

EXPRESSÕES MORFOFISIOLÓGICA E PROTEÔMICA
DIFERENCIAIS NO MILHO-PIPOCA UENF WS01 CRESCIDO EM
CONDIÇÕES HÍDRICAS CONTRASTANTES SOB INOCULAÇÃO
COM *Bacillus cereus* UENF-LMS 71

UÉLITON ALVES DE OLIVEIRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2025

EXPRESSÕES MORFOFISIOLÓGICA E PROTEÔMICA
DIFERENCIAIS NO MILHO-PIPOCA UENF WS01 CRESCIDO EM
CONDIÇÕES HÍDRICAS CONTRASTANTES SOB INOCULAÇÃO
COM *Bacillus cereus* UENF-LMS 71

UÉLITON ALVES DE OLIVEIRA

“Tese apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia da
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutor em
Biotecnologia Vegetal.”

Orientador: Prof. Dr. Antônio Teixeira do Amaral Junior
Coorientador: Prof. Dr. Samuel Henrique Kamphorst

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

O48

Oliveira, Uéliton Alves de.

Expressões morfofisiológica e proteômica diferenciais no milho-pipoca UENF WS01 crescido em condições hídricas contrastantes sob inoculação com *bacillus cereus* UENF-LMS 71 / Uéliton Alves de Oliveira. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

106 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2025.

Orientador: Antonio Teixeira do Amaral Junior. Coorientador:

Samuel Henrique Kamphorst.

1. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. 2. Interação planta-bactéria. 3. Produção sustentável. 4. Biofertilizante . 5. Mudanças climáticas . I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.


CDD -

EXPRESSÕES MORFOFISIOLÓGICA E PROTEÔMICA
DIFERENCIAIS NO MILHO-PIPOCA UENF WS01 CRESCIDO EM
CONDIÇÕES HÍDRICAS CONTRASTANTES SOB INOCULAÇÃO
COM *Bacillus cereus* UENF-LMS 71


UÉLITON ALVES DE OLIVEIRA

“Tese apresentada ao Centro de
Biotecnologia e Biotecnologia da
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutor em
Biotecnologia Vegetal.”


Comissão examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ELIEMAR CAMPOSTRINI**
Data: 14/05/2025 17:22:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Eliemar Campostrini (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Documento assinado digitalmente
 **FABIO LOPES OLIVARES**
Data: 14/05/2025 13:53:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Fábio Lopes Olivares (D.Sc., Ciências do Solo) – UENF

Documento assinado digitalmente
 **JAKSON LEITE**
Data: 13/05/2025 17:47:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jakson Leite (D.Sc., Ciências do Solo) – IFPA

Documento assinado digitalmente
 **SAMUEL HENRIQUE KAMPHORST**
Data: 14/05/2025 11:37:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIO TEIXEIRA DO AMARAL JUNIOR**
Data: 16/05/2025 12:42:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

A Deus e à minha família.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente aos meus pais, Delcídes e José, que sempre me deram forças para superar os desafios e alcançar meus objetivos.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade de realizar minhas atividades de pesquisa em um ambiente de excelência acadêmica e científica.

Minha gratidão especial ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal (PGBV), pelo suporte contínuo, pelos conhecimentos compartilhados e pela contribuição fundamental ao meu crescimento acadêmico e profissional. Esse programa foi essencial para que eu pudesse alcançar este marco tão significativo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa que me possibilitou dedicar-me integralmente ao doutorado, e pela concessão da bolsa no Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), que me proporcionou uma experiência única de intercâmbio acadêmico e científico em outro país.

Ao Professor Antônio Teixeira do Amaral, pela oportunidade de desenvolver este trabalho em seu laboratório e pelo acompanhamento constante e orientação durante toda a minha pós-graduação, sou imensamente grato por todo o apoio e ensinamentos compartilhados ao longo dessa jornada.

Ao Samuel Kamphorst e ao Valter Jário, pela orientação, amizade e parceria de laboratório. Agradeço imensamente pela orientação dedicada, pelo apoio constante e pela colaboração ao longo de todo este processo. Além da contribuição científica, vocês foram essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço ao Professor José Araus por me receber em seu laboratório e me proporcionar a oportunidade de desenvolver trabalhos com sua equipe na Espanha. Os momentos vívidos e os ensinamentos adquiridos, especialmente os aprendizados práticos em campo, foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Agradeço a Monique, pela amizade sincera, pelo suporte constante e pelos momentos de descontração durante todo o experimento. Sua companhia tornou essa jornada mais leve e significativa.

Agradecimentos sinceros aos membros do grupo de melhoramento de milho-pipoca, também conhecidos como *Popcornes* – Daniele, Jardel, Samuel, Flávia, Bruna, Meire, Divino, Carol, Talles e Gabriela, por todos os sorrisos sinceros, pela amizade e pelos momentos de descontração.

À parceria de pessoas especiais que campos me deu de presente, designados como *El Trio* – Yan e André. Agradeço pela amizade sincera, pelo carinho, pelas risadas compartilhadas e por toda a energia positiva que ambos

trouxeram para essa jornada.

Ao Sydney e ao João – *El frangos*, pessoas incríveis que tive o prazer de conhecer e compartilhar diversos momentos e risadas, sou muito grato por tudo o que vivemos juntos ao longo dessa experiência.

À Geysla e à Jaíne – *BBB check*, que, mesmo de longe, conseguimos manter viva nossa amizade e continuar compartilhando nossos momentos de alegria. A presença de vocês, mesmo à distância, foi essencial para o meu bem-estar durante essa jornada, e sou imensamente grato.

Ao Guilherme e à Késia por todas as trocas sinceras e pelo apoio constante ao longo de diversos momentos dessa jornada. Vocês foram essenciais durante todo esse período, sempre com palavras de incentivo, compreensão e amizade.

Aos membros da *Casa B9 404* – Daniele, Cléo e Laura – com quem tive o prazer de conviver nesta reta final. A amizade, o apoio e os momentos compartilhados.

Aos eternos jogadores e atletas de vôlei com quem tive a honra de jogar em Campos: Davi, Luiz, Caio, Flávia, Henn, Pablo, Isaac, Bella, Nicolas, Rogério, João, Blendda, Gefferson, Ruan, Wendel, Lucas, Cleto, Balboni, Nicholas e Balbiere. Agradeço imensamente pelos momentos de união, diversão e superação compartilhadas. A cada jogo, treino e risada, aprendi não apenas sobre o vôlei, mas também sobre amizade, trabalho em equipe e perseverança.

E, por fim, a todos que caminharam ao meu lado nestes quatro anos inesquecíveis, marcados por aprendizado, crescimento e superação. A cada um de vocês, minha mais profunda e eterna gratidão, como o nanico me disse uma vez: "*Eles ficam atrás de você porque você está no coração deles*", e hoje eu afirmo: "*Vocês possuem um lugarzinho reservado no meu coração*".

A todos, muito obrigado!

LISTA DE TABELAS

Introdução geral

Tabela 1. Cultivares, linhagens parentais e híbridos simples de milho-pipoca usados como progenitores registrados no MAPA por empresas privadas.....12

Tabela 2. Cultivares, linhagens parentais e híbridos simples de milho-pipoca usados como progenitores registrados no MAPA por instituições públicas.....15

Tabela 3. Patentes com *Bacillus cereus* depositadas na Espacenet.....16

Capítulo I

Table Supplementary 1. Summary of individual and combined analyses variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 physiological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions associated with *Bacillus cereus* inoculation.....41

Table Supplementary 2. Summary of individual and combined analyses of variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 morphological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions associated with *Bacillus cereus* inoculation.....42

Capítulo II

Tabela suplementar 1. Descrição de 70 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 em ambiente com e sem déficit hídrico (WSI e WWI)..83

Tabela suplementar 2. Descrição de 20 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo não-inoculado com bactéria em ambiente com e sem déficit hídrico (WSC e WWC).....85

Tabela suplementar 3. Análise descritiva de enriquecimento de Ontologia Gênica (GO) em diferentes categorias funcionais de 70 proteínas diferencialmente expressas (DEPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 em ambiente com e sem déficit hídrico (WSI e WWI).....86

Tabela suplementar 4. Análise descritiva de enriquecimento de Ontologia Gênica (GO) em diferentes categorias funcionais de 20 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo não-inoculado com bactéria em ambiente com e sem déficit hídrico (WSC e WWC).....89

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figure 1. Comparison of the percentage reduction (%) in physiological traits between treatments under water stress (WSI and WSC) and well-watered (WWI and WWC) conditions. Relative chlorophyll content (Chl), leaf anthocyanin content (Anth), flavonoids (Flv), nitrogen balance index (NBI), maximum fluorescence intensity (Fm), variable fluorescence (Fv), basal quantum production of non-photochemical processes in PSII (Fm/Fo), the potential quantum efficiency of PSII (Fv/Fo), potential quantum yield (Fv/Fm), net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (Gs), intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (E), non-photochemical quenching (NPQT), the quantum yield of PSII (PHI₂), relative leaf water content (RLWC), intrinsic water use efficiency (WUE_{int}), instantaneous water use efficiency (WUE_{inst}), and agronomic water use efficiency (WUE_{agro}).....27

Figure 2. Comparison of means of physiological traits evaluated in hybrid UENF WS01 inoculated with *Bacillus cereus* under two water conditions. Uppercase letters indicate significantly different treatments between water conditions (WSI*WWI and WSC*WWC), and lowercase letters represent significantly different treatments within the water condition (WSI*WSC and WWI*WWC) at the 5% level by Tukey's test. Error bars show the standard deviation. Relative chlorophyll content (Chl), leaf anthocyanin content (Anth), flavonoids (Flv), nitrogen balance index (NBI), maximum fluorescence intensity (Fm), variable fluorescence (Fv), basal quantum production of non-photochemical processes in PSII (Fm/Fo), the potential quantum efficiency of PSII (Fv/Fo), potential quantum yield (Fv/Fm), net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (Gs), intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (E), non-photochemical quenching (NPQT), the quantum yield of PSII (PHI₂), relative leaf water content (RLWC), intrinsic water use efficiency (WUE_{int}), instantaneous water use efficiency (WUE_{inst}), and agronomic water use efficiency (WUE_{agro}).....29

Figure 3. Comparison of the percentage reduction (%) in morphological and root traits between water stress (WSI and WSC) and well-watered (WWI and WWC) conditions. Plant height (PH), stem diameter (SD), leaf length (LL), leaf width (LW), leaf biomass (LB), stem biomass (SB), specific leaf area (SLA), abaxial stomata density (SDAB), abaxial epidermal cell density (ECDAB), adaxial stomata density (SDAD), adaxial epidermal cell density (ECDAD), abaxial stomatal index (SIAB), adaxial stomatal index (SIAD), mean root number (MNR, sections a, b, c, and d), specific root length (SRLe), and root weight density (RWDC).....31

Figure 4. Comparison of means of morphological traits evaluated in hybrid UENF WS01 inoculated with *Bacillus cereus* under two water conditions. Uppercase letters indicate significantly different treatments between water conditions (WSI*WWI and WSC*WWC), and lowercase letters represent significantly different treatments within water conditions (WSI*WSC and WWI*WWC) at a 5% probability level by Tukey's test. Error bars show the standard deviation. Plant height (PH), stem diameter (SD), leaf length (LL), leaf width (LW), leaf biomass (LB), stem biomass (SB), specific leaf area (SLA), abaxial stomata density (SDAB), abaxial epidermal cell density (ECDAB), adaxial stomata density (SDAD), adaxial epidermal cell density (ECDAD), abaxial stomatal index (SIAB), adaxial stomatal index (SIAD), mean number of roots (MNR,

sections a, b, c, and d), specific root length (SRLe), and root weight density (RWDc).....31

Figure Supplementary 1. Soil water potential (-MPa) as a function of days after planting (DAP) popcorn hybrid UENF WS01 under well-watered (solid blue line) and water stress (solid red line) conditions.....40

Figure Supplementary 2. Average temperature (°C) (red dotted line), relative humidity (%) (blue dashed line), and photosynthetically active radiation ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (green solid line) recorded by the meteorological station throughout the experiment (February to March 2023).....40

Capítulo II

Figura 1. Condições climáticas, médias de temperatura (T, °C) (linha pontilhada vermelha), umidade relativa do ar (UR, %) (linha tracejada azul) e radiação fotossinteticamente ativa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (linha contínua verde) registradas por estação meteorológica ao longo do experimento (fevereiro a março de 2023).....52

Figura 2. Potencial hídrico do solo (-MPa) em dias após o plantio (DAP) do híbrido WS01 de milho-pipoca em condição irrigada (linha azul contínua) e de estresse hídrico (linha vermelha contínua).....53

Figura 3. Temperatura do solo (°C) em dias após o plantio (DAP) do híbrido WS01 de milho-pipoca em condição irrigada (linha azul contínua) e de estresse hídrico (linha vermelha contínua)53

Figura 4. Diagrama de Venn de proteínas diferencialmente expressas (DAPs) em WSI/WWI e WSC/WWC. WSI: plantas de milho-pipoca cultivadas em condição de estresse hídrico e inoculadas com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71; WSC: plantas de milho-pipoca cultivadas em estresse hídrico e não-inoculadas; WWI: plantas de milho-pipoca cultivadas sob irrigação à capacidade de campo e inoculadas com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71; e WWC: plantas de milho-pipoca cultivadas sob irrigação à capacidade de campo e não-inoculadas.....55

Figura 5. *Heatmap* grupos de GO obtidos para as DAPs em WSI/ WWI e WSC/ WWC de acordo com a categoria funcional identificadas no híbrido WS01 de milho-pipoca inoculado com *Bacillus cereus* sob estresse hídrico.....57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- A: Taxa fotossintética líquida
AIA: Ácido indolacético
ABA: Ácido abscísico
ANT: Antocianinas
ATP: Adenosina trifosfato
B.O.D: Demanda Bioquímica de Oxigênio
CPS1: Carbamoyl-phosphate synthase
CC: Capacidade de Campo
CCB: Ciclo de Calvin-Benson
Chl: Clorofila
Ci: Concentração intercelular de CO₂
DAP: Dias após o plantio
DAPs: Proteínas diferencialmente acumuladas
DNA: Ácido desoxirribonucleico
DO: Densidade óptica
DP: Diâmetro do caule
DTT: Ditioneitol
ECDAB: Densidade de células epidérmicas abaxial
ECDAD: Densidade de células epidérmicas adaxial
EF1G2: Elongation factor 1-gamma 2
E: Taxa de transpiração
ESI-MS/MS: Espectrometria de massa com ionização por electrospray e espectrometria de massa em tandem
Flv: Flavonóides
Fm: Fluorescência máxima
Fm/Fo: Produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no PSII
Fv: Fluorescência variável
Fv/Fm: Rendimento quântico potencial
Fv/Fo: Eficiência quântica potencial do PSII
GO: Ontologia gênica
GSH: Glutathiona reduzida
GTP: Guanosina trifosfato

