra, R. R., Godoy, C. L., Souza, L. V., Guimarães, L. J. M., & Melo, A. V. (2003). Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho-pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(6), 681–688. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000600003>
- Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1729–1739. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri205>
- Moll, R. H., Kamprath, E. J., & Jackson, W. A. (1982). Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, 74(3), 562–564. <https://doi.org/10.2134/agronj1982.00021962007400030037x>
- Moll, R. H., Lonquist, J. H., Vélez Fortuno, S., & Johnson, E. C. (1964). The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. *Genetics*, 49(3), 411–419.
- Moradtalab, N., Ahmed, A., Geistlinger, J., Walker, F., Höglinger, B., Ludewig, U., & Neumann, G. (2020). Synergisms of microbial consortia, N forms, and micronutrients alleviate oxidative damage and stimulate hormonal cold stress adaptations in maize. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 396. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00396>
- Moreno-Salazar, R., Sánchez-García, I., Chan-Cupul, W., Ruiz-Sánchez, E., Hernández-Ortega, H. A., Pineda-Lucatero, J., & Figueroa-Chávez, D. (2020).

- Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, 261, Article 108950. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108950>
- Moose, S. P., & Below, F. E. (2009). Biotechnology approaches to improving maize nitrogen use efficiency. In: Kriz, A.L., Larkins, B.A. (eds) *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-68922-5_6
- Mueller, S. M., Messina, C. D., & Vyn, T. J. (2019). Simultaneous gains in grain yield and nitrogen efficiency over 70 years of maize genetic improvement. *Scientific Reports*, 9, Article 9095. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45485-5>
- Muthuraja, R., & Muthukumar, T. (2022). Co-inoculation of halotolerant potassium solubilizing *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus violaceofuscus* improves tomato growth and potassium uptake in different soil types under salinity. *Chemosphere*, 294, Article 133718. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133718>
- Nass, L. L., Lima, M., Vencovsky, R., & Gallo, P. B. (2000). Combining ability of maize inbred lines evaluated in three environments in Brazil. *Scientia Agricola*, 57(1), 129–134. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162000000100021>
- Netto, M. S., Oliveira, F. C., Araújo, L. S., Silveira, P. M., & Cunha, P. C. R. (2020). Épocas, formas de aplicação e doses de nitrogênio na cultura do milho em condições de cerrado. *Colloquium Agrariae*, 16(6), 56-66. <https://journal.unoeste.br/index.php/ca/article/view/3381>
- Nobre, R. G., Filho, J. L., Praça, E. F., Dias, N. S., & Neto, M. F. (2000). Avaliação da qualidade de diferentes marcas comerciais de milho pipoca. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4(1), 133–135. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662000000100025>
- Novais, R. F., Alvarez V., V. H., Barros, N. F., Fontes, R. L. F., Cantarutti, R. B., & Neves, J. C. L. (Eds.). (2007). *Fertilidade do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

- Nutaratat, P., Monprasit, A., & Srisuk, N. (2017). High-yield production of indole-3-acetic acid by *Enterobacter* sp. DMKU-RP206, a rice phyllosphere bacterium that possesses plant growth-promoting traits. *3 Biotech*, 7(5), Article 305. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0937-9>
- Oldroyd, G. E. D. (2013). Speak, friend, and enter: Signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 252–263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2990>
- Oliveira, A. (2021). *Milhos especiais – cultivo do milho-pipoca*. Cursos à Distância CPT. <https://www.cpt.com.br/cursos-agricultura/artigos/milhos-especiais-cultivo-do-milho-pipoca>
- Oliveira, S. S., & Santos, P. R. (2023). *Bioinsumos na agricultura: Inoculantes* (Radar Tecnológico). Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI).
- Oliveira, U. A., Amaral Júnior, A. T., Leite, J. T., Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Bispo, R. B., Ribeiro, R. M., Viana, F. N., Lamego, D. L., Carvalho, C. M., Simão, B. R., Santos, T. O., Gonçalves, G. R., & Campostrini, E. (2024). Unveiling drought-resilient Latin American popcorn lines through agronomic and physiological evaluation. *Life*, 14, Article 743. <https://doi.org/10.3390/life14060743>
- Organização das Nações Unidas (ONU). (2015). *Transformando nosso mundo: A Agenda 2030 para o desenvolvimento sustentável*. Nova York: ONU. Disponível em: <https://brasil.un.org/sites/default/files/2020-09/agenda2030-pt-br.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2026.
- Orozco-Mosqueda, M. D. C., Glick, B. R., & Santoyo, G. (2020). ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. *Microbiological Research*, 235, Article 126439. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126439>
- Ortega, H. E., Torres-Mendoza, D., & Cubilla-Rios, L. (2020). Patents on endophytic fungi for agriculture and bio and phytoremediation applications. *Microorganisms*, 8, Article 1237. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081237>

- Pacheco, C. A. P., Gama, E. E. G., Parentoni, S. N., Santos, M. X., Lopes, M. A., Ferreira, A. S., Fernandes, F. T., Guimarães, P. E. O., Corrêa, L. A., Meirelles, W. F., Feldman, R. O., & Magnavaca, R. (2001). *BRS Angela: variedade de milho-pipoca* (Comunicado Técnico, n. 27). Embrapa Milho e Sorgo.
- Paes, M. C. D. (2006). *Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho* (Circular Técnica, 75). Embrapa Milho e Sorgo.
- Paini, J. N., Cruz, C. D., Delboni, J. S., & Scapim, C. A. (2015). Capacidade combinatória e heterose em cruzamentos intervarietais de milho avaliados sob as condições climáticas da região sul do Brasil. *Revista Ceres*, 43(247). Recuperado de <https://ojs.ceres.ufv.br/ceres/article/view/2338>
- Pandey, K., & Saharan, B. S. (2025). Soil microbiomes: A promising strategy for boosting crop yield and advancing sustainable agriculture. *Discovery Agriculture*, 3, Article 54. <https://doi.org/10.1007/s44279-025-00208-5>
- Paterniani, E. (1978). *Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas: Fundação Cargill.
- Paterniani, E., & Campos, M. S. (2005). Melhoramento de milho. In A. Borém (Ed.), *Melhoramento de espécies cultivadas* (pp. 491–552). UFV.
- Paterniani, E., & Lonquist, J. H. (1963). Heterosis in interracial crosses of corn (*Zea mays* L.). *Crop Science*, 3, 504–507. <https://doi.org/10.2135/cropsci1963.0011183X000300060014x>
- Paterniani, M. E. A. G. Z., Fachini, C., & Rodrigues, C. S. (2020). Innovation and specialty maize breeding for market niches in the state of São Paulo. *Brazilian Journal of Maize and Sorghum*, 19, 1–19. <https://doi.org/10.18512/rbms2020v19e1202>
- Pathak, A., Rabani, M. S., Shrivastav, M., & Gupta, M. K. (2026). Mechanistic insights into plant growth-promoting rhizobacteria with focus on root–soil interactions, functional attributes and agricultural sustainability. *Discover Biotechnology*, 3, Article 1. <https://doi.org/10.1007/s44340-025-00046-7>

