



C A P Í T U L O 5

Efeito do estresse hídrico sobre os pigmentos foliares e a densidade

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.946112621015>

Monique de Souza Santos

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Antônio Teixeira do Amaral Junior

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Gabriella Rodrigues Gonçalves

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Uéliton Alves de Oliveira

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Valter Jário de Lima

Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Estadual
Vale do Acaraú – Campus Ibiapaba, São Benedito, Brazil

Talles de Oliveira Santos

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Flávia Nicácio Viana

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Danielle Leal Lamêgo

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e
Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Samuel Pereira da Silva

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e
Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Jardel da Silva Figueiredo

Laboratório de Melhoramento de Plantas, Centro de Ciências e
Tecnologias Agrárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

RESUMO: Este estudo aborda a crescente ameaça da seca às culturas agrícolas, com foco no impacto do estresse hídrico no cultivo de milho-pipoca. Embora cultivares adaptadas tenham sido desenvolvidas, estratégias como a inoculação com *Bacillus cereus* estão sendo exploradas para reforçar a resiliência das plantas ao estresse abiótico. O estudo tem como objetivo avaliar os potenciais benefícios da interação de *B. cereus* nos pigmentos foliares e na densidade estomática de diferentes genótipos de milho-pipoca sob estresse hídrico. Os genótipos foram cultivados em casa de vegetação e inoculados com a rizobactéria *B. cereus* UENF LMS 71 sob déficit hídrico (WS), com imposição do estresse 24 dias após a emergência até que as plantas atingissem 40% da capacidade de campo (CC). Foram analisadas duas linhagens de milho-pipoca (L61 e L76) e seu híbrido (UENF WS01). O experimento seguiu um delineamento de blocos completos casualizados, arranjado em fatorial triplo, combinando condições hídricas, genótipos e tipo de inoculação (controle e inoculado), com três repetições. Os tratamentos foram conduzidos em tubos de PVC contendo 70% de basaplant e 30% de perlita como substrato, e os tratamentos inoculados receberam 1 mL de *B. cereus*. Foram realizadas análises de variância de fatorial simples e testes de médias Tukey 5%. Os resultados demonstraram que a inoculação aumentou os teores de clorofila na L76 em 19,5% e no híbrido em 22,5%, além do índice de balanço de nitrogênio em 39,8%, 42,5% e 26,5%, na linhagem L61, L76 e no híbrido respectivamente. Porém prejudicou os teores de flavonoides na L61 em 20,2%, na L76 em 19,5% e no híbrido em 22,5% e nos teores de antocianinas em 159%, 91,6% e 7,88% na L61, L76 e no híbrido respectivamente. Indicando que *B. cereus* tem potencial para mitigar o estresse hídrico em milho-pipoca e contribuir para o melhoramento genético na busca de genótipos mais tolerantes e eficientes sob estresse hídrico.

PALAVRAS-CHAVE: déficit hídrico, pigmentos foliares, rizobactérias, *Zea mays* L. var. *everta*

Effect of water stress on leaf pigments and stomatal density in different popcorn genotypes inoculated with *Bacillus cereus*

ABSTRACT: This study addresses the increasing threat of drought to agricultural crops, with a focus on the impact of water stress on popcorn maize cultivation. Although adapted cultivars have been developed, strategies such as inoculation with *Bacillus cereus* are being explored to enhance plant resilience to abiotic stress. The objective of this study was to evaluate the potential benefits of the interaction with *B. cereus* on leaf pigments and stomatal density in different popcorn maize genotypes under water stress. The genotypes were grown under greenhouse conditions and inoculated with the rhizobacterium *B. cereus* UENF LMS 71 under water deficit (WS), with stress imposed 24 days after emergence until plants reached 40% of field capacity (FC). Two popcorn maize inbred lines (L61 and L76) and their hybrid (UENF WS01) were evaluated. The experiment followed a randomized complete block design arranged in a triple factorial scheme, combining water conditions, genotypes, and inoculation type (control and inoculated), with three replications. Treatments were conducted in PVC tubes containing a substrate composed of 70% Basaplant and 30% perlite, and inoculated treatments received 1 mL of *B. cereus*. Simple factorial analysis of variance and Tukey's test at the 5% probability level were performed. The results demonstrated that inoculation increased chlorophyll content by 19,5% in L76 and by 22,5% in the hybrid, as well as the nitrogen balance index by 39,8%, 42,5%, and 26,5% in L61, L76, and the hybrid, respectively. However, inoculation reduced flavonoid content by 20,2% in L61, 19,5% in L76, and 22,5% in the hybrid, and anthocyanin content by 159%, 91,6%, and 7,88% in L61, L76, and the hybrid, respectively. These results indicate that *Bacillus cereus* has the potential to mitigate water stress in popcorn maize and to contribute to plant breeding efforts aimed at identifying more tolerant and efficient genotypes under water-limited conditions.

KEYWORDS: water deficit, leaf pigments, rhizobacteria, *Zea mays* L. var. *everta*

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm intensificado o aumento das temperaturas e a irregularidade das chuvas, com sérios impactos sobre as lavouras (SCHIMITT *et al.*, 2024). No Brasil, a vulnerabilidade é maior, pois o milho-pipoca é cultivado principalmente na segunda safra, período de baixa disponibilidade hídrica (SILVA *et al.*, 2025). Apesar de sua importância econômica e cultural (KAMPHORST *et al.*,

2021), apenas uma cultivar híbrida apresenta adaptação reconhecida à seca (LIMA *et al.*, 2021), sendo que reduções superiores a 50% na produtividade já foram relatadas em ambientes tropicais (LEITE *et al.*, 2022).