H₂O: Água
H₂O₂: Peróxido de hidrogênio
HSP: Proteínas de choque térmico
Hsp70: Heat shock protein 70 kDa
Hsp90: Heat shock protein 90 kDa
LB: Biomassa seca das folhas
LBCT/UENF: Laboratório de biologia celular e tecidual da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
LL: Comprimento da folha
LW: Largura da folha
MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mRNA: RNA mensageiro
N: Nitrogênio
NBI: Índice do balanço de nitrogênio
NPQT: Extinção não fotoquímica
NUE: Eficiência no uso do nitrogênio
PC: Plastocianina
PH: Altura da planta
PHI2: Eficiência do fotossistema II
Pi: Fosfato inorgânico
PSI: Fotossistema I
PSII: Fotossistema II
PVC: Policloreto de vinila
RLWC: Teor relativo de água foliar
RWD: Densidade do peso radicular
ROS: Espécies reativas de oxigênio
SB: Biomassa do caule
SDAB: Densidade dos estômatos abaxial
SDAD: Densidade dos estômatos adaxial
SIAB: Índice estomático abaxial
SIAD: Índice estomático adaxial
SRL: Comprimento específico da raiz
SRLs: Comprimentos específicos da raiz
T: Temperatura

UPLC: Cromatografia Líquida de ultra alta performance

UFC: Unidades formadoras de colônia

UENF: Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”

UENF WS01: Cultivar de milho-pipoca tolerante à seca

UR: Umidade relativa do ar

WS: Estresse hídrico

WSI: Plantas em estresse hídrico inoculado com *B. cereus*

WSC: Plantas em estresse hídrico sem inoculação com *B. cereus*

WW: Irrigação plena

WWC: Plantas irrigadas sem inoculação com *B. cereus* (Well-watered Control)

WWI: Plantas irrigadas inoculadas com *B. cereus*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Milho-pipoca: a cultura agrícola e sua relevância	4
2.2 Mudanças climáticas: efeitos do estresse hídrico na cultura do milho-pipoca	6
2.3 O papel das bactérias no desenvolvimento vegetal	7
2.4 <i>Bacillus cereus</i> : mecanismos e aplicações	9
3 REVISÃO EM BANCOS DE PROPRIEDADE INTELECTUAL	12
3.1 <i>Zea mays</i> L. var. <i>everta</i> (Sturtev.) L. H. Bailey (milho-pipoca)	12
3.2 <i>Bacillus cereus</i>	16
Capítulo I <i>Bacillus cereus</i>: An Ally Against Drought in Popcorn Cultivation	20
Abstract.....	22
1 Introduction	22
2 Materials and Methods	23
2.1 Inoculum Preparation	23
2.2 Plant Material	23
2.3 Seed Preparation	24
2.4 Experiment Implementation	24
2.5 Physiological Traits	25
2.5.1 Leaf Pigments and N Balance Index	25
2.5.2 Efficiency of PSII (Chlorophyll Fluorescence)	25
2.5.3 Gas Exchange	25
2.5.4 Leaf Water Status and Agronomic Water Use Efficiency	25
2.6 Morphological Traits	25
2.7 Measurement of Stomatal and Epidermal Cell Density	26
2.8 Analysis of Root Traits	26
2.9 Data Analysis	26
3 RESULTS	27
4 DISCUSSION	33
5 CONCLUSIONS	35
6 REFERENCES	36
7 MATERIAL SUPLEMENTAR.....	40
Capítulo II Interação simbiótica entre <i>Bacillus cereus</i> UENF-LMS 71 e o híbrido de milho-pipoca UENF WS01: Análise proteômica em cenários de estresse hídrico e irrigado	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO	47
2 MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.1 Preparo do inóculo bacteriano	49
2.2 Material vegetal	50
2.3 Preparação das sementes	50
2.4 Implementação dos experimentos	50
2.5 Análise proteômica	53
2.5.1 Extração de proteínas e digestão trípica	53
2.5.2 Análise de espectrometria de massa e processamento de espectros	54
3 RESULTADOS	54

3.1 Proteínas reguladoras do metabolismo energético e transporte de moléculas.....	58
3.2 Proteínas de defesa celular: regulação redox, proteção de organelas e controle da apoptose	61
3.3 Proteínas de síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos e proteínas.....	62
4 CONCLUSÃO	64
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
6 MATERIAL SUPLEMENTAR.....	84

RESUMO GERAL

A agricultura é essencial para a segurança alimentar e a economia global, mas enfrenta desafios, especialmente o estresse hídrico, que afeta a produtividade das plantas. O milho-pipoca, cultura que movimentou um mercado global de US\$ 13,4 bilhões em 2023, é particularmente vulnerável à seca, a qual compromete seu crescimento e rendimento. Estudos sobre a resposta das plantas à seca, associados a novas tecnologias, são essenciais para a obtenção de novas cultivares e produtos biotecnológicos associados que auxiliem na mitigação dos efeitos do estresse. Nesse caso, é fundamental não apenas compreender os processos fisiológicos influenciados pela bactéria *Bacillus cereus* no híbrido tolerante à seca UENF WS01 de milho-pipoca sob estresse hídrico, mas também investigar os mecanismos moleculares dessa interação, a fim de distinguir os processos que favorecem a adaptação das plantas nessas condições. Este estudo investiga os efeitos da interação entre o híbrido UENF WS01 e a estirpe UENF-LMS 71 de *Bacillus cereus*, analisando a morfofisiologia da planta e proteínas diferencialmente expressas sob seca e irrigação. O híbrido foi avaliado em casa de vegetação, sob duas condições hídricas (CHs), a saber: irrigada (WW), mantendo-se na capacidade de campo (CC – 100%); e sob estresse hídrico (WS), cuja irrigação foi suspensa aos 24 dias após o plantio, até atingir 40% da CC. O experimento foi implementado em blocos completos casualizados, em esquema fatorial, combinando as duas CHs com presença e ausência de inoculação com *B. cereus*, totalizando quatro tratamentos (WSI – plantas inoculadas em estresse hídrico; WSC – plantas controle em estresse hídrico; WWI – plantas inoculadas irrigadas; e WWC – plantas controle irrigadas), com nove repetições cada. A inoculação com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 foi realizada com a aplicação de 1 mL de inóculo (2×10^9 cels/ML) diretamente nas sementes do híbrido UENF WS01. Foram avaliadas características morfofisiológicas das plantas, relacionadas a pigmentos foliares, trocas gasosas, *status* hídrico, estimativa de crescimento, densidade dos estômatos e caracteres radiculares. Após sete dias a 40% da CC, as folhas foram coletadas de cada tratamento para a proteômica. A inoculação com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 no híbrido de milho-pipoca UENF WS01 promoveu aumentos significativos nas características fisiológicas e morfológicas, tanto em condições de WS quanto em WW, exceto para eficiência intrínseca e instantânea no uso da água. Os principais aumentos foram observados em pigmentos foliares como Chl (50,39%), Anth (26,63%) e NBI (42,74%), além de trocas gasosas como A (20,49%), Gs (54,55%) e Ci (21,61%), e no crescimento radicular (RWDc com aumento de 25,18%) comparado ao tratamento controle. As diferenças entre as condições hídricas foram significativas para várias variáveis, principalmente para crescimento e densidade estomática. A análise proteômica identificou 726 proteínas, sendo 70 diferencialmente acumuladas sob estresse hídrico, incluindo polipeptídeos antioxidantes como thioredoxin M-type e glutathione reductase, além de proteínas envolvidas na síntese proteica. A inoculação com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 no híbrido UENF WS01 revelou resultados promissores, evidenciando impacto positivo no crescimento das plantas sob condição de estresse hídrico e irrigada. Esses resultados indicam que *B. cereus* tende a desempenhar atividade crucial seja na resiliência das plantas, contribuindo para sua adaptação em cenário de déficit hídrico ou, mesmo, na otimização do desenvolvimento em condição de cultivo irrigado, favorecendo tanto a sua capacidade de lidar com o estresse hídrico de forma eficaz quanto a potencialização de seu crescimento.

Palavras-chave: BPCP; Proteínas; Seca; *Zea mays* L. var. *everta*.

GENERAL SUMMARY

Agriculture is essential for food security and the global economy but faces challenges, especially water stress, which affects plant productivity. Popcorn, a crop that generated a global market of US\$ 13.4 billion in 2023, is particularly vulnerable to drought, which compromises its growth and yield. Studies on plant responses to drought, associated with new technologies, are essential for obtaining new cultivars and associated biotechnological products that help mitigate the effects of stress. In this context, it is crucial not only to understand the physiological processes influenced by the bacterium *Bacillus cereus* in the drought-tolerant hybrid UENF WS01 popcorn under water stress but also to investigate the molecular mechanisms of this interaction, in order to distinguish the processes that favor plant adaptation under these conditions. This study investigates the effects of the interaction between the UENF WS01 hybrid and the *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 strain, analyzing the plant's morphophysiology and differentially expressed proteins under drought and irrigation conditions. The hybrid was evaluated in a greenhouse under two water conditions (WCs), namely: irrigated (WW), maintaining field capacity (FC – 100%); and under water stress (WS), where irrigation was suspended 24 days after planting until it reached 40% FC. The experiment was implemented in a randomized complete block design with a factorial scheme, combining the two WCs with the presence and absence of inoculation with *B. cereus*, totaling four treatments (WSI – plants inoculated under water stress; WSC – control plants under water stress; WWI – inoculated irrigated plants; and WWC – control irrigated plants), with nine replications each. Inoculation with *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 was performed by applying 1 mL of the microorganism directly to the seeds of the UENF WS01 hybrid. Morphophysiological characteristics of the plants were evaluated, related to foliar pigments, gas exchange, water status, growth estimation, stomatal density, and root traits. After seven days at 40% FC, leaves were collected from each treatment for protein analysis. Inoculation with *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 in the UENF WS01 popcorn hybrid promoted significant increases in physiological and morphological characteristics, both under WS and WW conditions, except for WUE_{int} and WUE_{inst}. The main increases were observed in foliar pigments such as Chl (50.39%), Anth (26.63%), and NBI (42.74%), in gas exchange such as A (20.49%), Gs (54.55%), and Ci (21.61%), and in root growth (RWD_c with an increase of 25.18%). The differences between the water conditions were significant for several variables, particularly for growth and stomatal density. Proteomic analysis identified 726 proteins, with 70 differentially accumulated under water stress, including antioxidant polypeptides such as thioredoxin M-type and glutathione reductase, as well as proteins involved in protein synthesis. Inoculation with *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 in the UENF WS01 hybrid revealed promising results, showing a positive impact on plant growth under both water stress and irrigated conditions. These results indicate that *B. cereus* tends to play a crucial role in plant resilience, contributing to its adaptation in scenarios of water deficit or even optimizing development under irrigated conditions, enhancing both its ability to cope with water stress effectively and its growth potential.

Keywords: BPCP; Proteins; Drought; *Zea mays* L. var. everta.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura ocupa função primordial na segurança alimentar e na economia global (Janni et al., 2024). Entretanto, durante o ciclo de crescimento, as espécies agrícolas estão frequentemente sujeitas a diversos estresses ambientais, os quais influenciam negativamente a produtividade e a qualidade (Albahri et al., 2023). Dentre os fatores bióticos e abióticos que afetam o desenvolvimento das plantas, o estresse hídrico é um dos mais prejudiciais, especialmente no contexto das mudanças climáticas, que intensificam a variação das precipitações (Yousaf et al., 2023).

Nesse cenário, o milho-pipoca (*Zea mays* var. *Everta*), espécie de grande importância econômica, amplamente cultivada e consumida, não é imune a essa vulnerabilidade (Oliveira et al., 2024). O estresse hídrico em milho-pipoca resulta em declínios substanciais no índice de verde das folhas, nos ângulos e volumes radiculares, bem como na redução do rendimento de grãos, na capacidade de expansão e na massa de grãos (Kamphorst et al., 2018; Lima et al., 2019; Santos et al., 2021). Tais efeitos podem prejudicar ainda mais o *status* fotossintético e a condutância estomática, fatores essenciais para a produtividade das culturas (Kamphorst et al., 2020; Oliveira et al., 2024b).

Investigações sobre as respostas das plantas ao estresse hídrico são essenciais para selecionar cultivares tolerantes à seca e para o desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos (Nguyễn et al., 2024; Şimşek et al., 2024). O entendimento das características fenotípicas associadas ao crescimento e à produção de grãos em condições de estresse permite a seleção de plantas com melhor desempenho sob seca, o que, por sua vez, contribui para a geração de cultivares que podem mitigar os impactos da deficiência de água (Mansoor et al., 2024; Poggi et al., 2024).

Pesquisas extensas sobre a resposta de diversos genótipos de milho-pipoca ao estresse hídrico revelam variabilidade nas respostas morfológicas, fisiológicas e proteômicas, evidenciando a complexidade do processo de adaptação das plantas (Kamphorst et al., 2018; Lima et al., 2019; Kamphorst et al., 2020; Kamphorst et al., 2021; Santos et al., 2021; Kamphorst et al., 2022; Leite et al., 2022; Carvalho et al., 2023; Lamêgo et al., 2024; Oliveira et al., 2024; Ribeiro et al., 2024; Schmitt et al., 2024). No Brasil, a cultivar UENF WS01 foi registrada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como a única cultivar de milho-pipoca do país com

tolerância à seca (Lima et al., 2021).

O desenvolvimento de novas estratégias de manejo para melhorar a tolerância das culturas ao estresse da escassez de água é essencial e vem sendo amplamente estudado (Kopecká et al., 2023; Oyebamiji et al., 2024). Além de variedades de cultivares adaptadas, a aplicação de tecnologias complementares, como o uso de microrganismos benéficos, desempenham função crucial (Vishnupradeep et al., 2022; Andrade et al., 2023). Nesse sentido, algumas bactérias do solo, conhecidas como bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) convivem na rizosfera, auxiliando as plantas a superar estresses abióticos e manter a produtividade (Bhat et al., 2022; Chaffai et al., 2024).

Dentre essas bactérias benéficas, as do gênero *Bacillus* se destacam como agentes promotores do crescimento vegetal, expressando capacidade de aumentar a resistência das plantas aos estresses ambientais e melhorar a absorção de nutrientes (Oliveira et al., 2024; Patani et al., 2024; Youssfi et al., 2024). As bacteris desse gênero são capazes de sintetizar fitormônios, como o ácido indolacético (AIA), giberelinas e citocininas, que são fundamentais no desenvolvimento das plantas, modulando respostas metabólicas e fisiológicas, consequenciando na mitigação dos efeitos do estresse hídrico (Poveda et al., 2021; Lucas et al., 2023).

Nesse contexto, os avanços na análise proteômica também têm contribuído significativamente para desvendar os mecanismos moleculares envolvidos na interação planta-microrganismo, bem como na resposta das plantas à seca (Lukhele et al., 2020; Ren et al., 2022; Bittencourt et al., 2023). Ao comparar as vias de resposta proteica em plantas submetidas a condições de seca, tem sido possível identificar e caracterizar proteínas envolvidas em processos críticos, como a manutenção da homeostase celular, a proteção contra o estresse oxidativo, e a regulação do metabolismo energético e da fotossíntese (Kaya et al., 2024; Schmitt et al., 2024).

Estudos proteômicos e morfofisiológicos são essenciais para compreender, em profundidade, os mecanismos bioquímicos, celulares e estruturais que sustentam essa interação, permitindo identificar características-chave para a tolerância à seca. Esse entendimento não apenas contribui para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas, mas também fornece subsídios para estratégias agrícolas mais sustentáveis, especialmente em regiões com elevada variabilidade hídrica, reforçando a segurança alimentar e a resiliência dos sistemas agrícolas. Portanto, este estudo, circunscrito em dois capítulos tem como objetivo explorar os efeitos

benéficos da interação entre o híbrido de pipoca tolerante à seca UENF WS01 e a estirpe UENF-LMS 71 de *Bacillus cereus* na morfofisiologia da planta, bem como identificar proteínas diferencialmente expressas em condições de seca e irrigação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Milho-pipoca: a cultura agrícola e sua relevância

O milho-pipoca é classificado como um tipo especial de milho, pertencente à família Poaceae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. var. *everta* (Sturtev) L.H. Bailey (Goodman e Smith, 1987; Paterniani e Campos, 2005; Barros e Calado, 2014). Esta espécie é caracterizada como herbácea, anual, pertencendo ao grupo de plantas C4, com uma estrutura monocotiledônea, sendo monóica, diplóide, com $2n=2x=20$ cromossomos, e possui modo de reprodução alógamo protândrico (Kerr, 1969; Paterniani, 1980; Tenaillon et al., 2004).