- Pena, G. F., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Vivas, M., Ribeiro, R. M., Mafra, G. S., Santos, A., & Scapim, C. A. (2016). Comparison of testers in the selection of S3 families obtained from the UENF-14 variety of popcorn. *Bragantia*, 75, 121. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.215>
- Pereira, M. G., & Amaral Júnior, A. T. (2001). Estimation of genetics components in popcorn based on nested design. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1, 3–10.
- Pereira, M. G., Amaral Júnior, A. T., Cruz, C. D., & Scapim, C. A. (2006). Diallel analysis and heterosis in maize populations. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6(3), 247–255.
- Perkins, J. M. & Jinks, J. L. (1970). Detection and estimation of genotype-environmental, linkage and epistatic components of variation for a metrical trait. *Heredity*, 25, 157–177. <https://doi.org/10.1038/hdy.1970.22>
- Perkowski, E. A., Terrones, J., German, H. L., & Smith, N. G. (2024). Symbiotic nitrogen fixation reduces belowground biomass carbon costs of nitrogen acquisition under low, but not high, nitrogen availability. *AoB PLANTS*, 16(5), Article plae051. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plae051>
- Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., & Bakker, P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*. 52, 347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pingali, P. L. (2012). Green Revolution: Impacts, limits, and the path ahead. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(31), 12302–12308. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912953109>
- Pinto, R. M. C., Garcia, A. A. F., & Souza Júnior, C. L. (2001). Alocação de linhagens de milho derivadas das populações BR-105 e BR-106 em grupos heteróticos. *Scientia Agricola*, 58(3). <https://doi.org/10.1590/S0103-90162001000300016>
- Postgate, J. R. (1982). *Os fundamentos da fixação de nitrogênio*. Cambridge University Press.

- Pradhan N., Singh S., Saxena G., Pradhan N., Koul M., Kharkwal A. C. & Sayyed R. (2025). A review on microbe–mineral transformations and their impact on plant growth. *Frontiers in Microbiology*. 16:1549022. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1549022>.
- Pylro, V. S., Roesch, L. F. W., Ortega, J. M., Amaral, A. M., Tótola, M. R., Hirsch, P. R., Rosado, A. S., Góes-Neto, A., Silva, A. L. C., Rosa, C. A., Moraes, D. K., Andreote, F. D., Duarte, G. F., Melo, I. S., Seldin, L., Lambais, M. R., Hungria, M., Peixoto, R. S., Krüger, R. H., Tsai, S. M., Azevedo, V. (2014). Brazilian microbiome project: Revealing the unexplored microbial diversity—challenges and prospects. *Microbial Ecology*, 67, 237–241. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0302-4>
- R Core Team. (2025). *R: A language and environment for statistical computing* [Computer software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Rangel, R. M., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Freitas Júnior, S. P., & Candido, L. S. (2011). Análise biométrica de ganhos por seleção em população de milho pipoca de quinto ciclo de seleção recorrente. *Revista Ciência Agronômica*, 42, 473–481. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000200029>
- Reed, L., & Glick, B. R. (2023). The Recent Use of Plant-Growth-Promoting Bacteria to Promote the Growth of Agricultural Food Crops. *Agriculture*, 13(5), 1089. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051089>
- Reed, S. C., Cleveland, C. C., & Townsend, A. R. (2011). Functional ecology of free-living nitrogen fixation: A contemporary perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, 489–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145034>
- Ribeiro, R. M., Amaral Júnior, A. T., Pena, G. F., Vivas, M., Kurosawa, R. F. N., & Gonçalves, L. S. A. (2016). Effect of recurrent selection on the variability of the UENF-14 popcorn population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16, 123–131. <https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n2a19>

- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., & Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321, 305–339. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>
- Rieseberg, L. H., Archer, M. A. & Wayne, R. K. (1999). Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity* 83(4), 363–372 (1999). <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6886170>
- Rieseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, A. M., & Burke, J. M. (2003). The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 358(1434), 1141–1147. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1283>
- Rigobelo, E. C., Carvalho, L. A. L., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Pinheiro, D. G., Nicodemo, D., Babalola, O. O., & Desoignies, N. (2024a). Growth promotion and modulation of the soybean microbiome INTACTA RR PRO with the application of the fungi *Trichoderma harzianum* and *Purpureocillium lilacinum*. *Scientific Reports*, 14, Article 21004. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71565-2>
- Rigobelo, E. C., Nicodemo, D., Babalola, O. O., & Desoignies, N. (2024b). *Purpureocillium lilacinum* as an agent of nematode control and plant growth-promoting fungi. *Agronomy*, 14(6), Article 1225. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061225>
- Risi, F. G. E., Hüther, C. M., Righi, C. A., Umburanas, R. C., Tezotto, T., Dourado Neto, D., Reichardt, K., & Pereira, C. R. (2024). Sustainability analysis of nitrogen use efficiency in soybean-corn succession crops of Midwest Brazil. *Nitrogen*, 5(1), 232–253. <https://doi.org/10.3390/nitrogen5010016>
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin III, F. S., Lambin, E. F., Lenton, T. M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H. J., Nykvist, B., De Wit, C. A., Hughes, T., Van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P. K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M.; Karlberg, L.; Corell, R. W.; Fabry, V. J.; Hansen, J.; Walker, B.; Liverman, D.; Richardson, K.; Crutzen, P.; Foley,