A produtividade é afetada por ocorrer diversas alterações no funcionamento bioquímico, morfológico, molecular e fisiológico das plantas, desencadeando estresses oxidativos, osmóticos e iônicos (AZEEM *et al.*, 2022; CHIEB *et al.*, 2023). Dentre as mudanças fisiológicas provocadas pelo déficit hídrico, a primeira resposta está relacionada com os estômatos, como o fechamento estomático, seguido de outros efeitos como redução da taxa fotossintética (CRUZ *et al.*, 2023), e de pigmentos foliares como clorofila e balanço de nitrogênio (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Por isso, desenvolver cultivares adaptadas ao estresse é essencial, entretanto, estratégias de manejo para melhorar a tolerância de culturas a estresses abióticos têm se destacado, sendo eficazes para aprimorar o rendimento em condições adversas (BELA *et al.*, 2023; HERNÁNDEZ-CANSECO *et al.*, 2022). O foco tem sido no aprimoramento da adaptabilidade das plantas à seca, utilizando microrganismos como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR), reconhecidas por fortalecer a produtividade e resistência ao estresse abiótico nas culturas (MEDDICH *et al.*, 2023).

Entre os endófitos identificados, o gênero *Bacillus* emergiu como um dos principais protagonistas, demonstrando ampla distribuição em diversas espécies vegetais e destacando-se por suas capacidades de promoção do crescimento e biocontrole (ZOU *et al.*, 2023). Estudos mostram que cepas de *B. cereus* promovem eficazmente o crescimento das plantas, não apenas em condições normais, mas também sob estresse ambiental (LIU *et al.*, 2023).

As BPCV, habitantes da rizosfera ou do interior das plantas, possuem diversos mecanismos que conferem tolerância ao estresse hídrico. Estes incluem a produção de fitohormônios, compostos orgânicos voláteis, enzima ACC deaminase, osmólitos, exopolissacarídeos, sideróforos, formação de biofilme, metabolismo antioxidante e desenvolvimento radicular (REZENDE *et al.*, 2021; GOMES *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o objetivo da pesquisa foi avaliar os potenciais benefícios da interação de *B. cereus* nos pigmentos foliares e na densidade estomática de diferentes genótipos de milho-pipoca sob estresse hídrico, contribuindo para identificação de genótipos resilientes ao déficit hídrico e para os programas de melhoramento genético que buscam melhor adaptação das plantas a esse estresse.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Duas linhagens (S_7) de milho-pipoca L61 e L76 e seu híbrido simples UENF WS01 foram cultivados em casa de vegetação. As linhagens foram avaliadas anteriormente por KAMPHORST *et al.* (2018) e cada uma foi classificada como susceptível ou tolerante ao déficit hídrico. Já o híbrido simples foi obtido através do estudo de LIMA *et al.* (2019) e é classificado como tolerante ao déficit hídrico, tendo sido registrado no Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), nº de registro 46965, com denominação de "UENF WS01" (LIMA *et al.*, 2021).

Seleção da bactéria e preparação do inóculo

A cepa bacteriana UENF LMS 71 é proveniente do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Para a obtenção do inóculo da bactéria *B. cereus*, a cepa bacteriana foi inoculada através de plaqueamento, em placas de Petri, com meio sólido DYGS (Dextrose Yeast Glucose Sucrose), utilizando uma alça de platina calibrada. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas por três dias na estufa a uma temperatura de 30°C, conforme a metodologia de DOBEREINER, BALDANI E BALDANI. (1995) e AMARAL *et al.* (2022).

O pré-inóculo foi obtido em meio líquido DYGS, com o auxílio de uma alça bacteriológica foi transferido uma colônia de bactéria da Placa de Petri para um tubo de ensaio. A bactéria foi agitada por 24 horas a 30°C em 180 rpm em um agitador orbital. O inóculo foi preparado com 150 μ L do pré-inóculo em 100 mL de DYGS, mantido nas mesmas condições. Após 24 horas, a leitura de densidade óptica foi realizada a 600 nm, em espectrofotômetro, para alcançar uma concentração de $1,8 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹).

Preparo das sementes

As sementes das linhagens L76, L61 e seu híbrido UENF WS01 foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% durante 3 minutos, depois foram imersas em álcool 70% durante 2 minutos. Após serem lavadas com água destilada e desinfestadas, as sementes foram embebidas em água destilada por 5 horas. Na pré-germinação, as sementes foram colocadas sobre papéis germitest (CIENLAB, Campinas, São Paulo, Brasil) umedecidos e levadas à câmara de germinação BOD a 30°C por 24 horas. Após a germinadas, as sementes foram semeadas, e 1 mL da bactéria UENF LMS 71 foi aplicado em cada semente que seria inoculada.

Condições de crescimento e experimentais

O experimento foi realizado em casa de vegetação na UENF, situada na Unidade de Apoio Experimental, em Campos dos Goytacazes – RJ (Latitude: 21° 45' 16" S, Longitude: 41° 19' 28" O, 17 m acima do nível do mar). O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados em fatorial simples, combinando genótipos (L61, L76 e UENF WS01) e tipo de inoculação (com e sem), com três repetições. Foram utilizados tubos de PVC com 10 cm de diâmetro e 1,50 m com substrato, no qual foram 70% de substrato comercial Basaplant e 30% de perlita. Foi aplicado 1 mL do inóculo com a bactéria LMS 71 sobre as sementes dos tubos com bactéria (tratamento), enquanto os tubos sem bactérias (controle) receberam 1 mL do meio branco (não inoculado).