A origem do milho-pipoca (*Zea mays* L. var. *everta*) remonta ao Sul do México e à América Central, abrangendo também as Antilhas (Kistler et al., 2018). Historicamente, essa cultura tem sido amplamente utilizada por povos indígenas da América Central e do Norte, refletindo seu significativo valor cultural (Luz et al., 2005). O milho-pipoca é considerado um ancestral do milho comum, com evidências que sugerem uma trajetória evolutiva que vai do milho-pipoca para o milho comum (Goodman, 1980; Fu et al., 2010). Ambas as formas compartilham um ancestral comum, o teosinto (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) (Engels et al., 2006). Nativo da região central do México, o teosinto era caracterizado por espigas pequenas e grãos que, ao serem submetidos ao calor, estouravam, produzindo a pipoca (Zinsly e Machado, 1987).

A capacidade de expansão dos grãos (CE) é uma característica distintiva do milho-pipoca, que se manifesta quando os grãos são aquecidos a aproximadamente 180 °C, resultando em uma expansão volumétrica de até 40 vezes o seu tamanho original (Sawazaki, 2001; Pereira Filho et al., 2010; Faria Junior et al., 2018; Dalla-Costa et al., 2018). Nesse sentido, cita-se que a CE é influenciada por vários fatores, incluindo temperatura e a umidade dos grãos, em que percentuais entre 11 e 15% são ideais para maximizar a expansão (Haugh et al., 1976; Zinsly e Machado, 1987). Este fenômeno decorre da resistência do pericarpo, que suporta a pressão interna gerada pela umidade e óleo contidos no interior do grão (Fanchin et al., 1993). Comparado com ao milho comum, os grãos de milho-pipoca são menores, mais duros e apresentam um pericarpo mais espesso, além de uma proporção maior de endosperma duro (Ziegler e Ashman, 1994; Sawazaki, 2001).

Os principais atributos de interesse para a cultura do milho-pipoca são o

rendimento de grãos (RG) e a CE, sendo que a segunda é considerada crucial para a qualidade do produto final (Pereira Filho et al., 2010). A expansão é um índice que relaciona o volume de pipoca estourada à massa de grãos utilizados, expressa em mL/g, e é crucial para o valor comercial do milho-pipoca (Haugh et al., 1976; Borrás et al., 2006). Para ser considerada de boa qualidade, a cultivar deve apresentar uma CE mínima de 30 mL/g (Matta e Viana, 2001; Sawazaki, 2001). A CE está negativamente correlacionada com o rendimento de grãos (RG), o que representa um desafio para os programas de melhoramento genético que buscam maximizar tanto a produção quanto a qualidade da pipoca (Rangel et al., 2011; Cabral et al., 2016).

O milho-pipoca é comercialmente cultivado para consumo humano (Smith, 2021). Essa característica difere em relação ao milho comum, cuja principal destino é a produção de ração animal, com mais de 50% de sua utilização, além de aplicações industriais (Kaur et al., 2023). Quanto a atributos nutricionais, a pipoca é altamente valorizada por suas qualidades, destacando-se como uma excelente fonte de fibras alimentares, com baixo índice glicêmico e quantidades significativas de zinco e vitaminas do complexo B (Sawazaki, 1996; Novaes et al., 2019). A textura e a maciez, intimamente relacionadas à capacidade de expansão, são essenciais para a aceitação do milho-pipoca no mercado, e esses atributos determinam a qualidade do produto e influenciam diretamente na sua competitividade (Sweley et al., 2013).

O cultivo do milho-pipoca não apenas contribui para a sustentabilidade econômica dos produtores brasileiros com o Brasil se posicionando como um dos maiores produtores do mundo (Kist, 2019), mas também integra o país a um mercado global altamente competitivo, com movimentação de US\$ 13,4 bilhões em 2023 (Gopinath et al., 2024). Nos últimos vinte anos, a produção do milho-pipoca em rotação a culturas de segunda safra, como a soja, aumentou cerca de 135%, sobretudo em cultivos no estado do Mato Grosso. As sementes melhoradas, contudo, são produzidas nos EUA e enviadas ao Brasil, principalmente pela General Mills, que detém a marca Yoki, líder do mercado de pipoca no país. A empresa estabelece parceria com os produtores, que recebe as sementes, assistência técnica e fecha contrato para entregar toda a produção com preço pré-estabelecido (Silva, 2023).

Esse cenário favorece sobretudo as grandes empresas produtoras de sementes e as empacotadoras, tornando os produtores reféns de uma parceria desigual, representando, por conseguinte, um desafio para a produção nacional de sementes melhoradas e asseverando a necessidade de investimento em pesquisas

que favoreçam adventos tecnológicos voltados para cultivos mais resilientes à escassez de água em épocas de safrinha e, sobretudo, para enfrentamento aos crescentes desafios na disponibilidade de água e distribuição irregular de chuvas decorrentes das mudanças climáticas.

2.2 Mudanças climáticas: efeitos do estresse hídrico na cultura do milho-pipoca

As mudanças climáticas têm gerado grandes alterações nos agroecossistemas dado o aumento da temperatura e a irregularidade das chuvas (Yanagi et al., 2024). Essas condições afetam a segurança alimentar, sendo os estresses abióticos como o déficit hídrico, os principais responsáveis por perdas econômicas significativas na agricultura (Farooq et al., 2014; Huang et al., 2015; Perdomo et al., 2017). No Brasil, onde a produção de milho-pipoca está em crescimento, desenvolver cultivares com maior tolerância à seca é fundamental para maximizar o rendimento e garantir a viabilidade econômica da cultura (Mikiciuk et al., 2024).

Para atender a demanda por genótipos adaptados à seca, a caracterização das respostas morfofisiológicas e a exploração da variabilidade genética são estratégias importantes para enfrentar os desafios impostos pelas mudanças climáticas (Cairns et al., 2012). Nesse sentido, obter e compreender informações decorrentes do impacto do déficit hídrico sobre características agronômicas e morfofisiológicas para a seleção de cultivares superiores é estratégia adequada para maximizar ganhos genéticos. De maneira geral, sabe-se que as respostas morfofisiológicas da cultura do milho-pipoca ao déficit hídrico incluem o fechamento estomático, a redução da transpiração e a aceleração da senescência (McCree e Fernández, 1989; Taiz e Zeiger, 1991) e que essas podem ser características-alvo de estudo para a seleção. Além disso, a manutenção do turgor celular é essencial para os processos de crescimento e fotossíntese, e a água é vital para a saúde geral da planta (Farooq et al., 2009).

Diversos trabalhos já foram publicados sobre o impacto do estresse hídrico no milho-pipoca, com destaque para estudos envolvendo respostas morfofisiológicas e agronômicas de genótipos cultivados sob diferentes condições hídricas (Kamphorst et al., 2018; Lima et al., 2019; Kamphorst et al., 2020; Oliveira et al., 2024b). Nessa seara, o trabalho pioneiro de Kamphorst et al. (2018) identificou reduções de até 74,03% no volume de milho expandido (VPE) e de 55,32% no rendimento de grãos (RG). Lima et al. (2019), por sua vez, relataram perdas de 41,25% para RG, com destaque para os genótipos P3 e P7 que se sobrepuseram por suas estimativas em

relação aos demais avaliados. Inobstante, Kamphorst et al. (2020) registraram reduções de 51% no rendimento de grãos e indicaram a linhagem P7 como genitora promissora para participação em cruzamentos visando à obtenção de híbridos com maior grau de tolerância à seca.

Para suprir a necessidade de cultivares adaptadas à seca, Lima et al. (2021) desenvolveram o híbrido UENF WS01 devido à sua alta eficiência no uso de água (WUE) e produtividade superior em condições adversas, com estimativas de médias de 4,2 t ha⁻¹ em condição irrigada (WW) e de 2,6 t ha⁻¹ sob estresse hídrico (WS). O híbrido também demonstrou eficiência no uso de nitrogênio (NUE), sendo adequado para diferentes níveis de disponibilidade do nutriente. Agronomicamente, possui ciclo precoce, boa arquitetura, incluindo expansão de pipoca acima de 30 mL g⁻¹, mesmo sob estresse hídrico, destacando-se como alternativa promissora para condições adversas, e que pode ser utilizado em cultivos como opção menos vulnerável à seca.

Buscando novas estratégias para mitigar os efeitos do estresse hídrico em milho-pipoca, um estudo recente de Oliveira et al. (2024) revelou que a inoculação com a bactéria *Bacillus cereus* contribuiu para a mitigação dos efeitos do estresse hídrico, promovendo melhorias significativas em características fisiológicas como o teor de clorofila, taxa fotossintética e eficiência no uso da água. As plantas inoculadas atingiram expressivo aumento de 50,39% no teor relativo de clorofila sob estresse hídrico, em comparação a um aumento de apenas 2,40% nas plantas não inoculadas. Além desses resultados, também houve incremento na biomassa das folhas e do caule, alongamento das raízes e aumento na densidade estomática, evidenciando a capacidade adaptativa das plantas em condições de escassez hídrica em associação com a bactéria.

2.3 O papel das bactérias no desenvolvimento vegetal

A integração entre solo, planta e microrganismos desempenha um papel crucial na adaptação das plantas ao estresse hídrico, um dos principais desafios enfrentados em ecossistemas agrícolas e naturais (Zia et al., 2021; Rahman et al., 2021). Nesse contexto, as bactérias promotoras do crescimento das plantas (BPCP) destacam-se como agentes-chave na melhoria do desenvolvimento e na resiliência das plantas (Santos et al., 2022; Peñas-Corte et al., 2024). Habitando principalmente a rizosfera, região de interação entre o solo e as raízes, ou nos tecidos internos das plantas (endófitos), essas bactérias estabelecem interações benéficas, influenciando

aspectos fisiológicos, bioquímicos e estruturais (Prashar et al., 2014; Dhar et al., 2024). Atraídas por substâncias exsudadas pelas raízes, as BPCP auxiliam na fixação biológica do nitrogênio, na solubilização de fósforo e na produção de fitohormônios, promovendo a saúde das plantas e aumentando sua disponibilidade nutricional (Bittencourt et al., 2023; Porto et al., 2023).

Os mecanismos pelos quais as BPCP podem contribuir para a promoção do crescimento vegetal são classificados em diretos e indiretos (Hasan et al., 2024; Omelyanchuk et al., 2024). Os mecanismos diretos incluem a solubilização de zinco, fosfato e potássio, fixação de nitrogênio, produção de enzimas e a síntese de fitormônios (Patel et al., 2024). Dentre os mecanismos diretos de ação das BPCP, destacam-se a produção de fitohormônios, como o ácido indolacético (AIA), citocininas e giberelinas, os quais regulam processos vitais, como na divisão celular, germinação de sementes, crescimento radicular e fotossíntese (Shikha et al., 2023).

Os mecanismos indiretos das BPCP incluem a produção de osmólitos, cianeto de hidrogênio, antibióticos, exopolissacarídeos e enzimas que promovem o crescimento das plantas (Sarker et al., 2022; Wei et al., 2024). Também englobam o biocontrole de patógenos vegetais, por meio da produção de enzimas extracelulares, competição por nutrientes na rizosfera, degradação de paredes celulares fúngicas, produção de antibióticos e indução de resistência sistêmica (ISR) contra doenças (Olanrewaju et al., 2019; Fanai et al., 2024). Além disso, as BPCP podem solubilizar fosfatos insolúveis, tornando o fósforo disponível para as plantas, e produzir ACC desaminase, que reduz os níveis de etileno e melhora a tolerância das plantas a estresses abióticos, como seca e salinidade (Gamalero et al., 2023; Singh et al., 2025).

Relacionando limitação a condições de seca no solo com as BPCP, o estresse hídrico intensifica a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem danificar componentes celulares essenciais (Sachdev et al., 2021) e, para mitigar esses efeitos, as plantas podem induzir a ativação de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (Ologundudu et al., 2021). Nesse caso, as BPCP podem fornecer à planta uma melhor adaptação e tolerância à seca, regulando a absorção de água, modificando a estrutura da raiz e produzindo fitoquímicos (Amezquita-Aviles et al., 2022; Fanai et al., 2024).

Inobstante, as BPCP contribuem para o enfrentamento do estresse hídrico, aumentando a eficiência antioxidante e protegendo os tecidos vegetais (Desoky et al., 2020). Além disso, essas bactérias produzem biofilmes e exopolissacarídeos (EPS),

moléculas hidrofílicas que ajudam na retenção de água no solo e criam ambientes estáveis para as raízes (Velmourougane et al., 2017; Banerjee et al., 2019). Os EPS formam agregados que aumentam a porosidade do solo, otimizando o armazenamento e a movimentação da água (Ajijah et al., 2023).

2.4 *Bacillus cereus*: mecanismos e aplicações

O gênero *Bacillus*, pertencente à família *Bacillaceae*, é amplamente distribuído em várias espécies de plantas e reconhecido por suas capacidades de promoção do crescimento vegetal e biocontrole (Alina et al., 2015; Mandic-Mulec et al., 2016). O gênero *Bacillus* possui mais de 200 espécies descritas, sendo as mais conhecidas a *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, dentre outras, sendo amplamente utilizadas como biopesticidas, bioinoculantes e probióticos (Fritze, 2004; Zeigler e Perkins, 2021).

Dentre as espécies citadas, *Bacillus cereus* destaca-se por sua ampla adaptabilidade ambiental e relevância ecológica (Liu et al., 2015). Trata-se de uma bactéria gram-positiva, em forma de bastonete, móvel e capaz de formar endósporos, estruturas que garantem sua sobrevivência em condições adversas, como escassez de nutrientes ou variações extremas de temperatura e de pH (Granum e Lindbäck, 2012).

B. cereus é encontrada em uma variedade de ambientes, incluindo solo, água, poeira, matéria orgânica em decomposição, alimentos e raízes de plantas, sendo uma bactéria aeróbica facultativa, com capacidade de realizar respiração em condições oxigenadas ou sobreviver em ambientes anaeróbicos (Wallace et al 2016; Gharib et al., 2020). Embora reconhecida como um patógeno humano em casos de intoxicação alimentar (Tuipulotu et al., 2021), essa espécie apresenta grande potencial como microrganismo benéfico, principalmente no solo e na rizosfera, onde promove o crescimento vegetal e tolera estresses ambientais, como seca, salinidade e presença de metais pesados (Akhtar et al., 2021; Jabeen et al., 2022; Kulkova et al., 2023).

Existem diversos mecanismos diretos e indiretos para promover o crescimento vegetal utilizados por *B. cereus* (Sansinenea et al., 2019; Kulkova et al., 2023). Uma das características mais significativas dessa bactéria é sua capacidade de sintetizar fitormônios, como o ácido indolacético (AIA), as giberelinas e as citocininas, os quais desempenham papéis fundamentais no desenvolvimento das plantas (Poveda et al., 2021). O AIA promove a divisão e alongação celular, enquanto as giberelinas

influenciam a germinação das sementes e o alongamento do caule, e as citocininas regulam a divisão celular, retardando o envelhecimento das folhas (Timofeeva et al., 2024). Além disso, *B. cereus* aumenta a disponibilidade de nutrientes essenciais na rizosfera, como fósforo e nitrogênio, por meio da secreção de enzimas que degradam compostos orgânicos e facilitam a ciclagem de nutrientes no solo (Chen et al., 2024; Deng et al., 2025).