- J. A. (2009). A safe operating space for humanity. *Nature*, 461, 472–475. <https://doi.org/10.1038/461472a>
- Rodrigues, M. C., & Chaves, L. J. (2002). Heterosis and its components in crosses among high quality protein maize populations. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(2), 281-290. <https://cbab.sbmp.org.br/wp-content/uploads/2023/09/CBAB-15-074.pdf>
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4–5), 319–339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)
- Roell, M.-S., & Zurbruggen, M. D. (2020). The impact of synthetic biology for future agriculture and nutrition. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.10.004>
- Rutten, P. J., & Poole, P. S. (2019). Oxygen regulatory mechanisms of nitrogen fixation in rhizobia. *Advances in Microbial Physiology*, 75, 325–389. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2019.08.001>
- Sanchez, D. L., Santana, A. S., Morais, P. I. C., Peterlini, E., De La Fuente, G., Castellano, M. J., Blanco, M., & Lübberstedt, T. (2023). Phenotypic and genome-wide association analyses for nitrogen use efficiency related traits in maize (*Zea mays* L.) exotic introgression lines. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1270166. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1270166>
- Sanchez, P. A. (2019). *Properties and management of soils in the tropics* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Santos, A., Amaral Júnior, A. T., Kurosawa, R. N. F., Gerhardt, I. F. S., & Fritsche Neto, R. (2017). GGE biplot projection in discriminating the efficiency of popcorn lines to use nitrogen. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(1), 22–31. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017411030816>
- Santos, A., Amaral Júnior, A. T., Fritsche-Neto, R., Kamphorst, S. H., Ferreira, F. R. A., Amaral, J. F. T., Vivas, J. M. S., Santos, P. H. A. D., Lima, V. J., Khan, S., Schmitt, K. F. M., Leite, J. T., Santos Junior, D. R., Bispo, R. B., Santos, T. O., Oliveira, U. A., Guimarães, L. J. M., & Rodriguez, O. (2019). Relative

- importance of gene effects for nitrogen-use efficiency in popcorn. *PLoS One*, 14(9), Article e0222726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222726>
- Santos, A., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Gonçalves, G. M. B., Santos, P. H. A. D., Vivas, J. M. S., Mafra, G. S., Khan, S., Oliveira, F. T., Schmitt, K. F. M., Santos Junior, D. R., & Mora, F. (2020). Evaluation of popcorn hybrids for nitrogen use efficiency and responsiveness. *Agronomy*, 10, 1–13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040485>
- Santos, F. S., Amaral Júnior, A. T., Freitas Júnior, S. 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. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000300004>
- Santos, F. S., Amaral Júnior, A. T., Freitas Júnior, S. P., Rangel, R. M., Scapim, C. A., & Mora, F. (2008). Genetic gain prediction of the third recurrent selection cycle in a popcorn population. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30, 651–655.
- Santos Junior, D. R., Amaral Júnior, A. T., Lima, V. J., Leite, J. T., Bispo, R. B., Azeredo, V. C., Almeida Filho, J. E., Kamphorst, S. H., Viana, F. N., Ribeiro, R. M., Viana, A. P., & Gravina, G. A. (2023). Recurrent interpopulation selection in popcorn: From heterosis to genetic gains. *Plants*, 12, Article 1056. <https://doi.org/10.3390/plants12051056>
- Santos, M. S., Kamphorst, S. H., Amaral Júnior, A. T., Leite, J. T., Lima, V. J., Oliveira, U. A., Vasconcelos, C. M., Viana, F. N., Santos, T. O., Gonçalves, G. R., Daher, R. F., Cruz, C. D., & Campostrini, E. (2026). Water-use efficiency and responsiveness of a popcorn panel grown under different water regimes and cropping seasons. *Agronomy*, 16, Article 258. <https://doi.org/10.3390/agronomy16020258>
- Santos, M. X. dos, Pacheco, C. A. P., Guimarães, P. E. O., Gama, E. E. G. e, Silva, A. E. da, & Oliveira, A. C. de. (1994). Diallel among twenty eight varieties of maize. *Revista Brasileira de Genética*, 17(3), 277–282. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/474567>

- Santos, T. O., Oliveira, F. T., Amaral Júnior, A. T., Almeida Filho, J. E., Bispo, R. B., Freitas, M. S. M., Amaral, J. F. T., Kamphorst, S. H., Lima, V. J., Viana, F. N., Pena, G. F., Santos, P. H. A. D., Bernardo, W. P., Pereira, M. G., Oliveira, J. G., Smith, R. B., & Trindade, R. S. (2022). Additive and non-additive effects on the control of key agronomic traits in popcorn lines under contrasting phosphorus conditions. *Plants*, 11, 3–22. <https://doi.org/10.3390/plants11172216>
- Santos, T. O., Amaral Júnior, A. T., Bispo, R. B., Bernardo, W. P., Simão, B. R., Lima, V. J., Freitas, M. S. M., Mora-Poblete, F., Trindade, R. S., Kamphorst, S. H., Rodrigues, W. P., Campostrini, E., Viana, F. N., & Cruz, C. D. (2023a). Exploring the potential of heterosis to improve nitrogen use efficiency in popcorn plants. *Plants*, 12(11), Article 2135. <https://doi.org/10.3390/plants12112135>
- Santos, T. O., Amaral Júnior, A. T., & Moulin, M. M. (2023b). Maize breeding for low nitrogen inputs in agriculture: Mechanisms underlying the tolerance to the abiotic stress. *Stresses*, 3, 136–152. <https://doi.org/10.3390/stresses3010011>
- Santos, T. O., Amaral Júnior, A. T., Pinto, V. B., Bispo, R. B., Campostrini, E., Glowacka, K., Simão, B. R., Bernardo, W. P., Viana, F. N., Silveira, V., & Souza Filho, G. A. (2025). Morphophysiological and proteomic profiling unveiling mechanisms underlying nitrogen use efficiency in popcorn (*Zea mays* var. *everta*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 221, Article 109581. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109581>
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. d. I., Orozco-Mosqueda, M. d. C., & Glick, B. R. (2021). Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. *Agronomy*, 11(2), 219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Sawazaki, E. (1995). *Melhoramento de milho-pipoca* (Documento IAC, 53). IAC.