Foi utilizada solução nutritiva de HOAGLAND e ARNON (1950), meia força, via irrigação, todos os dias até o final do experimento (69 dias após o plantio), de acordo com a demanda da planta e a capacidade de água no substrato do tubo. Os genótipos inoculados e não inoculados foram expostos a condição de déficit hídrico do solo (WS) que foi imposto por meio da suspensão da irrigação, aos 24 dias após o plantio (DAP). Após 15 dias da suspensão da irrigação, os tubos foram baixando o potencial hídrico aos poucos e chegaram a 40% da sua capacidade de retenção de água no substrato, e permaneceram nessa condição por mais 29 dias.

Para estimar a capacidade de campo, o substrato de cada tubo foi regado com água em abundância e deixado por 72 horas sob percolação para que fosse drenado o excesso. No mesmo tempo, amostras do substrato foram secas em estufa a 70°C por 72 horas. A capacidade de cada tubo foi estimada pela diferença entre o peso molhado (após drenagem do excesso) e o substrato seco (antes da saturação). Os tubos foram pesados e irrigados em intervalos de 2 dias para manter a respectiva capacidade. O peso das plantas foi desconsiderado do cálculo da capacidade de água dos tubos.

Ao longo do experimento, foram medidos a temperatura, a umidade relativa do ambiente e a radiação fotossintética ativa, com o auxílio da miniestação experimental WatchDog (A-Series Loggers, Spectrum Technologies Inc., Aurora, EUA).

Durante o experimento, a temperatura (°C) média por dia variou de 23,76 a 31,97 e a umidade relativa do ar (%) de 46,60 a 93,80 e radiação fotossintética ativa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) teve uma máxima de 423,08 e mínima de 71 (Figura 1).

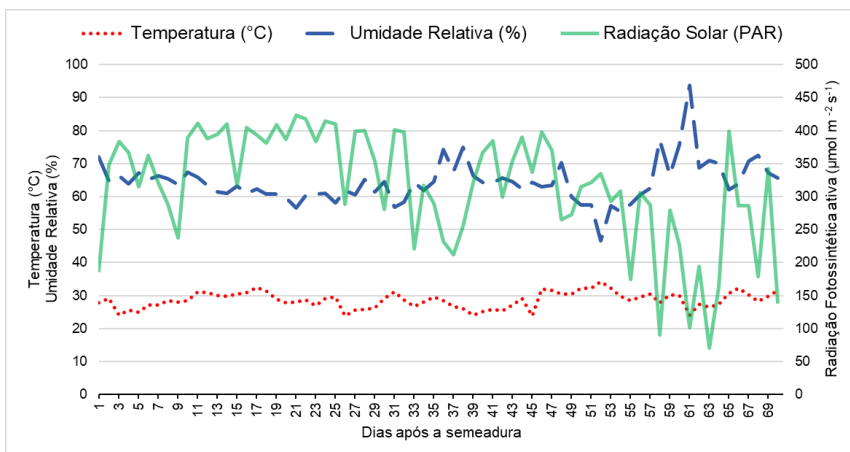


Figura 1. Gráfico de temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar. Condições experimentais entre 1 e 69 dias após a semeadura de três genótipos de milho-pipoca contrastantes para tolerância à seca (L61 e L76), e seu híbrido (UENF WS01) submetidos à duas condições de inoculação da bactéria *B. cereus* (controle e inoculado). No gráfico médias de temperaturas (°C), umidade relativa (%) e radiação fotossintética ativa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) são mostradas ao longo dos dias após semeadura.

Durante as avaliações, a radiação fotossinteticamente ativa foi fixada em $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a umidade relativa esteve entre 55% e 60% e a temperatura foi de 25°C , a concentração de CO_2 foi de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$.

CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

Avaliações de pigmentos foliares e densidade estomática

Os pigmentos foliares foram medidos no terço médio da última folha desenvolvida por completo. Em se tratando dos pigmentos foliares, o teor relativo de clorofila (Chl – $\mu\text{g cm}^{-2}$), antocianinas (Anth – $\mu\text{g cm}^{-2}$), e de flavonoides (Flv – $\mu\text{g cm}^{-2}$) bem como o índice do balanço de nitrogênio (NBI – $\mu\text{g cm}^{-2}$) foram obtidos por meio do medidor portátil Dualex® (modelo FORCE-A, Orsay, France).

Em se tratando da contagem dos estômatos, cerca de 1 cm^2 da face epidérmica adaxial e abaxial do terço-médio da última folha desenvolvida, especificamente entre a nervura central e a extremidade, foi coberta com esmalte de unha transparente e, após secagem por 10 min, a camada de esmalte seca foi removida com fita adesiva e transferida para uma lâmina de vidro. A contagem do número de estômatos (e) foi realizada em câmera microscópica digital (Moticam A5, 5MP Live Resolution, Motic, Barcelona, Catalunha, Espanha), com lente objetiva de 40 x. Cada réplica foliar

(adaxial e abaxial) foi contada em três campos do microscópio. As densidades dos estômatos abaxial e adaxial (DSAB e DSAD, estômatos em mm^{-2}) foram calculadas pela equação: , de modo que, é o número de estômatos, $0,63 \text{ mm}^{-2}$ é a área de superfície do microscópio, e o raio é $0,22 \text{ mm}$.