B. cereus também tem sido amplamente estudada por suas propriedades de biocontrole (Dimkić et al., 2022; Yi et al., 2023). A bactéria é capaz de produzir compostos antimicrobianos, como lipopeptídeos e poliquetídeos, que exercem efeito contra uma ampla gama de fitopatógenos e pragas agrícolas (Kumar et al., 2012; Keswani et al., 2020). Dessa forma, *B. cereus* contribui para a redução da incidência de doenças e o controle de organismos patogênicos que afetam as culturas, sendo capaz de ativar mecanismos de defesa nas plantas, como a indução sistêmica de resistência (ISR), que as torna mais resilientes a ataques de patógenos e a condições ambientais adversas (Miljaković et al., 2020).

Outro aspecto importante relacionado à sobrevivência e persistência de *B. cereus* em ambientes adversos é sua capacidade de formar biofilmes (Wijman et al., 2007). A produção de biofilme proporciona a *B. cereus* a capacidade de persistir e sobreviver em ambientes hostis (Gao et al., 2019; Mohsin et al., 2021). Biofilmes são comunidades bacterianas firmemente aderidas a superfícies bióticas ou abióticas e são constituídas por células coladas em uma matriz complexa de exopolissacarídeos (EPSs), proteínas e DNA (Saini et al., 2024; Sowmiya et al., 2024).

Diversos estudos destacam a eficiência de *Bacillus cereus* na promoção do crescimento vegetal. Segundo Baliyan et al. (2022), *B. cereus* MEN8 aumentou significativamente o índice de vigor e a energia de germinação, além de estimular o comprimento da raiz e do broto, bem como o peso total das plantas de grão-de-bico. De forma similar, Adeleke et al. (2021) relataram que *B. cereus* T4S, isolado da endosfera da raiz de girassol, promoveu o aumento do comprimento da raiz principal, número de raízes, peso da raiz, peso da semente e peso do broto em plantas de girassol.

Em ervilha, a cepa *B. cereus* MN589697 foi a maior produtora de ácido indolacético (IAA) ($65,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e sideróforos (71%) em comparação com outros isolados (Sherpa et al., 2021). *B. cereus* LPR2, isolado da rizosfera do espinafre, demonstrou capacidade de aumentar o crescimento da planta e inibir de forma eficaz

o crescimento de patógenos fúngicos deletérios, especialmente quando associado a nanopartículas de prata (Kumar et al., 2020). Em batata inglesa, Ali et al. (2021) mostraram que a biofertilização com *B. cereus* elevou o rendimento total em 21% em relação às plantas não tratadas, destacando o potencial do microrganismo como promotor de crescimento e na produtividade agrícola.

Sob estresse hídrico, a inoculação com *Bacillus cereus* também demonstrou efeitos significativos no metabolismo antioxidante e fotossintético de plantas. Em mudas de *Juglans regia*, a inoculação aumentou as atividades de enzimas antioxidantes e alterou características fotossintéticas, além de induzir elevações significativas nos níveis de ácido indolacético (IAA), giberelinas e zeatina, promovendo um expressivo crescimento no diâmetro do colo e na altura das plantas (Liu et al., 2023). De forma similar, *B. cereus* UFGRB2 influenciou positivamente a eficiência fotossintética em soja ao preservar o rendimento quântico potencial do fotossistema II (PSII) e manter a taxa de fotossíntese, enquanto plantas não inoculadas apresentaram declínio nesses índices, com incrementos de 41% e 45% no peso seco da parte aérea e das raízes, respectivamente (Martins et al., 2018).

Em milho-pipoca sob estresse hídrico, *B. cereus* proporcionou aumentos significativos várias características morfofisiológicas, como largura da folha (13,33%), biomassa do caule (20,24%), bem como em variáveis fisiológicas, como clorofila (50,39%), equilíbrio de nitrogênio (42,74%), condutância estomática (54,55%), eficiência quântica potencial do PSII (78,74%), e o índice estomático abaxial (19,96%). Os resultados confirmam que *B. cereus* pode mitigar os efeitos negativos do déficit hídrico e melhorar a funcionalidade metabólica, com consequente promoção do crescimento vegetal.

3. REVISÃO EM BANCOS DE PROPRIEDADE INTELECTUAL

3.1 *Zea mays* L. var. *everta* (Sturtev.) L. H. Bailey (milho-pipoca)

Com base nos avanços alcançados nos estudos de melhoramento genético vegetal, as autoridades brasileiras vinculadas ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceram um sistema de legislação denominado Registro Nacional de Cultivares (RNC). Esse sistema foi instituído por meio da Portaria nº 527, com o objetivo de viabilizar a rápida disponibilização dos mais recentes avanços da pesquisa genética vegetal aos agricultores. O RNC desempenha funções de fiscalização, análise e registro de cultivares desenvolvidas tanto por instituições públicas quanto privadas, sendo regido pela Lei de Sementes nº 10.711/2003, que regulamenta a comercialização de sementes e mudas em todo o território nacional.

Com o intuito de investigar as cultivares registradas da espécie em estudo, foi realizada uma pesquisa em dezembro de 2024 no *site* do MAPA/RNC (https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php). Os termos de busca utilizados incluíram o nome científico “*Zea mays* L. var. *everta* (Sturtev.) L. H. Bailey” e o nome comum “milho-pipoca”. A análise dos resultados revelou que a maioria das cultivares de milho-pipoca são provenientes de empresas privadas, que contabilizaram cento e vinte e um registros, distribuídas entre vinte empresas diferentes. Esses registros incluem linhagens parentais e híbridos simples (Tabela 1).

Tabela 1. Genótipos de milho-pipoca registrados no MAPA por empresas privadas.

Mantenedor	Tipo de registro	Denominação (Nº do registro)
AGRISTAR DO BRASIL LTDA	Cultivar	BAS 5802 (31080), BAS 5803 (33672), BAS 6001 (31081), BAS 6101 (31082), BAS 6102 (31083), BAS 6103 (31084), BAS 8282 (31085), M Pop 120 (25785), M Pop 162 (25786), Pipoca Americano RS 20 (03500), TROP 7010 (33673), TROP 7772 (33674) e TROP 8112 (33675)
Agrocomm Comércio, Importação e Exportação de Alimentos LTDA	Cultivar	N1H262 (49684), N34117 (49674), N8485B (49685), Super Esfera (49686), ZX107 (49687), ZX108 (49688), ZX53 (49676), ZX61 (49683), ZX62 (49678), ZX75 (49680), ZX77 (49679), ZX8 (49689), ZX88 (49675), ZX96 (49681) e ZX98 (49682)

ATLANTICA SOLUTIONS LTDA	Cultivar	SPA 22P01 (37762) e SPA 22P02 (37763)
BASSO COMERCIO DE SEMENTES, IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA	Linhagem parental	BP 2031 (39541), BP 262 (39540) e BP 3002 (39542)
COMERCIAL CIANORTE LTDA	Cultivar	MMF 100 (46335), MMF 200 (46110), MMF 300 (45935), S 2021 (45733), S 2022 (45646), S2006 (45612), S2028 (55168), S2037 (55170) e S3020 (55171)
DEPARTAMENTO DE SEMENTES, MUDAS E MATRIZES - DSMM/CATI_	Cultivar	Catipoca Amarela (32937) e Catipoca Branca (34459)
ELEMAR REINOLDO HAAS_	Cultivar e híbrido simples	ZT 23 (39933) e ZT 94K10 (49814)
Felipe Bresolin Ltda.	Cultivar e linhagem parental	2107A (52282), 2705A (45319), 3201A (47793), AG05960 (48410), AG13993 (52281), AG8619 (48409), AG9432 (45318), AP4010M (53645), AP4514W (54142), AP4515 (53128), AP6008 (54140), AP6009 (54662), AP6010M (53643), AP6011 (50371), AP6012 (51285), AP8101 (44558), AP8204 (54607), AP8205 (54597), AP8206 (46307), AP8207 (47711), AP8208 (44550), AP9007 (57201), AP9008 (57202) e AP9009 (57203)
FELTRIN SEMENTES LTDA	Cultivar	Estalo (34899)
GENERAL MILLS BRASIL ALIMENTOS LTDA_	Cultivar	AP2204 (33368), AP4001 (41446), AP4507 (33370), AP4509 (33815), AP4512 (37746), AP6004 (33369), AP6005 (33818), R400MR (33817) e XAP4511 (33816)
Green Sementes do Brasil Ltda.	Cultivar	G1501 (57344) e G1601 (57313)
LODÉA CONSULTORIA E COMÉRCIO DE SEMENTES LTDA ME_	Cultivar	N 1241 T (34670), N 15 262 (34672), N 34 1262 (34677) e N 54830 (34674)
MARCELO ANANIAS	Cultivar	W1016 (45310), W2030 (55169)
PIPOLINO INDÚSTRIA COMÉRCIO LTDA_	Cultivar	SH3111 (38874), SH4020 (38875), SH4044 (38873), SH4862 (38876), SH612M (38872), VWP211 (38877), VYP 212 (20217), VYP 213 (34664), VYP 220 (34662), VYP 315 (34658), VYP 316 (34661), VYP 317 (34660), VYP 410 (34659) e VYP 420 (34657)
SEEDCO DO BRASIL AGRICULTURA LTDA	Cultivar	POPTOP II (27735) e SD MAX (33246)

SEMENTES BOA ESPERANÇA LTDA	Linhagem parental	SBEP 1 (30287), SBEP 2 (30288), SBEP 3 (30289) e SBEP 4 (30290)
SEMENTES BOA ESPERANÇA LTDA	Linhagem parental	SBEP 1 (30287), SBEP 2 (30288), SBEP 3 (30289) e SBEP 4 (30290)
SG NUTRI - SEMENTES, GRÃOS E NUTRIENTES COMÉRCIO E SERVIÇOS LTDA	Cultivar	QUIMARPOP 161 (39956), QUIMARPOP 164 (39957), SEMAPOP 105 (39958) e SEMAPOP 176 (39959)
TSV SEMENTES DE VEGETAIS LTDA.	Cultivar	TSV 1776 (36722)
YOKI ALIMENTOS S/A	Cultivar	AP 22217 HT (21968), AP 2501 (21967), AP 4501 (21970), AP 4505 (26957), AP 8203 (27486), P 226 HT (21971), P 628 (21969) e P 630 (21972)

No âmbito das instituições públicas, destacam-se apenas dois Centros de Pesquisa no Brasil com cultivares de milho-pipoca registradas no MAPA: o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Juntas, essas instituições são responsáveis por 38 cultivares registradas, representando uma importante contribuição para o desenvolvimento dessa cultura. O IAC possui 15 registros, enquanto a UENF lidera com 23 registros (Tabela 2).

Tabela 2. Genótipos de milho-pipoca registrados no MAPA por instituições públicas.

Mantenedor	Tipo de registro	Denominação (Nº do registro)
INSTITUTO AGRONÔMICO - IAC	híbridos simples e linhagem parental	IAC 112 (00976), IAC 12 (27530), IAC 125 (20549), IAC 138 1 2 3 (33660), IAC 138 8 30 (33659), IAC 14 2 3 1 (27531), IAC 268 (32907), IAC 367 (32788), IAC 8383 (27532), IAC 9614 (33658), IAC 98 (39709), IAC HS SAM (27529), IAC Pipoca Sam (00984), IAC PR 514 (55688), IAC PR 814 (55702)
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF	Híbridos simples, população de polinização aberta e híbridos interpopulacionais	UENF 14 (29163), UENF DIVIBRIDO (47000), UENF Explosão (41750), UENF HS 01 (36498), UENF HS 02 (36499), UENF HS 03 (36500), UENF HS 04 (36501), UENF HS 05 (36502), UENF N 01 (39245), UENF N 02 (39246), UENF N 03 (39247), UENF P 01 (39248), UENF P 02 (39249), UENF P 03 (39250), UENF SSR 01 (51231), UENF SSR 02 (51232), UENF SSR 03 (51233), UENF SSR 04 (51234), UENF SSR 05 (51235), UENF SSR 06 (51236), UENF UEM 01 (29164), UENF UVV 01 (36497), UENF WS01 (46965)

Até o momento desta pesquisa, o RNC registrava apenas uma cultivar de milho-pipoca como tolerante ao déficit hídrico: a UENF WS01, desenvolvida pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Essa contatação evidencia a urgência de investimentos em estudos direcionados à obtenção de cultivares adaptadas às condições de restrição hídrica, especialmente em um cenário de preocupação crescente com a disponibilidade de recursos hídricos. O desenvolvimento de cultivares mais resilientes aos desafios ambientais, como a escassez de água, é fundamental para promover uma agricultura mais sustentável e eficiente no uso desse recurso vital. Nesse contexto, iniciativas que unam esforços públicos e privados têm um papel crucial, tanto no fortalecimento da pesquisa quanto na ampliação do acesso a tecnologias agrícolas capazes de atender às demandas futuras.

3.2 *Bacillus cereus*

Com o objetivo de analisar o *status* do *quantum* de proteção intelectual, ou seja, as patentes depositadas relacionadas à BPCP *Bacillus cereus*, utilizada neste estudo, foi realizada uma busca em dezembro de 2024. Os termos de busca para essa pesquisa incluíram o nome científico da espécie "*Bacillus cereus*" e foi considerado o resultado que contivesse qualquer um dos termos no título ou no resumo das patentes. A pesquisa foi conduzida em três bases de dados: Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO-Patentscope) e ESPACENET.

Ao realizar a pesquisa utilizando "*Bacillus cereus*" não foi obtido qualquer retorno na base de dados do INPI; no entanto, na plataforma Espacenet foi possível a identificação de 19 patentes, conforme detalhado na Tabela 3.

Tabela 4. Patentes de *Bacillus cereus* depositadas na Espacenet.