- Sawazaki, E., Gallo, P. B., Paterniani, M. E. A. G. Z., Silva, R. M. D., Lüders, R. R., & Castro, J. L. D. (1998). *Milho pipoca IAC 112: Cultivar híbrido simples de alto potencial produtivo e elevada capacidade de expansão*. Instituto Agrônômico (IAC).
- Sawazaki, E., Paterniani, M.E.A.G.Z., Castro, J.L., Gallo, P.B., Galvão, J.C.C., & Saes, L.A. (2000). Potencial de linhagens de populações locais de milho pipoca para síntese de híbridos. *Bragantia*, 59(2), 143-151.
- Sawazaki, E. (2001). A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O Agrônomo*, 53(2), 11–13.
- Scheible, W. R., Morcuende, R., Czechowski, T., Fritz, C., Osuna, D., Palacios-Rojas, N., Schindelasch, D., Thimm, O., Udvardi, M. K., & Stitt, M. (2004). Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. *Plant Physiology*, 136(1), 2483–2499. <https://doi.org/10.1104/pp.104.047019>
- Schepers, J. S., Francis, D. D., Vigil, M., & Below, F. E. (1992). Comparison of corn leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter readings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23, 2173–2187. <https://doi.org/10.1080/00103629209368733>
- Schmitt, K. F. M., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Pinto, V. B., Lima, V. J., Oliveira, U. A., Viana, F. N., Leite, J. T., Gomes, L. P., Silva, J. G. S., Lamêgo, D. L., Bernardo, W. P., Souza, G. A. R., Almeida, F. A., Souza Filho, G. A., Silveira, V., & Campostrini, E. (2024). Decoding the effects of drought stress on popcorn (*Zea mays* var. *everta*) flowering combining proteomics and physiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 208, Article 108444. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108444>
- Schulte, C. C. M., Borah, K., Wheatley, R. M., Terpolilli, J. J., Saalbach, G., Crang, N., de Groot, D. H., Ratcliffe, R. G., Kruger, N. J., Papachristodoulou, A., & Poole, P. S. (2021). Metabolic control of nitrogen fixation in rhizobium-legume symbioses. *Science Advances*, 7, Article eabh2433. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abh2433>

- Schwantes, I. A., Amaral Júnior, A. T., Almeida Filho, J. E., Vivas, M., Cabral, P. D. S., Guimarães, A. G., Silva, F. H. L., Santos, P. H. A. D., Pereira, M. G., Viana, A. P., Pena, G. F., & Ferreira, F. R. A. (2020). Genomic selection helps accelerate popcorn population breeding. *Crop Science*, 60, 1373–1385. <https://doi.org/10.1002/csc2.20112>
- Sedhupathi, K., Kennedy, Z. J., Shanti, A., Balachandar, D., & Nakkeeran, S. (2022). Consortia of *Bacillus subtilis* and *Purpureocillium lilacinum* have nematicidal activity against root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato. *Biological Forum – An International Journal*, 14, 335–345.
- Shilev, S., Babrikova, I., & Babrikov, T. (2020a). Consortium of plant growth-promoting bacteria improves spinach (*Spinacea oleracea*) growth under heavy metal stress conditions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(3), 932–939. <https://doi.org/10.1002/jctb.6077>
- Shilev, S., Babrikova, I., Babrikov, T., Singh, S., Tripathi, A., Chanotiya, C. S., Barnawal, D., Singh, P., Patel, V. K., Vajpayee, P., & Kalra, A. (2020b). Cold stress alleviation using individual and combined inoculation of ACC deaminase producing microbes in *Ocimum sanctum*. *Environmental Sustainability*, 3, 289–301. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00118-w>
- Shull, G. H. (1908). The composition of a field of maize. *American Breeders' Association Report*, 4, 296–301.
- Silva, E. (2023). Produção de milho-pipoca estoura no Brasil. *Globo Rural*. <https://globo rural.globo.com/agricultura/milho/noticia/2023/11/producao-de-milho-pipoca-estoura-no-brasil.ghtml>
- Silva, J. T. S. (2023). *Bioprospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal e tolerantes ao estresse abiótico* [Tese de doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro].
- Silva, K. J., Guimarães, C. T., Guilhen, J. H. S., Guimarães, P. E. O., Parentoni, S. N., Trindade, R. S., Oliveira, A. A., Bernardino, K. C., Pinto, M. O., Dias, K. O. G., Bernardes, C. O., Dias, L. A. S., Guimarães, L. J. M., & Pastina, M. M. (2020). High-density SNP-based genetic diversity and heterotic patterns of

- tropical maize breeding lines. *Crop Science*, 60(2), 779–787. <https://doi.org/10.1002/csc2.20018>
- Silva, N. C. A. (2015). *Conservação, diversidade e distribuição de variedades locais de milho e seus parentes silvestres no extremo oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil* [Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina]. Repositório Institucional UFSC. <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/157407/336399.pdf>
- Silva, T. R. C., Amaral Júnior, A. T., Almeida Filho, J. E., Freitas, M. S. M., Guimarães, A. G., & Kamphorst, S. H. (2019). Contrasting phosphorus environments as indicators for popcorn breeding lines. *Functional Plant Breeding Journal*, 1, 1–15.
- Silva, V. Q. R., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Freitas Júnior, S. P., & Ribeiro, R. M. (2011). Heterotic parametrizations of crosses between tropical and temperate lines of popcorn. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 33, 243–249. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i2.9607>
- Simão, B. R. (2025). *Prospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato e sua interação funcional com milho-pipoca: Análises morfofisiológicas e efeitos gênicos envolvidos* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro].
- Simons, M., Saha, R., Guillard, L., Clément, G., Armengaud, P., Cañas, R., Maranas, C. D., Lea, P. J., & Hirel, B. (2014). Nitrogen-use efficiency in maize (*Zea mays* L.): From 'omics' studies to metabolic modelling. *Journal of Experimental Botany*, 65(19), 5657–5671. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru227>
- Singh, P., Singh, R. K., Li, H. B., Guo, D. J., Sharma, A., Lakshmanan, P., Malviya, M. K., Song, X. P., Solanki, M. K., Verma, K. K., Yang, L. T., & Li, Y. R. (2021). Diazotrophic bacteria *Pantoea dispersa* and *Enterobacter asburiae* promote sugarcane growth by inducing nitrogen uptake and defense-related gene expression. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 600417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.600417>

- Souza Júnior, C. L., Santos, M. X., Magnavaca, R., & Gama, E. E. G. (1993). Genetic parameters in the interpopulation maize cross BR-105 × BR-106 and their implications in selection. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 28(4), 473–479. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab1993.v28.3899>
- Souza, L. V., Miranda, G. V., Galvão, J. C. C., Eckert, F. R., Mantovani, É. E., Lima, R. O., & Guimarães, L. J. M. (2008). Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(11), 1517–1523. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001100010>
- Souza, R. C., Mendes, I. C., Reis-Júnior, F. B., Carvalho, F. M., Nogueira, M. A., Vasconcelos, A. T. R., Vicente, V. A., & Hungria, M. (2016). Shifts in taxonomic and functional microbial diversity with agriculture: How fragile is the Brazilian Cerrado? *BMC Microbiology*, 16, Article 42. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0657-z>
- Souza, R. F. (2025). *Responsividade de genitores e híbridos de milho-pipoca à microbiolização das sementes com Azospirillum brasilense em condição limitada de nitrogênio* [Tese de doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro].
- Souza, Y. P., Amaral Júnior, A. T., Oliveira, F. T., Khan, S., Santos, J. S., & Kamphorst, S. H. (2023). Prospecting of popcorn inbred lines for nitrogen use efficiency and responsiveness. *Revista Ceres*, 70, Article e70614. Recuperado de <https://ojs.ceres.ufv.br/ceres/article/view/8175>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism–plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Spolaor, L. T., Gonçalves, L. S. A., Santos, O. J. A. P., Oliveira, A. L. M., Scapim, C. A., Bertagna, F. A. B., & Kuki, M. C. (2016). Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. *Bragantia*, 75(1), 33–40. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.330>