Cálculos das diferenças percentuais entre condições

As diferenças percentuais (%) de cada característica, considerando a comparação entre os tipos de inoculação (tratamento e controle) foram determinadas utilizando a seguinte fórmula: em que: representa a média geral da característica na condição de inoculação com *B. cereus*; e a média geral da característica na condição de controle (sem inoculação).

Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância de fatorial simples e testes de médias Tukey 5%. As fontes de variação de genótipo (G) e tipo de inoculação (com ou sem bactéria) (T) e suas interações foram analisadas por meio de análise de variância fatorial, com o suporte do programa computacional Prism GraphPad (versão 9.0.0, Insightful Science, Califórnia, EUA).

As análises de variância fatorial foram calculadas pela seguinte fórmula: $Y_{ijk} = \mu + G_i + B / A_{jk} + A_j + G_{aj} + \epsilon_{ijk}$. Sendo: Y_{ijk} = à observação do i-ésimo genótipo, no j-ésimo tipo de inoculação e no j-ésimo bloco; μ = constante geral; G_i : efeito fixo do i-ésimo genótipo; B / A_{jk} = é o efeito do k-ésimo bloco no j-ésimo ambiente; A_j = o efeito fixo do j-ésimo ambiente; G_{aj} = o efeito fixo da interação entre o i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente; e ϵ_{ijk} = erro aleatório experimental médio associado à observação Y_{ijk} , sendo NID (0, σ^2).

As significâncias utilizadas foram: $<0,0001\%$ (****), $0,0002\%$ (***), $0,002\%$ (**), $0,05\%$ (*) e não significativo (ns). O teste de média Tukey 5% foi realizado para cada uma das características dos genótipos de milho-pipoca.

RESULTADOS

Impactos da inoculação sobre o conteúdo de pigmentos foliares e Densidade estomática

Para a análise de variância conjunta, os efeitos de genótipo e da inoculação apresentaram diferenças significativas para todas as características de conteúdo de pigmentos foliares e densidades estomáticas. A interação genótipos x inoculação

(L*WC) foi significativa para os teores de antocianinas e flavonoides, além da densidade estomática abaxial e adaxial (Figura 2).

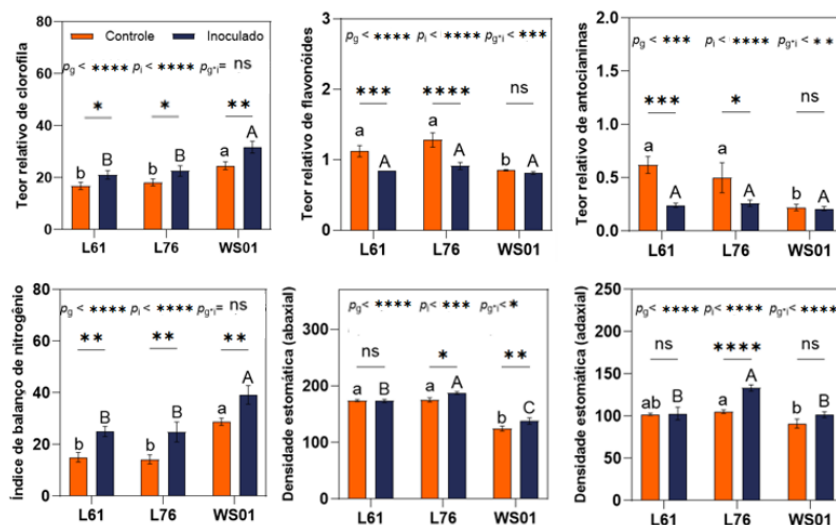


Figura 2. Médias e desvio-padrão de pigmentos fotossintéticos e densidade estomática de genótipos contrastantes de milho-pipoca no déficit hídrico. Características relacionadas ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos e densidade estomática avaliadas nas folhas de duas linhagens de milho-pipoca contrastantes para tolerância à seca (sendo L61 sensível e L76, tolerante) e seu híbrido (UENF WS01), submetidas ao estresse hídrico em duas condições de inoculação da bactéria *B. cereus*, no estágio de florescimento (R1), em casa de vegetação. Genótipos seguidos de letra maiúscula correspondem aos tratamentos inoculados, e genótipos seguidos de letras minúsculas correspondem aos tratamentos controle. Genótipos seguidos por letras iguais não diferem para as condições e genótipos seguidos por letras diferentes diferem para as condições. Os *p* valores são referentes a análise de variância conjunta, considerando os fatores genótipos (*p_g*), inoculação (*p_i*) e sua interação (*p_{g*i*}*). Significância a <0,0001% (****), 0,0002% (***), 0,002% (**), 0,05% (*) e não significativo (ns) correspondem a significância de cada genótipo na comparação entre as duas condições de inoculação avaliadas. As letras são referentes ao teste de média para genótipos dentro de cada condição de inóculo, genótipos seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na análise de variância individual, todas as características apresentaram diferença significativa na condição controle. Todavia, na condição inoculada todas as características apresentaram diferenças significativas, exceto teores de antocianinas e flavonoides (Figura 2). Ao comparar os genótipos dentro das condições avaliadas, o híbrido UENF WS01 apresentou a melhor média para teor de clorofila e índice de balanço de nitrogênio em ambas as condições. Por outro lado, as linhagens L61 e L76 apresentaram valores estatisticamente superiores ao híbrido para teor de flavonoides, antocianinas, densidade estomática abaxial e densidade estomática

adaxial na condição controle. Na condição inoculada, a linhagem L76 apresentou melhores médias que os demais genótipos para a densidade estomática abaxial e adaxial (Figura 2). Além disso, a linhagem L61 apresentou melhor média que o híbrido UENF WS01 para a densidade estomática abaxial.