Nº. da publicação	Título	Inventores
US4929548A	Substance GIF-2 and process for production of the same	WAKAYAMA SACHIO [JP] ISHIKAWA FUMIYASU [JP] OISHI KUNIO [JP]
CN104447040A CN104447040B	Three-acid mixed fermentation bio-organic fertilizer and preparation method of fertilizer as well as application of fertilizer in tobacco planting	XIANG TIEJUN CHEN YUXIN YI BAIKE YUAN HUIXIONG LIU DAQI

CN104447038A CN104447038B	Biological organic/inorganic compound fertilizer as well as preparation method and application of fertilizer	XIAO HANQIAN XIANG TIEJUN YI BAIKE CHEN YUXIN LIU DAQI
CN104447038A CN104447038B	Bioactive organic pesticide-added fertilizer as well as preparation method and application of bioactive organic pesticide-added fertilizer	XIANG TIEJUN CHEN YUXIN YI BAIKE YUAN HUIXIONG
CN104447038A CN104447038B	NEW ANTIBACTERIAL MATERIAL WITH ANTAGONISTIC EFFECT AGAINST THE FOOD BORNE PATHOGENIC MICROORGANISM SUCH AS BACILLUS CEREUS AND LISTERIA MONOCYTOGENES, AND BACULLUS SUBSTILIS BY08	AHN BYUNG YONG [KR]
CA773102A	PROCESS OF PRODUCING D-RIBOSE-5-PHOSPHATE AND D-RIBOSE THROUGH FERMENTATION	MIZUHARA KUNIZO KINOSHITA SHUKUO SUZUKI TAKEO
KR102608235B1 KR20170101431A	PROBIOTIC COMPOSITION FOR IMPROVING ENVIRONMENT OF LIVESTOCK BARN	JUNG CHEONG HWAN [KR] KIM JUN TAE [KR] KIM KI SEI [KR] KIM TAE HWAN [KR]
US4771121A	Substance GIF-2 and process for production of the same	WAKAYAMA SACHIO [JP] ISHIKAWA FUMIYASU [JP] OISHI KUNIO [JP]
CN101869184A CN101869184B	Microbial feed additive and preparation method thereof	CUIPING WANG SHENGBO YOU YINWEI YOU SHOUSONG YUE YOUFENG ZHU XIAOFENG ZOUSCIENCES
US11414641B2 US2021087516A1	ARTICLE AND METHOD FOR DETECTING AEROBIC BACTERIA	CHANDRAPATI SAILAJA [US] NORDBY TERA M [US]
RU2032345C1	STRAIN OF BACTERIUM BACILLUS LICHENIFORMIS FOR PREPARING OF PREPARATION AGAINST SUNFLOWER WHITE ROT	MASLIENKO LYUBOV V [RU] LAVRICHENKO OLGA A [RU]

SU1036251A3	PROCESS FOR PREPARING ANTIBIOTIC C=15003 P-3	KHIGASIDE EIDZI KHATANO KAZUNORI ASAI MITSUKO
ES2147160A1 ES2147160B1	GIBBERELLIN PRODUCING AND PLANT GROWTH STIMULATING BACTERIA	GUTIERREZ MANERO JAVIER [ES] PROBENZA LOBO AGUSTIN [ES]
KR101353920B1 KR20130051802A	DISPENSER APPARATUS FOR DELIVERING MICROBIAL CONTROL AGENTS USING INSECT VECTOR	PARK HONG HYUN [KR] KIM JEONG JUN [KR] KIM KWANG HO [KR] LEE SANG GUEI [KR]
BR9302395A	PROCESSO PARA TRATAR LEITE CRU, E PROCESSO PARA PRODUZIR LEITE COM TEOR DE GORDURA DE 2%	DEGEN PETER J DEHN JOSEPH W JR ALEX TONY
BR9106732A	PROCESSO CATALISADO POR ENZIMA PARA PREPARAR UM PRODUTO SELECIONADO, PROCESSOS PARA PRODUZIR ASPARTAME, IMOBILIZAR UMA ENZIMA E IMOBILIZAR TERMOLISINA, CRISTAIS DE ENZIMA E DE TERMOLISINA IMOBILIZADAS RETICULADAS, DISPOSITIVOS QUE COMPREENDEM AS MESMAS E BIOSSENSOR PARA DETECTAR UM ANALITO DE INTERESSE EM UM FLUIDO	NAVIA MANUEL A CLAIR NANCY L ST
US2010166708A1	ANTIMICROBIAL AND ANTI-INFLAMMATORY THERAPIES AND COMPOSITIONS	GALLO RICHARD L [US] NIZET VICTOR [US] COGEN ANNA [US] LAI YUPING [US]
US2015208658A1	METHODS OF SOIL PEST CONTROL	EL QACEMI MYRIEM [CH] ASSAYRE JEROME YVES [CH] KURTZ BENEDIKT [CH]
US2010203521A1	METHOD FOR BACTERIAL LYSIS	KLAPPERICH CATHERINE M [US] KAUFMAN JESSICA DARE [US] KULINSKI MARIA DOMINIKA [US] ALTMAN DAVID [US] SINGH SATISH [US]

A resultante da pesquisa na base de dados da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO-Patentscope), possibilitou a identificação de 2.641 resultados de patentes inicialmente. Contudo, refinando a busca com a utilização de palavras-chave mais específicas, como *Bacillus cereus* inoculante/bioinoculante, foi possível a identificação de apenas um resultado relevante. Trata-se de uma patente

intitulada "Método de promoção do crescimento de gramíneas forrageiras por microbiolização de sementes com formulação inoculante à base de sulfato de zinco", com número de pedido 102016025908, publicada em 29 de maio de 2018.

Essa patente tem como inventor Alyson da Silva Amorim e colaboradores, e foi requerida pela Universidade Federal Rural de Pernambuco em colaboração com outros parceiros. Tal tecnologia descreve um método inovador para promover o crescimento vegetal de gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* sp. por meio da microbiolização de sementes com uma formulação líquida de inoculante à base de sulfato de zinco ($ZnSO_4$ 5 mM) e a bactéria *Bacillus cereus*, linhagem UAGC159, isolada da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). O método apresentado evidencia o potencial de *Bacillus cereus* como agente biotecnológico, contribuindo não apenas para a promoção do crescimento vegetal, mas também para a inovação no desenvolvimento de inoculantes agrícolas com formulações sustentáveis e eficientes.

A revisão de patentes evidencia o papel crucial da proteção intelectual no avanço da inovação tecnológica, especialmente no campo da biotecnologia agrícola. O depósito de patentes, como a tecnologia apresentada, garante a exclusividade de exploração comercial, incentivos colaborativos institucionais e promove a transferência de tecnologia para o setor produtivo. Além disso, a proteção de inovações contribui para o desenvolvimento de soluções sustentáveis, como inoculantes agrícolas eficientes, fortalecendo a competitividade e a sustentabilidade do agronegócio.

Capítulo I

***Bacillus cereus*: um aliado contra a seca no cultivo de milho-pipoca**



microorganisms



Article

***Bacillus cereus*: An Ally Against Drought in Popcorn Cultivation**

Uéliton Alves de Oliveira, Antônio Teixeira do Amaral Junior, Samuel Henrique Kamphorst, Valter Jário de Lima, Fábio Lopes Olivares, Shahid Khan, Monique de Souza Santos, Jardel da Silva Figueiredo, Samuel Pereira da Silva, Flávia Nicácio Viana et al.



<https://doi.org/10.3390/microorganisms12030517>





Bacillus cereus: An Ally Against Drought in Popcorn Cultivation

Uéliton Alves de Oliveira ¹, Antônio Teixeira do Amaral Junior ¹, Samuel Henrique Kamphorst ^{1,*}, Valter Jário de Lima ¹, Fábio Lopes Olivares ², Shahid Khan ³, Monique de Souza Santos ¹, Jardel da Silva Figueiredo ¹, Samuel Pereira da Silva ¹, Flávia Nicácio Viana ¹, Talles de Oliveira Santos ¹, Gabriella Rodrigues Gonçalves ¹, Eliemar Campostrini ¹, Alexandre Pio Viana ¹ and Freddy Mora-Poblete ⁴

- ¹ Plant Breeding Laboratory, Center for Agricultural Science and Technologies (CCTA), State University of Norte Fluminense Darcy Ribeiro—UENF, Campos dos Goytacazes 28013-602, RJ, Brazil; uelitonlves2011@hotmail.com (U.A.d.O.); amaraljr@uenf.br (A.T.d.A.J.); valter_jario@hotmail.com (V.J.d.L.); moniquesantos47@gmail.com (M.d.S.S.); jardel.figueiredo7@gmail.com (J.d.S.F.); samuelvip26@gmail.com (S.P.d.S.); flaaagregre@hotmail.com (F.N.V.); tallesdeoliveira@live.com (T.d.O.S.); rdgabriella@gmail.com (G.R.G.); campostrini@uenf.br (E.C.); pirapora@uenf.br (A.P.V.)
- ² Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes 28013-602, RJ, Brazil; fabioliv@uenf.br
- ³ Faculty of Agriculture Sciences, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados 79800-000, MS, Brazil; shahidkhan@ufgd.edu.br
- ⁴ Institute of Biological Sciences, University of Talca, Talca 34655-48, Chile; morapoblete@gmail.com
- * Correspondence: samuelhk@pq.uenf.br

Abstract: Despite the development of adapted popcorn cultivars such as UENF WS01, strategies such as bacterial inoculation are being explored to enhance plant resilience to abiotic stress. This study investigates the impact of drought stress on popcorn cultivation. Specifically, the aim was to identify the benefits of *Bacillus cereus* interaction with the drought-tolerant hybrid UENF WS01 for its morphophysiology and growth by comparing inoculated and non-inoculated plants under water-stressed (WS) and well-watered (WW) conditions. This evaluation was conducted using a randomized complete block design in a factorial arrangement. For WS with inoculation samples, there were significant increases in relative chlorophyll content, maximum fluorescence intensity, and agronomic water use efficiency. Chlorophyll content increased by an average of 50.39% for WS samples, compared to a modest increase of 2.40% for WW samples. Both leaf and stem biomass also significantly increased for WS relative to WW conditions. Overall, *B. cereus* inoculation mitigated the impact of water stress, significantly enhancing the expression of physiological and morphological traits, even when paired with a drought-tolerant hybrid.

Keywords: rhizobacteria; bioinoculant; plant growth-promoting bacteria (PGPR); water deficit; *Zea mays* Everta



Citation: de Oliveira, U.A.; Amaral Junior, A.T.d.; Kamphorst, S.H.; de Lima, V.J.; Olivares, F.L.; Khan, S.; de Souza Santos, M.; da Silva Figueiredo, J.; da Silva, S.P.; Viana, F.N.; et al. *Bacillus cereus*: An Ally Against Drought in Popcorn Cultivation. *Microorganisms* **2024**, *12*, 2351. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12112351>

Academic Editor: Mohamed Hijri

Received: 7 October 2024
Revised: 7 November 2024
Accepted: 9 November 2024
Published: 18 November 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In the context of climate change, drought is the most pressing threat to food security and human health [1,2]. This abiotic stress induces oxidative, osmotic, and ionic effects that negatively impact crop health [3,4], affecting photosynthetic activity, hormone production, membrane stability, nutrient uptake, and reactive oxygen species (ROS) accumulation. These changes ultimately affect plant growth, development, and productivity [5,6].

Given these challenges, *Zea mays* L. var. Everta is particularly notable for its ability to explode when subjected to high temperatures, a key characteristic of popcorn [7]. Popcorn is widely recognized not only for its sensory properties but also for its favorable nutritional profile, including fiber, vitamins, and minerals, making it a highly attractive product for consumers and solidifying its popularity in the snack market [8,9].

For popcorn, research has highlighted the significant impacts of water stress on various agronomic traits, including early reductions in leaf greenness and root angle and volume, as

well as decreases in grain yield, popping expansion, and grain weight [10,11]. By affecting the greenness index, water stress also compromises photosynthetic status and stomatal conductance [12].

Following extensive research on various popcorn genotypes under water stress conditions [10,11,13–15], Lima et al. (2021) [8] successfully registered the only drought-tolerant popcorn cultivar in Brazil, named UENF WS01, with the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock, and Food Supply (MAPA).

Developing cultivars adapted to water scarcity is essential; however, management strategies that enhance crop tolerance to abiotic stresses can also improve yields under adverse conditions [16,17]. Among these strategies, applying biostimulants, such as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), has proven to be a beneficial approach to increasing the productivity of various crops under abiotic stress [18–22].

Within the group of endophytes identified as an option for agricultural purposes, the genus *Bacillus* has emerged as a key player, widely distributed across various plant species, and recognized for its growth-promoting and biocontrol capabilities [23]. In particular, the microorganism *Bacillus cereus*, a cylindrical, Gram-positive bacterium, adapts well to diverse environments [24]. Mobile and capable of forming spores in oxygen, *B. cereus* is found in soil, dust, water, decaying matter, food, and plant roots [25]. Research has demonstrated that *B. cereus* strains promote plant growth in optimal conditions and underwater, salt, and heavy metal stresses [18,26].

Nonpathogenic strains of *B. cereus* offer several promising applications in agriculture [27–30]. Recent studies have highlighted their effectiveness in controlling phytopathogenic diseases, the bioremediation of contaminated soils, and enhancing tolerance to abiotic stresses [3,31–34].

Despite the recognized potential of *Bacillus cereus* to stimulate plant growth, research on its interactions with specific plant species remains limited. Specifically, for popcorn (*Zea mays* L. Everta) crops, there has been no investigation into the potential influence of this microorganism in mitigating the adverse effects of water deficit. Therefore, this study aims to explore the beneficial effects on the morphophysiology of the drought-tolerant popcorn hybrid UENF WS01 resulting from its interaction with *Bacillus cereus*. This analysis will consider both water-stressed conditions and normal irrigation conditions. This investigation is particularly relevant given that drought-tolerant genotypes can suffer significant production losses under prolonged or severe water stress conditions.

2. Materials and Methods

2.1. Inoculum Preparation

The *Bacillus cereus* strain UENF-LMS71 inoculum was prepared using the bacterial stock from the Laboratory of Cellular and Tissue Biology at the State University of Northern Rio de Janeiro (LBCT/UENF). The bacterial strain was inoculated on Petri dishes containing DYGS solid medium [35] using a platinum bacteriological loop. The plates were then incubated for 72 h at 30 °C.

For the pre-inoculum, a bacterial colony was transferred from the Petri dish to a test tube containing 5 mL of DYGS liquid medium using a bacteriological loop. This culture was incubated at 30 °C with orbital shaking at 180 rpm for 24 h. To prepare the final inoculum, 150 µL of the pre-inoculum was pipetted into an Erlenmeyer flask containing 100 mL of DYGS liquid medium and incubated under the same conditions for another 24 h [36]. Following incubation, the optical density (OD) was measured at 600 nm using a spectrophotometer to achieve a target concentration of 1.8×10^9 colony-forming units (CFUs mL⁻¹).

2.2. Plant Material

The hybrid UENF WS01, registered under the number 46965 in Brazil with the Ministry of Agriculture, Livestock, and Food Supply (MAPA), was utilized in this study. The seeds for this hybrid were produced in the greenhouse at the Research Support Unit of the State

University of Northern Rio de Janeiro (UENF) through the crossbreeding of parental lines L76 and L61.

2.3. Seed Preparation

The seeds of the popcorn hybrid were disinfested by immersing them in a 3% sodium hypochlorite (NaOCl) solution for 3 min, followed by a 2 min immersion in a 70% ethanol solution. Subsequently, the seeds were thoroughly rinsed in three successive washes with autoclaved distilled water. Pre-germination involved soaking the seeds in distilled water for 5 h. Afterward, the seeds were moistened with distilled water on germination paper and incubated in a BOD (biochemical oxygen demand) incubator at 25 °C for 24 h.

2.4. Experiment Implementation

The experiment was conducted in a greenhouse under semi-controlled conditions (rain shelter) at the Research Support Unit of UENF, located in Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil.

The experimental design was a factorial arrangement in randomized complete blocks comprising four treatments with nine replicates. The treatments were combinations of the presence and absence of water stress and bacterial inoculation: WSI (inoculated plants under water stress); WSC (control plants under water stress not inoculated); WWI (inoculated plants under normal irrigation); and WWC (control plants under normal irrigation not inoculated).

Seeds subjected to pre-germination were sown in PVC tubes (10 cm in diameter and 150 cm in length) filled with a mixture of 70% Basaplant® substrate and 30% perlite. The inoculation was performed at planting by applying 1 mL of the inoculum directly to the seeds. Non-inoculated treatments received 1 mL of a blank medium to ensure that the only difference between the treatments was the presence or absence of the inoculated bacteria.

Irrigation was halted for the WS treatments 24 days after planting (DAP) and resumed at 40 DAP when the plants reached 40% of field capacity (FC). The plants were maintained at this moisture level for an additional eight days. Conversely, the plants in the WW treatments were maintained at 100% FC throughout the experiment.