- Springer, N. M., & Stupar, R. M. (2007). Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than a whole? *Genome Research*, 17(3), 264–275. <https://doi.org/10.1101/gr.5347007>
- Tacca, L. M. A., Lima, R. N., Oliveira, M. A., Pascoal, P. V., Bambil, D., Rosinha, G. M. S., Signor, D., Freire, M., & Rech, E. (2026). The soil microbiome of the Caatinga drylands in Brazil. *Scientific Reports*, 16, Article 50433. <https://doi.org/10.1038/s41598-026-50433-1>
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2024). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal* (7^a ed.). Artmed.
- Taiz, L., Møller, I. M., Murphy, A., & Zeiger, E. (2022). *Plant physiology and development* (7th ed.). Oxford University Press.
- Takahashi, C., Marshall, J. A., Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (1999). Genomic relationships between maize and its wild relatives. *Genome*, 42(6), 1201–1207. <https://doi.org/10.1139/gen-42-6-1201>
- Tardin, F. D., Pereira, M. G., Gabriel, A. P. C., Amaral Júnior, A. T., & Souza Filho, G. A. (2007). Selection index and molecular markers in reciprocal recurrent selection in maize. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7(3), 225–233.
- Taylor, B. N., & Komatsu, K. J. (2024). More diverse rhizobial communities can lead to higher symbiotic nitrogen fixation rates, even in nitrogen-rich soils. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 291, Article 20240765. <https://doi.org/10.1098/rspb.2024.0765>
- Technow, F., Riedelsheimer, C., Schrag, T. A., & Melchinger, A. E. (2012). Genomic prediction of hybrid performance in maize with models incorporating dominance and population-specific marker effects. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(6), 1181–1194. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1905-8>
- Telles, T. S., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2023). Economic value of biological nitrogen fixation in soybean crops in Brazil. *Environmental Technology & Innovation*, 31, Article 103158. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103158>

- Tester, M., & Langridge, P. (2010). Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*, 327, 818–822. <https://doi.org/10.1126/science.1183700>
- Thompson, L. R., Sanders, J. G., McDonald, D., Amir, A., Ladau, J., Locey, K. J., Prill, R. J., Tripathi, A., Gibbons, S. M., Ackermann, G., Navas-Molina, J. A., Janssen, S., Kopylova, E., Vázquez-Baez, Y., González, A., Morton, J. T., Mirarab, S., Xu, Z. Z., Jiang, L., ... Knight, R. (2017). A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature*, 551(7681), 457–463. <https://doi.org/10.1038/nature24621>
- Torres, L. G., Rodrigues, M. C., Lima, N. L., Trindade, T. F. H., Silva, F. F., Azevedo, C. F., & Lima, R. O. (2018). Multi-trait multi-environment Bayesian model reveals G × E interaction for nitrogen use efficiency components in tropical maize. *PLOS ONE*, 13(6), Article e0199492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199492>
- Troyer, A. F. (1999). Background of U. S. hybrid corn. *Crop Science*, 39(3), 601–626. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X003900020001xa>
- Udvardi, M. K., & Poole, P. S. (2013). Transport and metabolism in legume–rhizobia symbioses. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 781–805. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120235>
- Upamanya, G. K., Bhattacharyya, A., & Dutta, P. (2020). Consortia of entomopathogenic fungi and bio-control agents improve the agro-ecological conditions for brinjal cultivation of Assam. *3 Biotech*, 10, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02439-3>
- Vaccaro, F., Passeri, I., Ajjiah, N., Bettini, P., Courty, P. E., Dębiec-Andrzejewska, K., Joshi, N., Kowalewska, Ł., Stasiuk, R., Musiałowski, M., Pranaw, K., & Mengoni, A. (2024). Genotype-by-genotype interkingdom cross-talk between symbiotic nitrogen fixing *Sinorhizobium meliloti* strains and *Trichoderma* species. *Microbiological Research*, 285, 127768. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127768>

- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in plant science*, 4, 356. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Valois, A. C. C., & Vencovsky, R. (1983). Effects of stratified mass selection on two corn populations and on heterosis of their crosses. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18(10), 1099–1107.
- Varshney, R. K., Bohra, A., Yu, J., Graner, A., Zhang, Q., & Sorrells, M. E. (2021). Designing Future Crops: Genomics-Assisted Breeding Comes of Age. *Trends in plant science*, 26(6), 631–649. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.03.010>
- Vermelho, A. B., Macrae, A., Neves, A., Domingos, L. T. S., Souza, J. E., Borsari, A. C. P., Oliveira, S. S., von der Weid, I., Veillard, P., & Zilli, J. É. (2026). Microbial bioinputs in Brazilian agriculture. *Journal of Integrative Agriculture*, 25(2), 402–423. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2025.09.013>
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Vilarinho, A. A., Viana, J. M. S., Câmara, T. M. M., & Santos, J. F. (2002). Seleção de progênies endogâmicas S₁ e S₂ em programas de melhoramento intrapopulacional e de produção de híbridos de milho-pipoca (*Zea mays* L.). *Acta Scientiarum*, 24(5), 1419–1425. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v24i0.2393>
- Villanueva-Gaete, A., Souza, G. R., Petroceli-Mota, G., Souza, B. S. P., Ribeiro, R. C., Rocha, L. O., Mussi-Dias, V., Quintanilha-Peixoto, G., Góes-Neto, A., Olivares, F. L., Berbert-Molina, M. A., Ramos, A. C., & Intorne, A. C. (2025). Fungi from soil coffee crop shows glyphosate tolerance and promotes plant growth. *Total Environment Microbiology*, 1(4), Article 100043. <https://doi.org/10.1016/j.temicr.2025.100043>
- Von Bülow, J. F., & Döbereiner, J. (1975). Potential for nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