Avaliando as diferenças entre condições de inoculação, foram identificadas variações significativas no híbrido UENF WS01 para as características teor clorofila, índice de balanço de nitrogênio e densidade estomática abaxial, com aumentos de 22,5%, 26,5% e 9,5%, respectivamente, devido à inoculação (Tabela 1). A linhagem L61 apresentou diferenças significativas entre as condições para todos os pigmentos foliares, sendo que a inoculação com *B. cereus* proporcionou aumento de 20,2% no teor clorofila e 39,8% no índice de balanço de nitrogênio, além de redução de 33,4% no teor de flavonoides e 159,8% no teor de antocianina (Tabela 1). A linhagem L76 apresentou diferenças significativas para todas as características. Nesta linhagem, a inoculação com *B. cereus* proporcionou aumento de 19,5% no teor clorofila, de 42,5% no índice de balanço de nitrogênio, de 6,5% na densidade dos estômatos abaxial e de 21% densidade dos estômatos adaxial, além de redução de 39,9% no teor de flavonoides e 91,6% no teor de antocianinas (Tabela 1).

Características	Média WSC			Médias WSI			Reduções/Aumentos%		
	L61	L76	WS01	L61	L76	WS01	L61	L76	WS01
Características fisiológicas									
Chl (ug cm ⁻²)	16,7	18,0	24,5	21,0	22,4	22,6	-20,2	19,5	22,5
Flav (ug cm ⁻²)	1,12	1,28	0,85	0,84	0,91	0,87	-33,4	-39,8	-5,19
Anth (ug cm ⁻²)	0,62	0,5	0,22	0,24	0,26	0,24	-159	-91,6	-7,88
NBI (ug cm ⁻²)	15,0	14,2	28,8	25,0	24,8	26,2	39,8	42,5	26,5
DSAB (mm ⁻²)	173	175	124	173	187	161	-0,37	6,50	9,52
DSAD (mm ⁻²)	102	105	91,2	103	133	109	0,88	21,0	10,2

Reduções/Aumentos%: diferenças percentuais do ambiente controle e inoculado, WSC: estresse hídrico controle, WSI: estresse hídrico inoculado, Chl: clorofila (ug cm⁻²), Flav: flavonoides (ug cm⁻²), Anth: antocianinas (ug cm⁻²), NBI: balanço de nitrogênio (ug cm⁻²), DSAB: densidade estomática abaxial (mm⁻²), DSAD: densidade adaxial (mm⁻²).

Tabela 1: Estimativas de médias e reduções/aumentos dos genótipos de milho-pipoca L61, L76 e seu híbrido UENF WS01 em estresse hídrico na condição controle, sem *Bacillus cereus* e na condição inoculada, com *Bacillus cereus* medida aos 69 dias após o plantio.

DISCUSSÃO

Alterações no teor relativo de pigmentos foliares e na densidade estomática como resposta à inoculação com *B. cereus*

Os resultados deste estudo fornecem uma visão abrangente sobre os efeitos da inoculação com *B. cereus* no conteúdo de pigmentos foliares e densidade estomática de diferentes genótipos de milho-pipoca sob condições de déficit hídrico.

Estresses abióticos, como a limitação hídrica, provocam um desbalanço químico nas plantas, resultando na degradação de pigmentos foliares como a clorofila e na produção de pigmentos fotoprotetores acessórios, como flavonoides e antocianinas (FAROOQ *et al.*, 2024). Em condições de limitação de água, ocorre o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que causam desequilíbrio na quantidade de pigmentos fotossintéticos nos tecidos foliares (HUSSAIN *et al.*, 2018; NOCTOR, REICHELDE e FOYER, 2018).

As clorofilas são pigmentos essenciais no processo de fotossíntese, pois desempenham o papel de absorver e converter a luz solar em energia (ATP e NADPH) para as plantas (SARWAR e SHABAZ, 2020). Já os pigmentos acessórios atuam em diversos processos bioquímicos nas plantas como na sinalização de estresses bióticos e abióticos, além de atuarem na redução de danos oxidativos, sendo bem documentada sua importância no processo de eliminação de EROs (JAN *et al.*, 2023; AGLAVE e BARUAH, 2023; ALTAF *et al.*, 2024) e atuação na resposta subjacente a tolerância à seca (HASANUZAMMAN *et al.*, 2019; LAXA *et al.*, 2019; CERQUEIRA *et al.*, 2023).

A análise de variância conjunta mostrou que tanto o genótipo quanto a inoculação com *B. cereus* apresentaram diferenças significativas para todas as características de conteúdo de pigmentos foliares. A interação genótipos x inoculação foi significativa para os teores de antocianinas e flavonoides. Esses resultados estão em conformidade com estudos anteriores que demonstram a capacidade de microrganismos promotores de crescimento, como *Bacillus spp.*, de alterar os níveis de pigmentos foliares e melhorar a eficiência fotossintética sob estresse hídrico. Por exemplo, ASWHATY *et al.* (2017) e RASHID *et al.* (2022) relataram que a inoculação com *Bacillus* pode aumentar o teor de clorofila e a atividade fotossintética em várias culturas melhorando assim a tolerância ao estresse hídrico.