To estimate field capacity, the tubes were thoroughly irrigated prior to planting. Subsequently, they were allowed to percolate for 72 h to drain excess water. After this period, the tubes were weighed on a precision scale to determine their maximum water capacity (100%). Simultaneously, substrate samples were oven-dried at 70 °C for 72 h. The field capacity for each tube was calculated by subtracting the weight of the dry substrate (before saturation) from the wet weight after drainage. The tubes were weighed and watered at 2-day intervals throughout the experiment to maintain their respective capacities. The average water content per tube at relative field capacity was 4.772 L (100%) in WW and 3.157 L (40%) in WS samples. Plant weight was not considered when calculating the water capacity of the tubes.

Nutrient provision was facilitated through the complete solution by Hoagland and Arnon (1950) [37], with 224 ppm of nitrogen applied during all irrigation events until the initiation of stress. The nutrient solution provided essential nutrients to the corn under drought conditions, helping to compensate for the limitations in water and nutrient absorption from the soil. This ensured that the plant remained healthy, even under stress, allowing for effective assessments to be conducted. Water potential was monitored using eight Decagon MPS-6 (Decagon, Pullman, WA, USA) tensiometers, with four allocated to each water condition (WC), placed in the tubes at a depth of 20 cm. For the WS condition, irrigation was halted at 24 DAP, reaching 40% of FC at 40 DAP and the permanent wilting point (−1.5 MPa) at 44 DAP (Supplementary Material—Figure S1).

The climatic conditions—temperature (°C), relative humidity (%), and photosynthetically active radiation (kJ/m²)—were monitored using a WatchDog® meteorological station. Throughout the experiment, the average daily temperature ranged from 23.76 °C to 32.50 °C.

and humidity levels varied from 56.48% to 75.00%. Solar radiation had an average intensity that ranged from 423.08 to 185.44 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Supplementary Material—Figure S2).

2.5. Physiological Traits

All physiological traits described below were assessed 49 days after planting (DAP), corresponding to the V12 phenological stage. Measurements were conducted on the middle third of the last fully developed leaf between 10:00 h and 14:00 h.

2.5.1. Leaf Pigments and N Balance Index

The relative chlorophyll content (Chl), anthocyanin leaf content (Anth), flavonoid content (Flv), and nitrogen balance index (NBI) were measured using a portable Dualex[®] meter from Scientific (model FORCE-A, Orsay, France).

2.5.2. Efficiency of PSII (Chlorophyll Fluorescence)

Chlorophyll fluorescence, a measure of energy capture efficiency by photosystem II (Fv/Fm) centers, was evaluated using the MultispeQ v1.0 device (Photosynq Inc., East Lansing, MI, USA). In addition, this variable was also measured with a portable fluorometer (FluorPen FP 100, Photon Systems Instruments—PSI, Drásov, Czech Republic) that recorded transient OJIP fluorescence. This assessment was performed on the adaxial surface of the leaves, following a 20 min dark adaptation period.

2.5.3. Gas Exchange

Gas exchange was assessed using an IRGA gas analyzer (Li-Cor 6400, LiCor, Lincoln, NE, USA), with an external CO₂ supply of approximately 400 $\mu\text{L L}^{-1}$ and an irradiance of 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The following parameters were evaluated: net photosynthetic rate (A, $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), intercellular CO₂ concentration (C_i, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), and transpiration rate (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

2.5.4. Leaf Water Status and Agronomic Water Use Efficiency

The relative water content (RLWC) was determined using the plant material's fresh, turgid, and dry weights. Leaves were precisely cut into 1 cm diameter discs using a circular cutter and immediately weighed to obtain the fresh weight (FW) on a precision scale. The leaf discs were then immersed in distilled water bottles for 24 h. After this period, the surfaces of the leaf discs were dried on paper towels and reweighed to determine the saturated weight (SW).

The samples were subsequently placed in a forced-air oven at 70 °C for 72 h to obtain the dry weight (DW). The relative water content (%) was calculated using the formula $\text{RLWC} = [\text{FW} - \text{SW} / \text{SW} - \text{DW}] * 100$ (Turner, 1981). The specific leaf area (SLA) was determined using the same leaf discs, calculated by the formula $\text{SLA} = \frac{A}{\text{DW}}$ expressed in $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$.

The total amount of water transpired by each plant, or cumulative plant evapotranspiration (ET, $\text{dm}^3 \text{ plant}^{-1}$), was monitored throughout the growth cycle. Before each irrigation, the tubes were weighed, and the upper surface of each tube was covered with a plastic film (punctured with small holes to allow gas exchange) to prevent direct evaporation from the substrate surface. The agronomic water use efficiency (WUE_{agro} , g kg^{-1}) was calculated using the formula $\text{WUE}_{\text{agro}} = \frac{\text{BA}}{\text{ET}}$. Using data obtained with the IRGA gas analyzer, intrinsic water use efficiency ($\text{WUE}_{\text{int}} = A/g_s - \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) and instantaneous water use efficiency ($\text{WUE}_{\text{inst}} = A/E - \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) were also calculated.

2.6. Morphological Traits

The traits listed below were measured on all plants, and the averages for each treatment were subsequently calculated.

Plant height (PH, cm), leaf length (LL, cm), and leaf width (LW, cm) were measured using a tape measure. Stem diameter (SD, mm) was assessed using a digital caliper.

After evaluating these traits, the plants were separated into leaves and stems, placed in paper envelopes and stored in an oven at 70 °C until their weight stabilized. The average dry biomass for the leaves (LB, g) and stems (SB, g) was then determined using a precision analytical balance.

2.7. Measurement of Stomatal and Epidermal Cell Density

The adaxial and abaxial epidermal surfaces of the middle third of the last developed leaf specifically delineated between the central vein and the tip, were coated with nail polish. After allowing the polish to dry for 10 min, the dried enamel layer was carefully removed using adhesive tape and then transferred to a glass slide. The number of stomata (*s*) and epidermal cells (*ec*) was counted under a microscope equipped with a 40x objective lens. Each leaf surface (adaxial and abaxial) was analyzed in three microscope fields. This methodology follows the protocol outlined by Radoglou and Jarvis (1990) [38].

Adaxial and abaxial stomata density (SD_{AD} and SD_{AB} , expressed as stomata mm^{-2}) and adaxial and abaxial epidermal cell density (ECD_{AD} and ECD_{AB} , expressed as cells mm^{-2}) were calculated using the formulae $SD = \frac{s}{0.63}$ and $ECD = \frac{ec}{0.63}$, where 0.63 mm^{-2} is the surface area of the microscope (radius of 0.22 mm). The adaxial and abaxial stomatal indices (SI_{AD} and SI_{AB} , expressed as percentages) for each leaf surface were estimated using the expression $SI = 100 \left(\frac{SD}{EC} \right)$.

2.8. Analysis of Root Traits

The root material was sectioned into five equal sections (RB) along the height of the tubes from the upper to the lower end: 0–30 cm (a), 30–60 cm (b), 60–90 cm (c), 90–120 cm (d), and 120–150 cm (e). These sections were washed with water to remove any adhering substrate, followed by a rinse with distilled water. The roots were superficially dried with papertowels and stored in a refrigerator at 4 °C for later processing.

Each root section was placed in an A4 acrylic tray containing approximately 1.0 L of water (0.5 to 1.0 cm deep), ensuring that the root samples were spread out to minimize overlap for photographing with a digital camera. The images captured were then processed using ImageJ software, version 1.5, and root morphology was analyzed with GiA Roots software, version 4.5 [39].

The specific root lengths (SRLs) for each soil section (SRL_{sample} , $m \text{ g}^{-1}$) were calculated from the analyzed images using the formula $SRL_{sample} = \frac{TRL_{sample}}{RB_{sample}}$, where TRL_{sample} represents the total length of the root segments (m) captured in the photographs and RB_{sample} refers to the dry biomass of these root segments (g) [40]. The total SRL_{sample} ($m \text{ g}^{-1}$) of each segment was determined by applying the equation $SRL_{sec} = \frac{SRL_{sample} * RB_{sec}}{RB_{sample}}$.

The root weight density of each soil section (RWD_{sample} , $g \text{ m}^{-3}$) was calculated following the method proposed by Elazab et al. [40], using the formula $RWD_{sec} = \frac{RB_{sec}}{\pi * R^2 * L}$, where RB_{sec} is the dry biomass of the root in the soil section (g), R is the tube radius (0.07 m), and L is the length of each tube segment (0.30 m).

2.9. Data Analysis

Individual analysis of variance was performed using the model $Y_{ij} = m + BC_i + B_j + e_{ij}$, where Y_{ij} is the observation of genotype i in block j , m is the overall mean, BC_i is the fixed effect attributed to bacterium i , B_j is the random effect of block j , and e_{ij} is the experimental error associated with the observation Y_{ij} , assuming it is normally independently distributed (NID) with a mean of 0 and variance σ^2 .

Subsequently, a combined analysis of variance was conducted to determine potential interactions between the genotypes with the two water availability conditions, following the model $Y_{ijk} = m + B/WC_{jk} + WC_j + BC_i + BC_i * WC_{ij} + e_{ijk}$, where Y_{ijk} is the observation of genotype i in water condition j in block k , m is the overall mean, B/WC_{jk} is the effect of block k in water condition j , WC_j is the fixed effect of water condition j , BC_i is the fixed effect of bacterium i , $BC_i * WC_{ij}$ is the fixed effect of the interaction between bacterium i and

water condition j , and e_{ijk} is the experimental error associated with the observation Y_{ijk} , with NID $(0, \sigma^2)$.

The proportional reduction (%) of each trait, given the comparison between the treatments within each water condition, was calculated using the expression

$$100 - \frac{Y_{WSI \text{ or } Y_{WWI}}}{Y_{WSC \text{ or } Y_{WWC}}} * 100, \text{ where } Y \text{ is the overall mean of the trait in the treatments.}$$

Subsequently, the means of the treatments were compared using Tukey's test at a 5% probability level. Statistical analyses were conducted using the GENES computer program [41], while graphical representations were generated using the statistical software R (R Core Team, version 4.2.2) [42].

3. Results

The traits Chl, Flav, NBI, Fm, Fv/Fo, A, gs , and RLWC exhibited highly significant differences due to the effect of inoculation with *Bacillus cereus*. Anth, Fm/Fo, Fv/Fm, Ci, WUEint, and WUEinst showed significance at $p \leq 0.05$ for this source of variation. However, Fv, E, NPQT, PHI2, and WUEagro did not differ significantly at $p < 0.05$ for this source of variation (Supplementary Material—Table S1).

For the source of variation 'water condition' (WC), significant traits at $p < 0.01$ included Chl, Flv, Anth, NBI, Fm, Fv, Fm/Fo, Fv/Fo, A, gs , Ci, E, PHI2, and WUEint, while Fv/Fm and NPQT demonstrated significance at $p < 0.05$. On the other hand, RLWC and WUEinst did not differ significantly at $p < 0.05$.

A significant interaction between the bacterium and water condition (BC*WC) was observed for some physiological traits. Analysis of variance for this source of variation revealed significant differences for Chl, Flv, and Fm at $p < 0.01$ and Anth and Fv/Fo at $p < 0.05$. The other traits did not show significant differences at $p < 0.05$ (Supplementary Material—Table S1).

Inoculation with *B. cereus* resulted in a percentage increase in all evaluated physiological traits in both WS and WW conditions, except for WUEint and WUEinst in WS samples and Fm, WUEint, WUEinst, and WUEagro in WW samples (Figure 1).

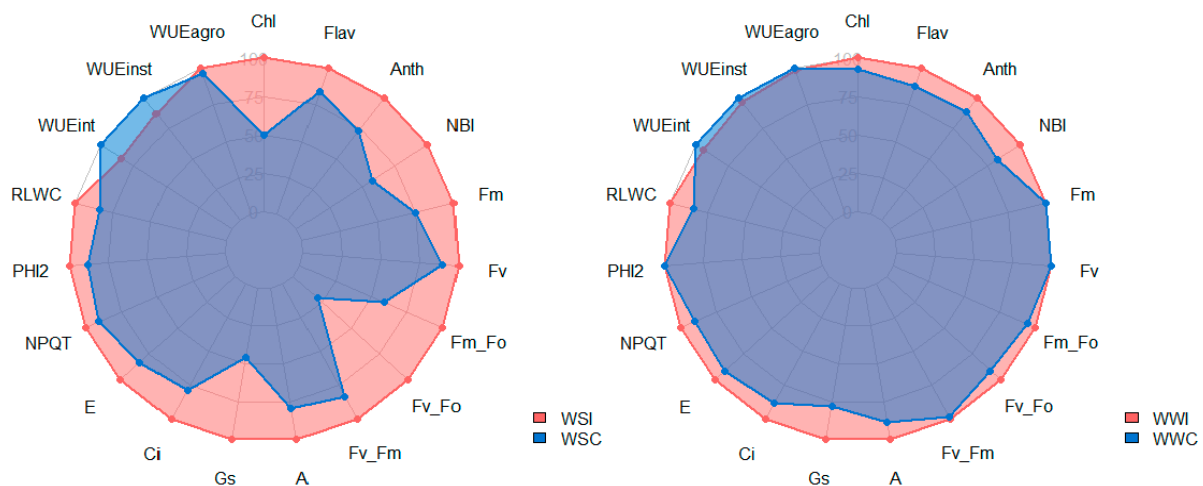


Figure 1. Comparison of the percentage reduction (%) in physiological traits between treatments under water stress (WSI and WSC) and well-watered (WWI and WWC) conditions. Relative chlorophyll content (Chl), leaf anthocyanin content (Anth), flavonoids (Flv), nitrogen balance index (NBI), maximum fluorescence intensity (Fm), variable fluorescence (Fv), basal quantum production of non-photochemical processes in PSII (Fm/Fo), the potential quantum efficiency of PSII (Fv/Fo), potential quantum yield (Fv/Fm), net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (Gs), intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (E), non-photochemical quenching (NPQT), the quantum yield of PSII (PHI2), relative leaf water content (RLWC), intrinsic water use efficiency (WUEint), instantaneous water use efficiency (WUEinst), and agronomic water use efficiency (WUEagro).

Compared with the control plants under water stress (WSC), the inoculated plants under the same condition (WSI) exhibited significant percentage increases in several physiological traits. Specifically, Chl increased by 50.39%, Anth by 26.63%, NBI by 42.74%, Fm/Fo by 41.11%, Fv/Fo by 78.74%, A by 20.49%, *gs* by 54.55%, and Ci by 21.61%. Under full irrigation conditions, the inoculated plants (WWI) also showed increases compared to the well-watered controls (WWC), though the gains were less pronounced. Notable increases included Flav by 10.91%, Anth by 13.90%, NBI by 17.43%, A by 11.60%, *gs* by 22.22%, Ci by 12.65%, and RLWC by 15.74% (Figure 1).

All physiological traits demonstrated a significant increase with the inoculation of *B. cereus* in plants compared to the respective control groups, except for the variables related to water status: WUEint, WUEinst, and WUEagro (Figure 2).

Regarding actual values, the traits related to leaf pigments, chlorophyll fluorescence, and gas exchange exhibited statistically significant differences within and between the treatments across both WCs. Specifically, Chl, Flav, Anth, NBI, and A all demonstrated increases. In the WS condition, Chl increased by an average of 6.30 in WSI compared to the control, while, for the WWI group, the increase was 2.40. Flavonoids increased by an average of 0.17 in the WSI group and 0.08 in the WWI group. Leaf anthocyanin content increased by an average of 0.07 in the WSI group and 0.02 in the WWI group. The nitrogen balance index saw an average increase of 6.18 in the WSI group and 7.27 in the WWI group compared to their respective controls. The net photosynthetic rate increased by an average of 3.48 mol CO₂ m⁻² s⁻¹ in the WSI group and 2.69 mol CO₂ m⁻² s⁻¹ in the WWI group.