- United States of America*, 72(6), 2389–2393.
<https://doi.org/10.1073/pnas.72.6.2389>
- Voss-Fels, K.P., Cooper, M. & Hayes, B.J. (2019). Accelerating crop genetic gains with genomic selection. *Theor Appl Genet* 132, 669–686.
<https://doi.org/10.1007/s00122-018-3270-8>
- Wagner, S. C. (2011). Biological nitrogen fixation. *Nature Education Knowledge*, 3(10), 15. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/biological-nitrogen-fixation-23570419>
- Wagner, M. R., Tang, C., Salvato, F., Clouse, K. M., Bartlett, A., Vintila, S., Phillips, L., Sermons, S., Hoffmann, M., Balint-Kurti, P. J., & Kleiner, M. (2021). Microbe-dependent heterosis in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(30), Article e2021965118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2021965118>
- Walne, C. H., Dhillon, J., Reddy, K. N., & Reddy, K. R. (2025). Developing functional relationships of corn growth and developmental responses to nitrogen nutrition for modeling. *Frontiers of Earth Science*, 19(2), 198–212.
<https://doi.org/10.1007/s11707-024-1137-7>
- Wang, B., Hou, M., Shi, J., Ku, L., Song, W., Li, C., Ning, Q., Li, X., Li, C., Zhao, B., Zhang, R., Xu, H., Bai, Z., Xia, Z., Wang, H., Kong, D., Wei, H., Jing, Y., Dai, Z., ... Wang, H. (2023). De novo genome assembly and analyses of 12 founder inbred lines provide insights into maize heterosis. *Nature Genetics*, 55, 312–323. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01283-w>
- Wang, B., Xu, L., Hang, Y., Wang, S., Li, Z., Guo, R., Ma, L., Xu, L., Yue, Z., Feng, J., & Zhang, D. (2026). GWAS-based mining of candidate genes for low-nitrogen tolerance in maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(4), Article 2060. <https://doi.org/10.3390/ijms27042060>
- Wang, J., Guo, J., Li, G., Lu, W., & Lu, D. (2025). Effects of different fertilizer combinations on the yield and nitrogen use efficiency of summer maize in Jiangsu Province, China. *Scientific Reports*, 15, Article 12458.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-89918-w>

- Wang, M., & Xu, Z. (2026). PGPR-mediated enhancement of soil nutrients, rhizosphere microbial ecology, and plant growth: A review. *npj Biofilms and Microbiomes*, 12, Article 95. <https://doi.org/10.1038/s41522-026-00966-0>
- Wang, Z., Ma, B.-L., Li, Y., Li, R., Jia, Q., Yu, X., Sun, J., Hu, S., & Gao, J. (2022). Concurrent improvement in maize grain yield and nitrogen use efficiency by enhancing inherent soil productivity. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 790188. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.790188>
- Wani, S. H., Vijayan, R., Choudhary, M., Kumar, A., Zaid, A., Singh, V., Kumar, P., & Yasin, J. K. (2021). Nitrogen use efficiency (NUE): Elucidated mechanisms, mapped genes and gene networks in maize (*Zea mays* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(12), 2875–2891. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01113-z>
- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., McSpadden Gardener, B. B., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 309–348. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>
- Wen, M., Zhang, X., Yang, G., Zhang, X., Li, J., Yu, F., Li, H., Lu, L., & Long, L. (2026). Promotion of maize seedling growth by *Enterobacter asburiae* PW2 under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 17, Article 1823368. <https://doi.org/10.3389/fpls.2026.1823368>
- Westby, C. A., Enderlin, C. S., Steinberg, N. A., Joseph, C. M., & Meeks, J. C. (1987). Assimilation of $^{13}\text{NH}_4^+$ by *Azospirillum brasilense* grown under nitrogen limitation and excess. *Journal of Bacteriology*, 169(9), 4211–4214. <https://doi.org/10.1128/jb.169.9.4211-4214.1987>
- Wu, C., Geng, Z., Li, W., Ye, J., Hao, X., Xu, J., Jin, M., Wu, X., Du, Y., Chen, Y., Ma, C., Gao, Y., Chen, Y., Xie, T., Gui, S., Chen, Y., Luo, J., Liu, Y., Yang, W., Yan, J., Yang, W., & Xiao, Y. (2026). Genetic dynamics drive maize growth and breeding. *Genome Biology*, 27(1), Article 56. <https://doi.org/10.1186/s13059-026-03957-8>

- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 153–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>
- Yadav, R., Ror, P., Beniwal, R., Kumar, S., & Ramakrishna, W. (2022). *Bacillus* sp. and arbuscular mycorrhizal fungi consortia enhance wheat nutrient and yield in the second-year field trial: Superior performance in comparison with chemical fertilizers. *Journal of Applied Microbiology*, 132, 2203–2219. <https://doi.org/10.1111/jam.15371>
- Yáñez, M. A., Espinoza, S., Ovalle, J., Magni, C., & Martínez-Herrera, E. (2023). Variations in the performance of hybrid poplars subjected to the inoculation of a microbial consortium and water restriction. *iForest*, 16, 352–360. <https://doi.org/10.3832/ifor4378-016>
- Yuan, L., Liu, J., Li, J., Zhang, S., Ma, H., Li, C., Li, C., Zhang, W., Zhou, Y., Wang, M., Wang, Y., Sun, G., Zhang, X., Xie, H., Li, W., Tang, J., & Yan, P. (2026). GWAS-based identification of heterosis-associated genes for yield traits in maize testcross populations. *The Crop Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2026.04.008>
- Zeng, Q., Ding, X., Wang, J., Han, X., Iqbal, H. M. N., & Bilal, M. (2022). Insight into soil nitrogen and phosphorus availability and agricultural sustainability by plant growth-promoting rhizobacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(30), 45089–45106. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20399-4>
- Zhang, M., Wu, Z., Huang, L., Shen, X., Wang, K., Hu, Y., Wubulikasimu, B., Qin, Y., Fu, J., Luo, Z., Yang, B., Zhao, X., Wang, X., Qin, F., Bian, C., Zhao, H., Chen, J., Song, W., Wang, Y., & Lai, J. (2026). A genetic module boosts grain yield and nitrogen use efficiency by improving nitrate transport in maize. *Nature Genetics*, 58, 618–629. <https://doi.org/10.1038/s41588-026-02532-y>
- 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. <https://doi.org/10.1038/nature15743>

- Zhao, Q., Wang, J., He, Q., & Yin, H. (2024). Carbon type and quantity regulate soil free-living nitrogen fixation through restructuring diazotrophic community. *Applied Soil Ecology*, 202, Article 105586. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105586>
- Ziegler, K. E. (2001). Popcorn. In A. R. Hallauer (Ed.), *Specialty corns* (2nd ed., pp. 205–233). CRC Press.
- Ziegler, K. E., & Ashman, R. B. (1994). Popcorn. In A. R. Hallauer (Ed.), *Specialty corns* (pp. 189–223). CRC Press.
- Zinsly, J. R., & Machado, J. A. (1978). Milho-pipoca. In E. Paterniani (Ed.), *Melhoramento e produção do milho no Brasil* (pp. 339–348). Fundação Cargill.