Observou-se que a inoculação com *B. cereus* provocou um aumento substancial no conteúdo relativo de clorofila em todos os genótipos. A redução na produção de pigmentos fotoprotetores, como flavonoides e antocianinas pode indicar maiores danos oxidativos causado pelo excesso de luz, visto que, esses pigmentos quando

altos protegem as plantas das espécies reativas de oxigênio (TROJAK e SKOWRON, 2017). Notou-se uma redução no teor de flavonoides e antocianinas nas linhagens sensível (L61) e tolerante (L76) quando inoculadas com *B. cereus*, enquanto o híbrido aumentou a clorofila e manteve os níveis de pigmentos fotoprotetores mais estáveis.

Desta forma, o híbrido apresentou menores danos à maquinaria fotossintética em comparação com as linhagens quando inoculado com *B. cereus*, uma vez que os pigmentos acessórios contribuem para a capacidade de eliminação de EROs, protegendo a maquinaria celular contra danos oxidativos (ARAÚJO *et al.*, 2023). Por consequência, há uma melhor preservação do sistema fotossintético e dos componentes celulares, o que resulta em uma maior capacidade de se reduzir os efeitos nocivos do déficit hídrico em comparação com as linhagens (DABRAVOLKI *et al.*, 2023).

A densidade estomática é um parâmetro fisiológico importante que influencia diretamente a transpiração e a troca gasosa nas plantas (HASANUZZAMAN, ZHOU e SHABALA, 2023). A análise mostrou que a inoculação com *B. cereus* afetou significativamente a densidade estomática abaxial e adaxial, especialmente na linhagem L76, que apresentou aumentos significativos na densidade estomática sob condição inoculada. Esses achados sugerem que *B. cereus* pode influenciar a abertura e a densidade dos estômatos, possivelmente modulando a resposta das plantas ao déficit hídrico.

A homeostase da densidade estomática e da abertura e do fechamento dos estômatos podem ajudar as plantas a equilibrarem a perda de água com a necessidade de CO₂ para a fotossíntese, contribuindo para uma melhor adaptação ao estresse hídrico (HASANUZZAMAN *et al.*, 2019). Os fatores estomáticos não parecem ter contribuído substancialmente para a fotossíntese, mas sem dúvidas, foram cruciais para o aumento da transpiração, concentração interna de CO₂ e condutância estomática após a inoculação com *B. cereus* no híbrido UENF WS01.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a inoculação promoveu aumento nos teores de clorofila, no índice de balanço de nitrogênio e na densidade estomática adaxial de todos os genótipos avaliados. Esses resultados indicam que a inoculação com *B. cereus* pode ser uma estratégia eficaz para aumentar a tolerância dos genótipos, o que tem importantes implicações para a agricultura em regiões vulneráveis à escassez de água.

REFERÊNCIAS

- AGLAVE, R.H.; BARUAH, S. **Advanced Botany**: Antioxidants in plants, Edição.5, India: AkiNik, 2023.
- ALTAF, M.M.; ASHAF, S.; KHALOFAH, A.; KHAN, N.Q.N.; ANWAR, M. Melatonin foliar application promoted anthocyanin accumulation boosted reactive oxygen scavenging by upregulating the key enzymes activities and genes expression of anthocyanin biosynthesis pathway in green and purple mustard under vanadium stress. **Scientia Horticulturae**, v.331, may. 2024.
- AMARAL, M. B.; RIBEIRO, T. G.; ALVES, G. C.; COELHO, M. R. R.; MATTA, F. de P.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. The occurrence of rhizobacteria from Paspalum genotypes and their effects on plant growth. **Scientia Agricola**, 79. Piracicaba, Braz.v.79, n.2, 2022.
- ARAÚJO, J.L, MESQUITA, A. J., ROCHA, R.H.C., SANTOS, J.Z.L., SANTOS, B. R., COSTA, F.M.N., LIMA, G.S., FREITAS, L.N., LIMA, A.S., NOGUEIRA, A.E.P., SILVA, R.A.A., SANTOS, C.L., NETO, B.F., SÁ, S.V.F. Microrganismos benéficos afetam a atividade microbiológica do solo e a produtividade do milho sob irrigação deficitária. **Agricultura**, v.13, n.6, p.1169, 2023
- ASWATHY, K.; SRIDAR, R.; SIVAKUMAR, U. Mitigation of drought in rice by a phyllosphere bacterium *Bacillus altitudinis* FD48. **African Journal of Microbiology Research**, v.11, n.45, p.1614-1625, dec. 2017.
- AZEEM, M., HAIDER, Z.M., JAVED, S., SALEEM, H.M., ALATAWI, A. Drought Stress Amelioration in Maize (*Zea mays* L.) by Inoculation of *Bacillus* spp. Strains under Sterile Soil Conditions. **Agriculture**, v.12, n. 50, 2022.
- BELA, K. Crop Tolerance under Biotic and Abiotic Stresses. **Agronomy**, v.13, n.12, p. 3024, 2023.
- CERQUEIRA, J.V.A.; ANDRADE, M.T.; RAFAEL, D.D.; ZHU, F.; MARTINS, S.V.C.M.; NUNES-NESI, A.; BENEDITO, V.; FERNIE, R.A.; ZSOGON, A. Anthocyanins and reactive oxygen species: a team of rivals regulating plant development? **Plant Mol Biol**, v. 112, n. 4-5, p.213-223, jun. 2023.
- CHIEB, M., GACHOMO, E.W. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. **BMC Plant Biology**, v.23, n.407, 2023.
- CRUZ, T.N., PORTO, V.M.E., RAMOS, P.L.B., SANTOS, P.H., SEIXAS, A.A., SANTOS, S.P.A. Estresse hídrico em plantas forrageiras: Uma breve revisão, **Revista Científica Rural**, v.25, n.1, 2023.
- DABRAVOLKI, S.A. T. The role of anthocyanins in plant tolerance to drought and salt stresses. **Plants**, v.12, n.13, jul. 2023.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, p.60, 1995.