Transpiration rate and Fv varied only between water conditions, while Fm/Fo and Ci exhibited significant differences within and between water conditions, specifically under WS. Stomatal conductance and PHI2 differed between the WSC and WWC groups and within the WS condition. Maximum fluorescence intensity and Fm/Fo showed differences between the WSC and WWC groups and within the WS condition. However, Fv/Fm differed only between the WSC and WWC groups. Non-photochemical quenching displayed a significant difference only between the WSI and WWI groups.

In the WSI treatment, E increased by 0.29 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ compared to the control, while, in the WWI treatment, the increase was 0.87 mmol H₂O m⁻² s⁻¹. Variable fluorescence showed an average increase of 0.02 [a.u.] in the WSI group and 0.12 [a.u.] in the WWI group. The basal quantum production of non-photochemical processes in PSII increased by an average of 1.11 [a.u.] in the WSI group and 1.63 [a.u.] in the WWI group. Intercellular CO₂ concentration experienced an average increase of 24.74 μmol CO₂ mol⁻¹ in the WSI group and 40.33 μmol CO₂ mol⁻¹ in the WWI group compared to the control. Stomatal density increased by 0.06 mol H₂O m⁻² s⁻¹ in the WSI and WWI groups. The quantum yield of PSII recorded a mean increase of 0.05 [a.u.] in the WSI group and 0.13 [a.u.] in the WWI group. Maximum fluorescence intensity exhibited a mean increase of 14,565.11 [a.u.] in the WSI group and 12,077.11 [a.u.] in the WWI group compared to the WSC and WWC groups, respectively. The increases for Fv/Fo, Fv/Fm, and NPQT were 1.37 [a.u.], 0.11 [a.u.], and 0.32 [a.u.] in the WSI group and 0.3 [a.u.], 0.01 [a.u.], and 0.18 [a.u.] in the WWI group, respectively.

Regarding water status-related traits, RLWC displayed significant differences only within WCs. Intrinsic water use efficiency differed between treatments in the control group and within the WS condition. Instantaneous water use efficiency showed differences between treatments within WS, while WUEagro differed only between WCs. In the WS condition, RLWC increased by an average of 12.34 compared to the control, while, in the WW condition, the increase was 4.38. Intrinsic water use efficiency displayed an average increase of 15.56 μmol CO₂ mol⁻¹ H₂O in WS conditions and 33.02 μmol CO₂ mol⁻¹ H₂O in WW conditions compared to the control. Instantaneous water use efficiency recorded an average increase of 1.17 μmol CO₂ mmol⁻¹ H₂O in WS conditions and 0.31 μmol CO₂ mmol⁻¹ H₂O in WW conditions. Agronomic water use efficiency saw an average increase of 0.17 kg m⁻³ in WS conditions and 1.19 kg m⁻³ in WW conditions (Figure 2).

Analysis of variance revealed significant differences for the 19 morphological traits evaluated in hybrid UENF WS01. Traits that exhibited highly significant differences ($p < 0.01$) concerning the source of variation ‘bacterium’ (B) were LW, LB, SB, SLA, SIAB, SIAD, and RWDC, while LL, SDAB, SDAD, and MNRa showed significance at $p < 0.05$. Plant height, SD, ECDAB, ECDAD, MNRb, MNRc, MNRd, and SRLe did not show significant differences at $p < 0.05$ (Supplementary Material—Table S2).

Considering the water conditions as the source of variation, significant traits at $p < 0.01$ included PH, SD, LW, LB, SB, SDAB, ECDAB, SIAB, MNRb, MNRc, and SWDc, while LL, ECDAD, MNRd, and SRLe showed significance at $p < 0.05$. Specific leaf area, SDAD, SIAD, and MNRa did not show significant differences at $p < 0.05$ (Supplementary Material—Table S2).

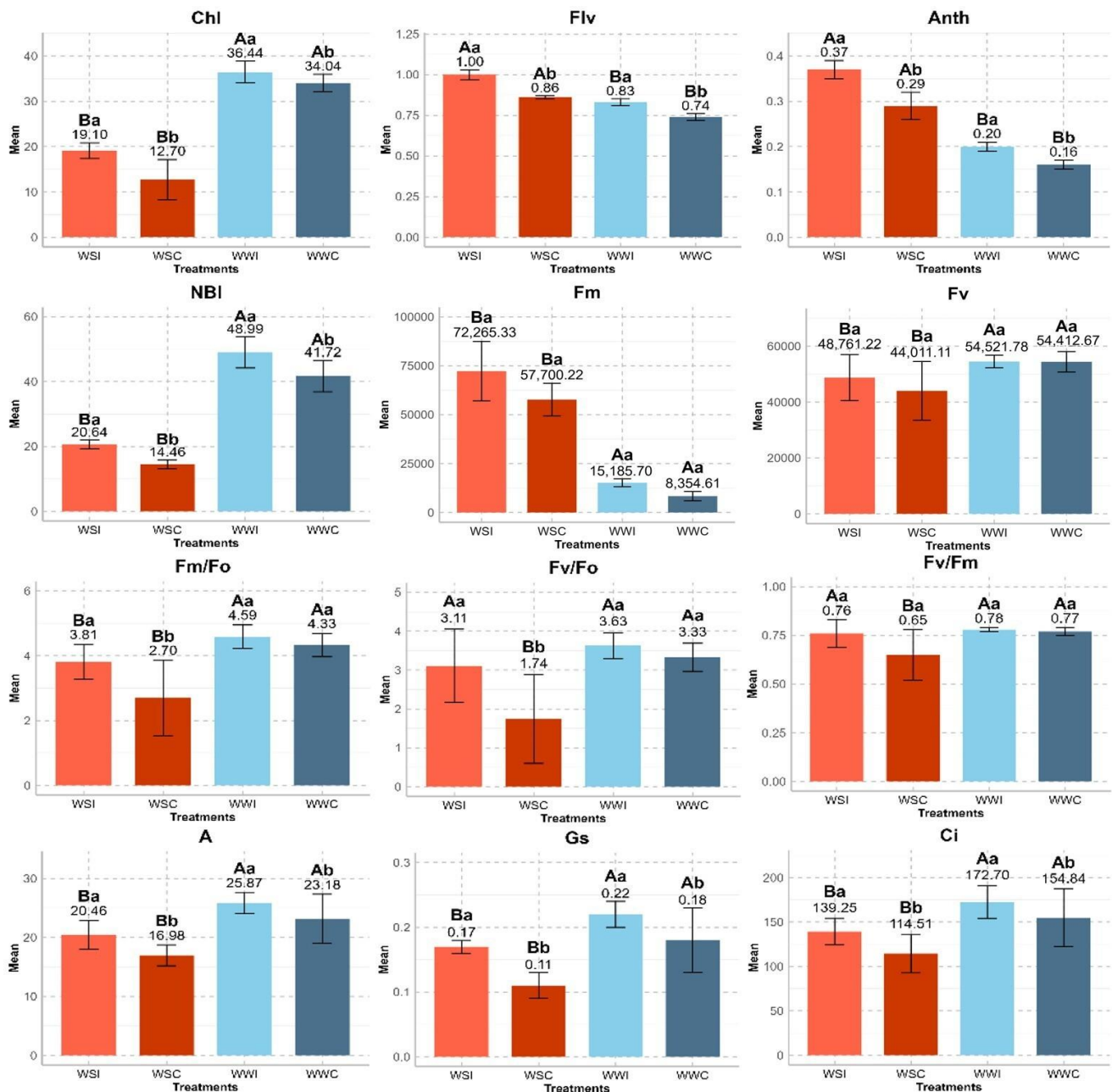


Figure 2. Cont.

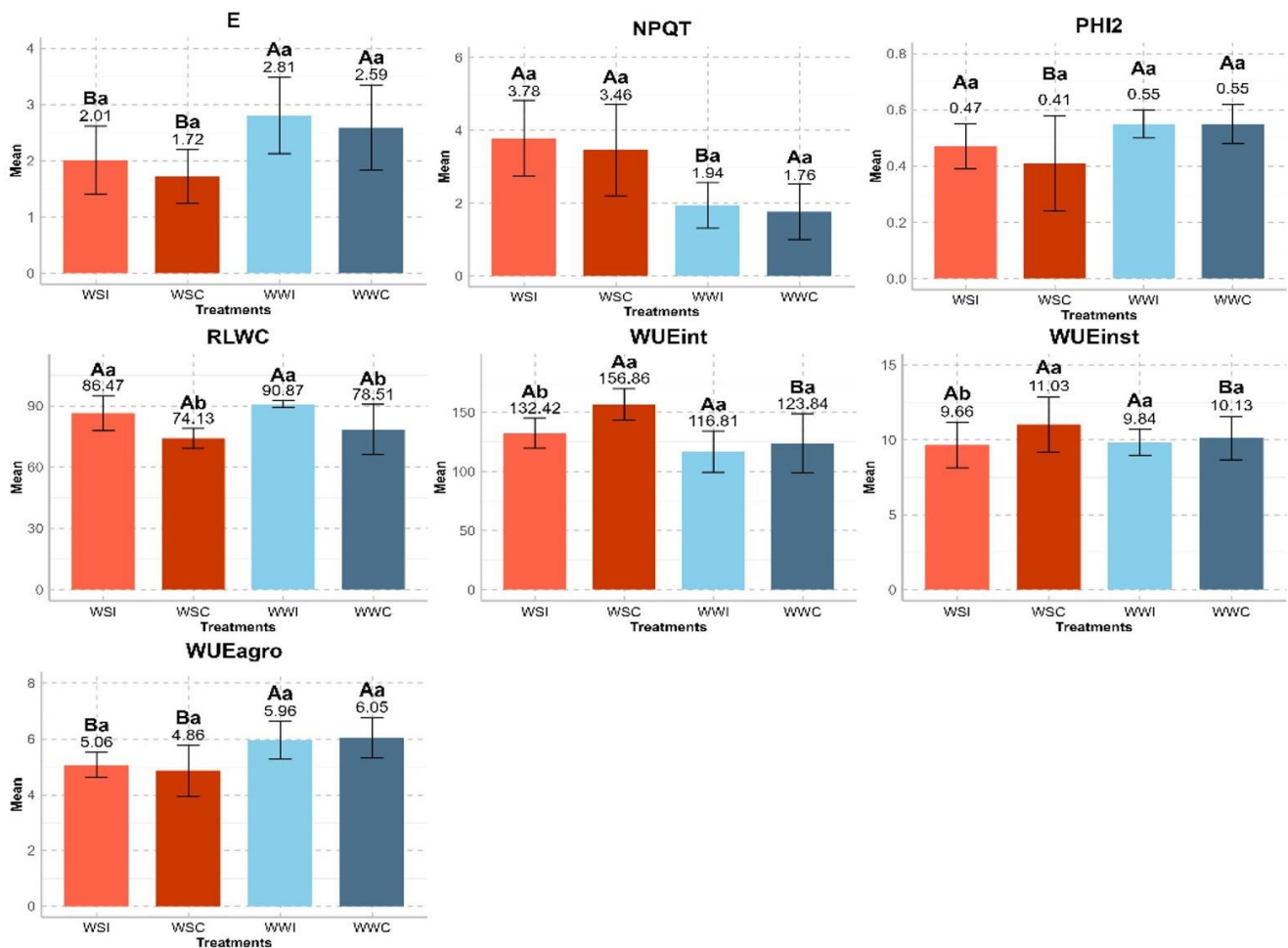


Figure 2. Comparison of means of physiological traits evaluated in hybrid UENF WS01 inoculated with *Bacillus cereus* under two water conditions. Uppercase letters indicate significantly different treatments between water conditions (WSI*WWI and WSC*WWC), and lowercase letters represent significantly different treatments within the water condition (WSI*WSC and WWI*WWC) at the 5% level by Tukey’s test. Error bars show the standard deviation. Relative chlorophyll content (Chl), leaf anthocyanin content (Anth), flavonoids (Flv), nitrogen balance index (NBI), maximum fluorescence intensity (Fm), variable fluorescence (Fv), basal quantum production of non-photochemical processes in PSII (Fm/Fo), the potential quantum efficiency of PSII (Fv/Fo), potential quantum yield (Fv/Fm), net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (Gs), intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (E), non-photochemical quenching (NPQT), the quantum yield of PSII (PHI2), relative leafwater content (RLWC), intrinsic water use efficiency (WUEint), instantaneous water use efficiency (WUEinst), and agronomic water use efficiency (WUEagro).

Regarding the interaction between the bacterium and water condition (BC*WC), analysis of variance showed a significant difference only for RWDC at $p < 0.05$ (Supplementary Material—Table S2).

The presence of inoculation mitigated the impact of water deficit for almost all physiological traits, with LL and SLA as exceptions. Compared with the WSC condition, traits that exhibited the highest percentage increases in the WSI condition were LB (13.33%), SB (20.24%), SDAB (11.45%), SDAD (14.72%), SIAB (19.96%), MNRA (14.43%), SRLC (16.75%), and RWDC (25.18%) (Figure 3).

In the WW condition, the presence of inoculation enhanced PH, SD, LB, SB, SDAB, SDAD, SIAB, and SAAD, with increases of 0.15%, 1.00%, 4.30%, 8.67%, 9.53%, 6.93%, 17.12%, 10.72%, and 41.29%, respectively (Figure 3). All root traits increased with the inoculation with *B. cereus* in both water conditions (Figure 3).

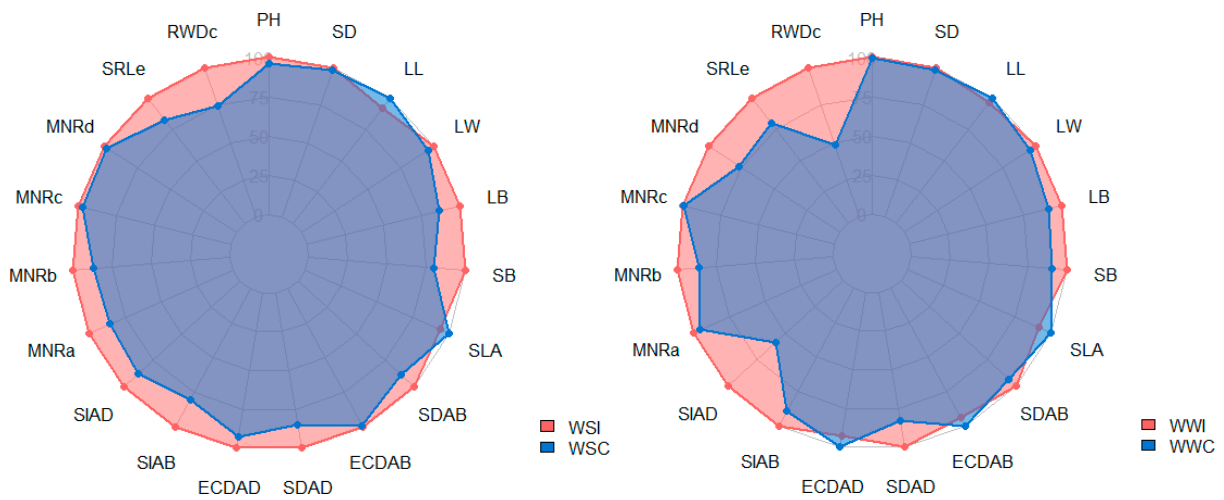


Figure 3. Comparison of the percentage reduction (%) in morphological and root traits between water stress (WSI and WSC) and well-watered (WWI and WWC) conditions. Plant height (PH), stem diameter (SD), leaf length (LL), leaf width (LW), leaf biomass (LB), stem biomass (SB), specific leaf area (SLA), abaxial stomata density (SDAB), abaxial epidermal cell density (ECDAB), adaxial stomata density (SDAD), adaxial epidermal cell density (ECDAD), abaxial stomatal index (SIAB), adaxial stomatal index (SIAD), mean root number (MNR, sections a, b, c, and d), specific root length (SRLe), and root weight density (RWDC).