APÊNDICES

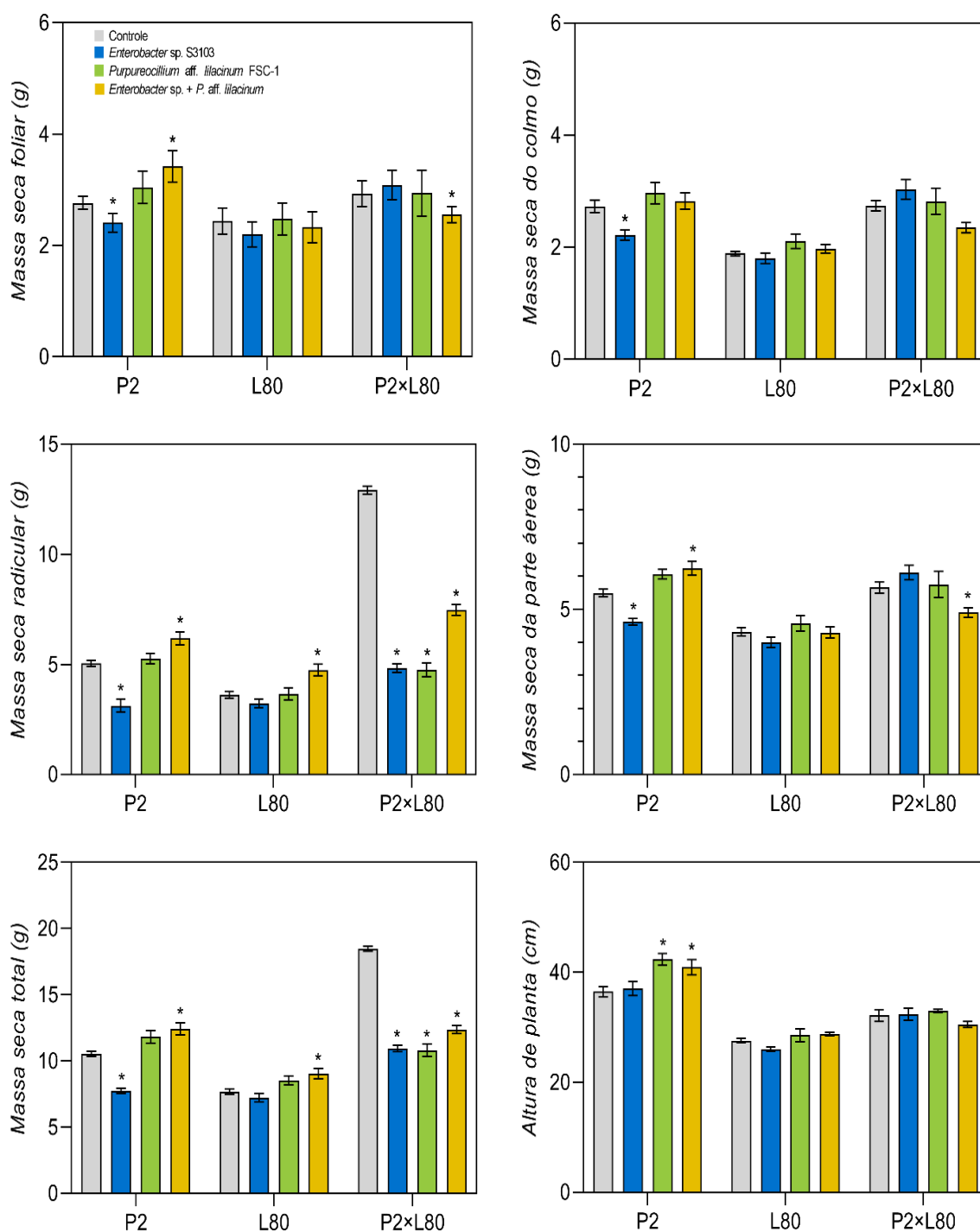


Figura Suplementar 1. Estimativas de médias de características de crescimento de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