FAROOQ, M. Tolerance against combined drought and heat stresses in wheat landraces of Omani origin: morphological, physiological, biochemical, and grain yield assessment. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.23, p. 6034–6047, 2023. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01462-6>

GOMES, A.E.; LANA, P.G.U.; ALVES, C.M.V.; OLIVEIRA-PAIVA, A.C.; GODINHO, V.T.B.; SOUSA, M.S. Mecanismos das bactérias promotoras do crescimento de plantas na mitigação dos efeitos do déficit hídrico. **Embrapa**. Minas Gerais, jun. 2022.

HASANUZZAMAN, M.; ANEE, T.; PARVIN, K.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Regulation of the ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants**, v.8, p. 384, 2019.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; KHAN, M.I.R.; MAHAMUD, A.J. Regulation of Reactive Oxygen Species Metabolism and Glyoxalase Systems by Exogenous Osmolytes Confers Thermotolerance in *Brassica napus*. **Gesunde Pflanzen**, v.72, n.1, jul. 2019.

HASANUZZAMAN, M.; ZHOU, M.; SHABALA, S. How Does Stomatal Density and Residual Transpiration Contribute to Osmotic Stress Tolerance? **Plants**, v.12, n.3, p.494, 2023.

HERNÁNDEZ-CANSECO, J., BATISTA-CRUZ, A., SÁNCHEZ-MENDOZA, S., AQUINO-BOLAÑOS, T., SÁNCHEZ-MEDINA, S. P. Plant growth-promoting halobacteria and their ability to protect crops from abiotic stress: an eco-friendly alternative for saline soils. **Agronomy**, v.12, n. 804, 2022. doi:10.3390/agronomy12040804.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.L. **The water culture method for growing plants without soils**, 1950.

HUSSAIN, H.A. Chilling and drought stresses in crop plants: Implications, cross talk and potential managements opportunities. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 393, 2018.

JAN, R.; ASIF, S.; ASAF, S.; DU, X.X.; PARK, J.R.; NARI, K.; BHATTA, D.; LEE, I.J.; KI, K.M. Melatonin alleviates arsenic (As) toxicity in rice plants via modulating antioxidant defense system and secondary metabolites and reducing oxidative stress. **Environmental Pollution**, v.318, feb. 2023.

KAMPHORST, S.H., LIMA, V.J., JUNIOR, A.T.A., SCHMITT, M.F.K., LEITE, J.T., CARVALHO, C.M., SILVA, R.M.R., XAVIER, K.B., FERREIRA, A.R.F., SANTOS, D.A.H.P., CAMPOSTRINI, E. Popcorn breeding for water-stress tolerance or for agronomic water-use efficiency? **Genetics and Molecular Research**, v.17, n.4, 18184, 2018.

KAMPHORST, S. H., JUNIOR, A.T.A., LIMA, J.V., CARENA, J.M., AZEREDO, C. V., MAFRA, S.G., SANTOS, D.A.H.P., LEITE, T.J., SCHMITT, M.F.K., JUNIOR, S.R.D., BISPO, B.R., SANTOS, O.T., OLIVEIRA, A.U., PEREIRA, L.J., LAMÊGO, L.D., CARVALHO, M.C., GOMES, P.L., SILVA, S.G.J., CAMPOSTRINI, E. Driving Sustainable Popcorn Breeding for Drought Tolerance in Brazil. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 732285, 2021.

LAXA, M.; LIEBTHAL, M.; TELMAN, W.; CHIBANI, K.; DIETZ, K.J. O papel do sistema antioxidante das plantas na tolerância à seca. **Antioxidantes**, v. 8, n.94, 2019.

LEITE, J. T., JÚNIOR, A.T.A., KAMPHORST, H.S., LIMA, J.V., JÚNIOR, S.R.D., OLIVEIRA, A.U., AZEREDO, C. V., PEREIRA, L.J., BISPO, B.R., SCHMITT, M.F.K., VIANA, N.F., VIANA, P.A., VIERA, D.H., RAMOS, C.C.H., RIBEIRO, M. R., CAMPOSTRINI, E. All are in a drought, but some stand out: multivariate analysis in the selection of agronomic efficient popcorn genotypes. **Plants**, v.11, n.17, p. 2275, 2022.

LI, L. L., GU, R.W., LI.F.C., LI, H.W., CHEN, X.C., ZHANG, L.G., WEI, S. Dual application of ethephon and DCPTA increases maize yield and stalk strength. **Agronomy Journal**, v.111, n.2, p.612–627, 2019.

LIMA, B.C., MORO, L.A., PACHECO, C.A., BONIFACIO, A., ARAÚJO, F.S.A. ARAÚJO, F.F. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean. **Journal of Plant Interactions**, v.14, p. 432-439, 2019.