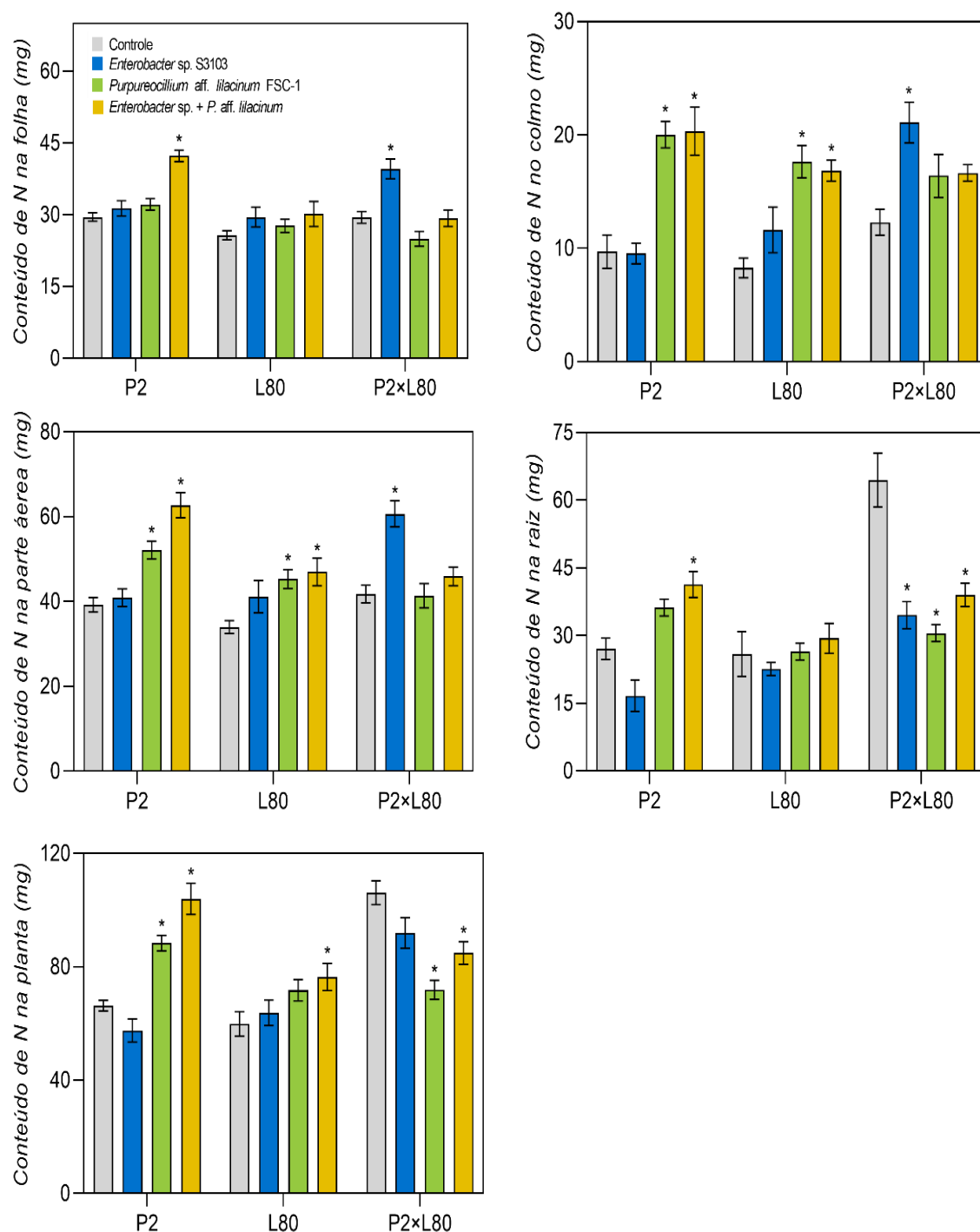


Figura Suplementar 2. Estimativas de médias de conteúdo de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

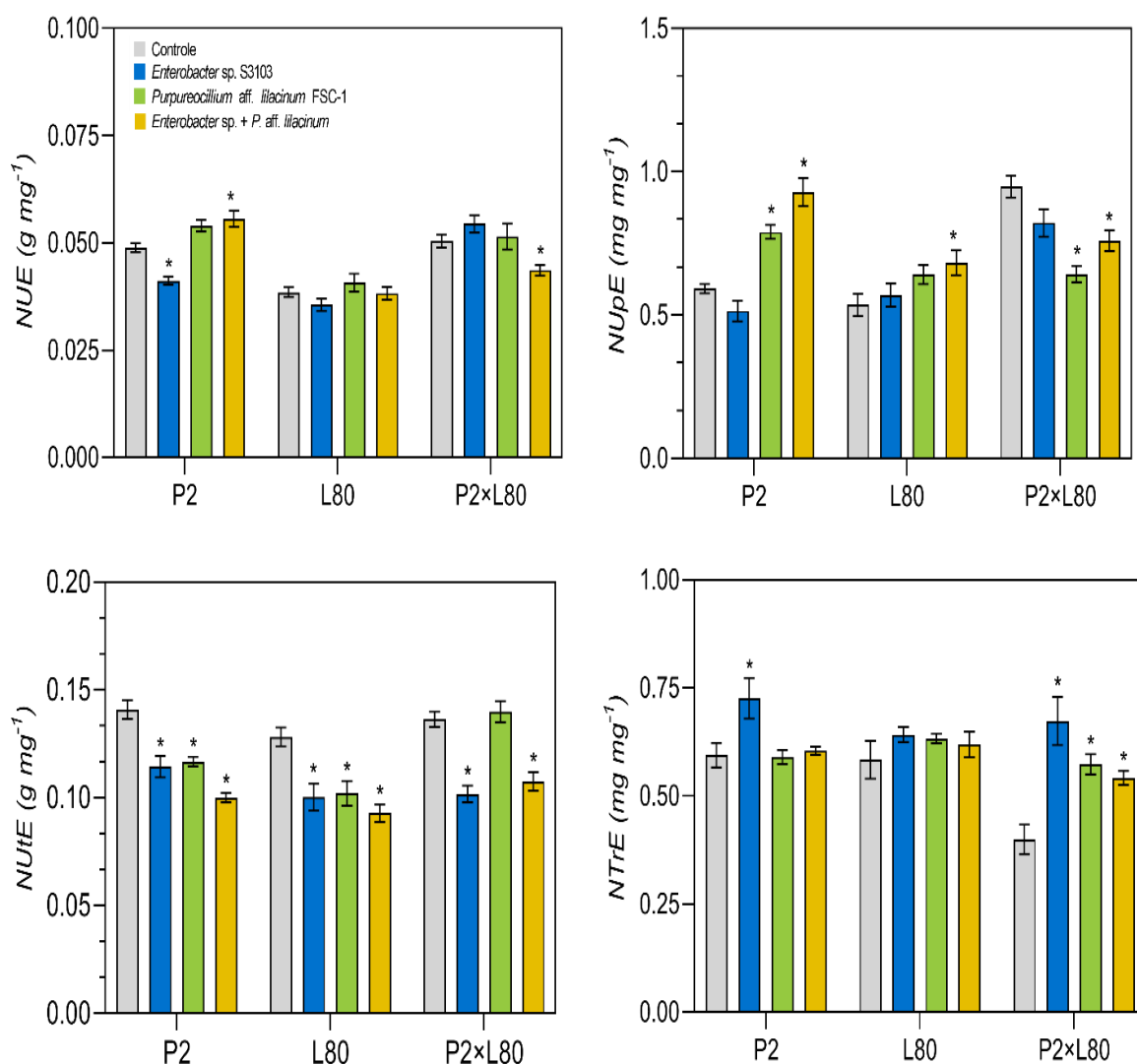


Figura Suplementar 3. Estimativas de médias de eficiência de uso de N de três genótipos de milho-pipoca cultivados sob estresse por baixa disponibilidade de N e submetidos à inoculação com *Enterobacter* sp. S3103, *Purpureocillium* aff. *lilacinum* FSC-1, o consórcio entre ambos e um controle sem inoculação, avaliados no estágio V5, aos 36 DAP, em casa de vegetação. * Diferença significativa em relação ao respectivo controle dentro de cada genótipo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). NUE: Eficiência de uso de N; NUpE: Eficiência de absorção de N; NUtE: Eficiência de utilização de N; NTrE: Eficiência de translocação de N.