LIMA, V. J, JÚNIOR, A. T. A., KAMPHORST, H. S., SANTOS, A., SCHMIDT, M. F. K., AZEREDO, C. V., LEITE, T. J., JUNIOR, S. R. D., SANTOS, O. T., BISPO, B. R., CARVALHO, M. C., SOUZA, P. Y., OLIVEIRA, T. F., CHAVES, M. M., OLIVEIRA, A. U., MAFRA, S. G., SANTOS, D. A. H. P. UENF WS01: popcorn hybrid with water use efficiency for the State of Rio de Janeiro. **Crop breeding and applied biotechnology**, v.21, n.04, e375821411, 2021.

LIU, F., MA, H., LIU, B., DU, Z., MA, B., JING, D. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the physioecological characteristics and growth of walnut seedlings under drought stress. **Agronomy**, v.13, n.2, p.290, 2023.

MAHREEN, N., YASMIN, S., ASIF, M., YAHYA, M., EJAZ, K., HAHMAN, M., YOUSAF, S., AMIN, I., ZULFIQAR, S., IMRAN, A., KHALIQ, S., ARIF, M. Mitigation of water scarcity with sustained growth of Rice by plant growth promoting bacteria. **Frontiers in Plant Science**, v.14, 1081537, 2023.

MEDDICH, A. Biostimulants for resilient agriculture - improving plant tolerance to abiotic stress: a concise review. **Gesunde Pflanzen**, v.75, n.4, p.709-727, 2023.

NOCTOR, G.; REICHHELD, J.P.; FOYER, C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 80, p. 3–12, aug. 2018.

OLIVEIRA, A.U., JUNIOR, A.T.A., KAMPHORST, H.S., LIMA, J.V., OLIVARES, L.F., KHAN, S., SANTOS, S.M., FIGUEIREDO, S.J., SILVA, P.S., VIANA, N.F., SANTOS, O.T., GONÇALVES, R.G., CAMPOSTRINI, E., VIANA, P.A., MORA-POBLETE, F. *Bacillus cereus*: an ally against drought in popcorn cultivation, **Microorganisms**, v.12, n.11, 2351, 2024.

PRAVEEN, A., DUBEY, S., SINGH, S., SHARMA, K.V. Abiotic stress tolerance in plants: a fascinating action of defense mechanisms. **Biotech**, v.13, n.3, p. 102, 2023.

RASHID, U.; YASMIN, H.; HASSAN, N.M.; NAZ, R.; NOSHEEN, A.; SAJJAD, N.; IIYAS, N.; KEYANI, R.; JABEEN, Z.; MUMTAZ, S.; ALYEMENI, N.M.; AHMAD, P. Drought-tolerant *Bacillus megaterium* isolated from semi-arid conditions induces systemic tolerance of wheat under drought conditions, **Plant cell reports**, v.41, n.3, p.549-569, 2022.

REZENDE, C.C.; SILVA, A.M.; NASCENTE, S.A.; REZENDE, C.C.; FRASCA, M.L.L.; FILIPPI, C.C.M.; LANNA, C.A.; FERREIRA, B.P.E.; CRUZ, C.R.D.; LACERDA, C.M.; FERREIRA, S.A.E. Multifunctional rhizobacteria: use in agriculture. **Research, Society and Development**, v.11, n.4, 2022.

SANTOS, T. O., JÚNIOR, A.T.A., BISPO, B.R., LIMA, J.V., KAMPHORST, H.S., LEITE, T.J., JÚNIOR, S.R.D., SANTOS, D.A.H.P., OLIVEIRA, A.U., SCHMITT, M.F.K., CAMPOSTRINI, E., MOULIN, M.M., VIANA, P.A., GRAVINA, A.G., CORRÊA, G.C.C., GONÇALVES, B.M.G. Phenotyping Latin American open-pollinated varieties of popcorn for environments with low water availability. **Plants**, v.10, n.6, p. 1211, 2021.

SARWAR, Y., SHABAZ, M. Modulation in growth, photosynthetic pigments, gas Exchange attributes and inorganic ions in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by strigolactones (GR24) achene priming under saline conditions. **Pakistan Journal of Botany**, v.52, n.1, p.23-31, 2020.

SCHMITT, K. F. M., JUNIOR, A. T.A., KAMPHORST, S. H., PINTO, V. B., LIMA, V. J., OLIVEIRA, U. A., VIANA, N.F., LEITE, T.J., GOMES, P.L., SILVA, S.G.J., LAMEGO, L.D., BERNARDO, P.W., SOUZA, R.A.G., ALMEIDA, A.F., FILHO, S.A.G., SILVEIRA, V., CAMPOSTRINI, E. Decoding the effects of drought stress on popcorn (*Zea mays* var. *everta*) flowering combining proteomics and physiological analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.208, 108444, 2024. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.108444

SILVA, M. B., AMARAL, A. M., PEREIRA, S. B., SANTOS, M. Â. C. M., BRITO, A. F. C., ANORATO, L. R. Desenvolvimento inicial de diferentes híbridos de milho sob variabilidade hídrica no solo. **Revista Delos**, n.18, v.64, p. 1-20, 2025. doi: 10.55905/rdelosv18.n64-07.

TROJAK, M., SKOWRON, E. Role of anthocyanins in high-light stress response. **World Scientific News**, v.81, n.2, p.150-168, 2017.

ZOU, L., WANG, Q., WU, R., ZHANG, Y., WU, Q., LI, M., YE, K., DAI, W., HUANG, J. Biocontrol and plant growth promotion potential of endophytic *Bacillus subtilis* JY-7-2L on *Aconitum carmichaelii* Debx. **Frontiers in Microbiology**, 13:1059549, 2023.