Except for LL, SLA, ECDAB, and ECDAD, all other morphological traits evaluated showed significant increases with inoculation in both water conditions compared to the non-inoculated controls (Figure 4).

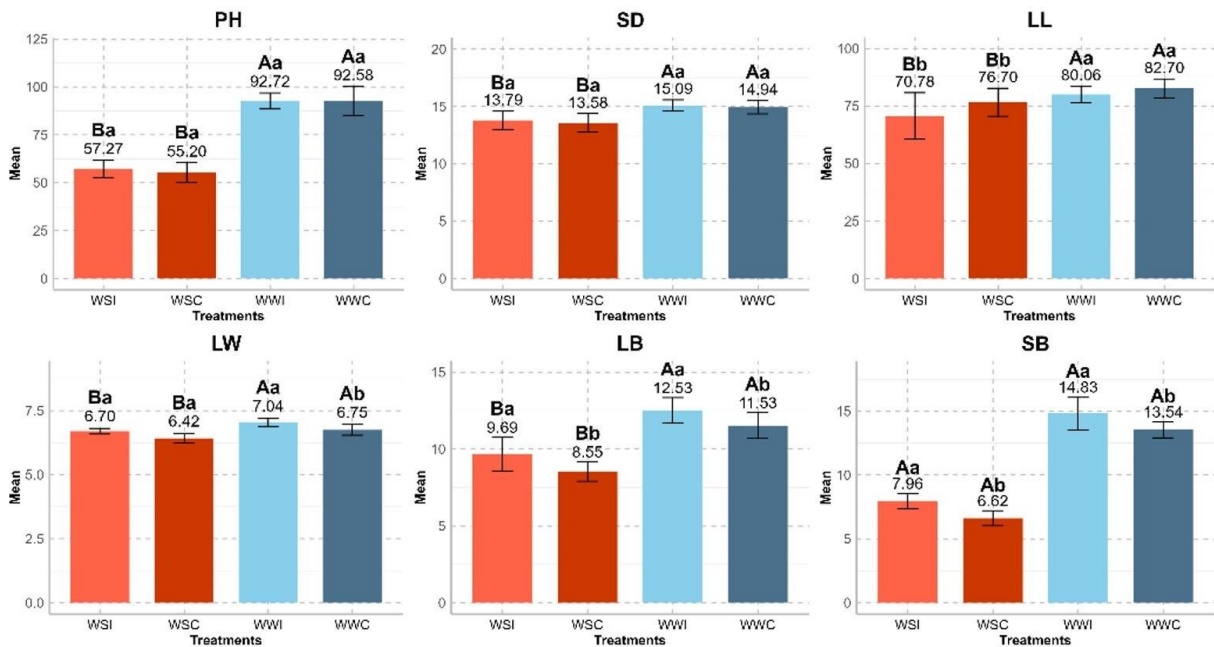


Figure 4. Cont.

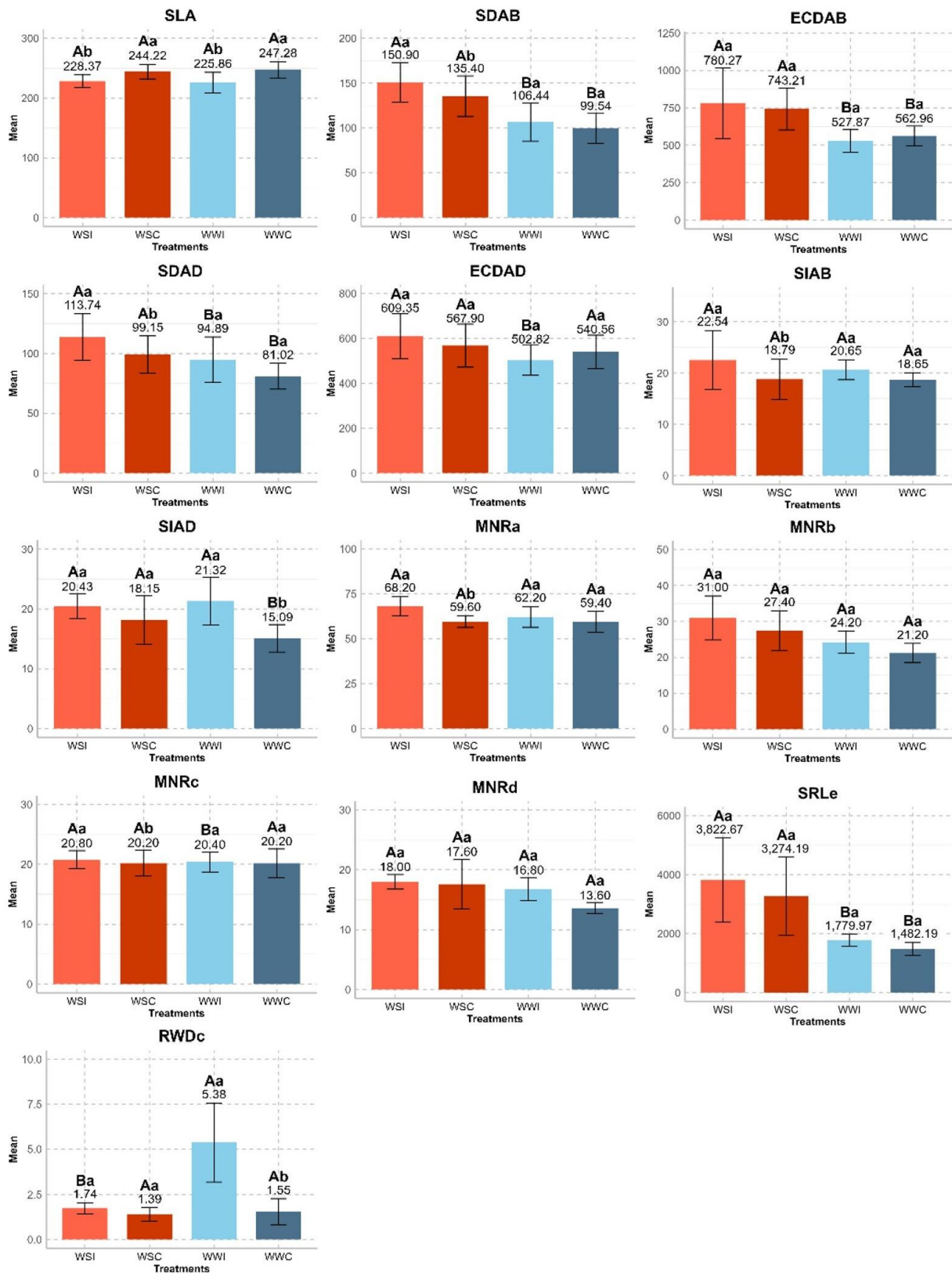


Figure 4. Comparison of means of morphological traits evaluated in hybrid UENF WS01 inoculated with *Bacillus cereus* under two water conditions. Uppercase letters indicate significantly different treatments between water conditions (WSI*WWI and WSC*WWC), and lowercase letters represent significantly different treatments within water conditions (WSI*WSC and WWI*WWC) at a 5% probability

level by Tukey's test. Error bars show the standard deviation. Plant height (PH), stem diameter (SD), leaf length (LL), leaf width (LW), leaf biomass (LB), stem biomass (SB), specific leaf area (SLA), abaxial stomata density (SDAB), abaxial epidermal cell density (ECDAB), adaxial stomata density (SDAD), adaxial epidermal cell density (ECDAD), abaxial stomatal index (SIAB), adaxial stomatal index (SIAD), mean number of roots (MNR, sections a, b, c, and d), specific root length (SRLe), and root weight density (RWDc).

Comparing the morphological traits related to plant growth, LB and SB were the only traits that displayed significant differences within and between water conditions. Plant height and SD only showed differences between water conditions, while LW differed both between and within each water condition. Specific leaf area differed only within each water condition.

In the water deficit condition, LB and SB increased by 1.14 g and 1.34 g, respectively, when inoculated with *B. cereus*. In contrast, under well-irrigated conditions with the presence of the bacterium, increases of 1.00 g and 1.29 g were observed compared to the absence of inoculation. Plant height increased by 2.07 cm on average with inoculation in the WS condition and by 0.14 cm in the WW condition. Stem diameter increased by 0.21 mm in the WSI group and 0.15 mm in the WWI group. Leaf width saw an average increase of 0.28 cm in the WSI group and 0.29 cm in the WWI group. Conversely, LL and SLA demonstrated reductions of 5.92 cm and 15.85 cm² g⁻¹ in the WSI group and 2.64 cm and 21.42 cm² g⁻¹ in the WWI group, respectively.

Regarding epidermal cell and stomatal density, SDAB and SDAD differed between and within the WSI and WSC water conditions. Abaxial epidermal cell density exhibited differences only between water conditions, whereas ECDAD showed variations only in the WSI and WWI groups. Abaxial stomatal index varied only within the WS condition, while SI_{AD} differed only between water conditions for the absence of inoculation and within the WW condition for treatments WWI and WWC.

For the SDAB trait, there was an average increase of 15.50 in the WS condition and 6.90 in the WW condition. Adaxial stomata density increased on average by 14.59 in the WS condition and 13.87 in the WW condition compared to the control. For SIAB and SIAD, there was an average increase of 3.75 and 2.28 in the WS condition and 1.99 and 6.23 in the WW condition, respectively. Abaxial and adaxial epidermal cell density increased by 7.06 and 41.45 in the WS condition and decreased by 35.09 and 37.74 in the WW condition, respectively.

Regarding root traits, MNR_a differed significantly only within the water conditions, specifically for the WS condition. The mean number of roots (sections b and d) showed no significant differences between treatments. In the case of section c, the mean root number displayed variations only between water conditions when inoculated and within the WS condition only with inoculation. Specific root length (section e) demonstrated significant differences between water conditions, while RWD_c differed only between water conditions with inoculation and within the WW condition, also with inoculation.

For MNR_a, an average increase was observed in the WS condition of 8.60 cm in the WW condition of 2.80 cm. Regarding MNR_c, there was an average increase of 0.60 cm in the WS and 0.20 cm in the WW conditions. In the WS condition, SRLe showed an average increase of 542.48 compared to the control, while, in the WW condition, the increase was 297.78. As for RWD_c, an average increase of 0.35 in the WS and 3.83 in the WW conditions was recorded compared to the control (Figure 4).

4. Discussion

Considering only the comparison of water conditions without analyzing the influence of *B. cereus*, the greater accumulation of flavonoids and anthocyanins (Flav and Ant) under water deficit conditions was due to the osmoprotective effect of the plant. This response increased antioxidant capacity under stress conditions, leading to elevated ROS production, which helped preserve the photosynthetic apparatus and cellular components from oxidative damage, thus facilitating drought resilience [43,44].

Furthermore, disregarding the influence of the inoculant, the imposition of a water deficit resulted in a significant reduction in chlorophyll content and the nitrogen balance index (Chl and NBI). This decrease, which was also statistically significant ($p < 0.05$), led to a reduction in the photosynthetic rate, which, in turn, resulted in less growth and production of the plants, as indicated by our results and corroborated by previous studies [9,43].

The WS condition also affected Chlorophyll fluorescence-related traits, resulting in increased Fm and NPQT. In contrast, there were reductions in Fm/Fv, Fv/Fo, Fv/Fm, and PH12. The increase in NPQT reflects the plant's capacity for heat dissipation when there is excess light energy [45]. High levels of NPQT can induce a low electron transport rate (ETR), preventing the formation of ROS, which can damage photosystem II (PSII) or inhibit the repair of its reaction centers [46].

All chlorophyll fluorescence traits evaluated in this study showed a greater increase in the WSI group compared to plants in the WSC, WWI, and WWC groups. These results suggest a beneficial effect of *B. cereus* in mitigating damage caused by water stress, leading to the greater adaptation of popcorn to this adverse condition. Similar effects were observed in common corn by Bittencourt et al. (2023) [47], in common corn and sorghum by Aquino et al. (2019) [48], and in soybean, rice, and wheat by Kulkova et al. (2023) [25].

Navarro-Torre et al. (2023) [49] reported that *B. cereus* contributes to greater plant water conservation, improves photosynthetic efficiency, reduces oxidative stress, and preserves cellular integrity. These mechanisms enable plants to maximize light energy capture, decrease ROS production, and maintain cellular structure, thus enhancing survival and productivity in water-restrict environments [50].

Popcorn plants of the UENF WS01 genotype exhibited lower gas exchange rates in the WSC group. The decrease in stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration, and transpiration rate imposes limitations on photosynthesis due to their direct influence on CO₂ availability. These reductions also lead to stomatal limitations, as wider stomatal openings allow for greater CO₂ diffusion into the substomatal chamber [51]. Reduced stomatal conductance decreases heat loss via transpiration, resulting in higher leaf temperatures that can further damage the thylakoid membranes, as the photochemical efficiency of PSII is compromised [52].

Inoculation with *B. cereus* significantly increased transpiration, and the enhancement in photosynthesis was often linked to higher chlorophyll content and increased transpiration rates [53]. Similarly, sugarcane plants inoculated with *Bacillus subtilis* exhibited higher gas exchange rates, suggesting an adjustment in stomatal regulation to mitigate the effects of water stress [54]. Plants with improved photosynthetic efficiency often exhibit enhancements such as increased photosynthetic rates, greater biomass production, increased growth and development, and greater resilience to adverse conditions. These advantages contribute to more robust and productive plants that perform better even under environmental stressors such as drought and heavy metal contamination.

Among the impacts of water stress, the observed increase in intrinsic water use efficiency (WUE_{int}) is primarily attributed to a significant reduction in plant transpiration, driven by a decrease in green leaf area due to water scarcity. Our results indicate a notable increase in WUE_{int} under water stress conditions ($p < 0.01$), suggesting that plants optimize their water usage during periods of limited availability. This enhancement in water use efficiency can lead to more effective transpiration, which aids leaf cooling [54]. Taiz and Zeiger (2017) [55] noted that climatic conditions significantly influence gas exchange. Thus, the ability of the plants to maintain gas exchange efficiency, even under stress, is crucial for their resilience and overall performance [56]. The WS condition adversely affected plant morphological traits, including PH, SD, LL, LW, LB, SB, and SLA. A reduction in leaf area under water stress is often associated with increased production of abscisic acid (ABA) in plants, which can stimulate ROS generation, thereby damaging cells and curtailing plant growth and leaf expansion [57–59]. In this context, Kumdee et al. (2023) [60], evaluating morphological and physiological attributes of common corn plants under water deprivation,

demonstrated that reducing light capture through diminished leaf area decreases cell division and dry matter accumulation.

Studies by different authors have highlighted the ability of *Bacillus cereus* strains to effectively stimulate plant growth under both usual and adverse environmental conditions [18,32,61,62]. Plant growth promoters can enhance growth under drought stress by producing salicylic acid, improving hormonal balance, and increasing phosphorus uptake [63]. Bandeppa et al. (2019) [64] observed that seeds inoculated with *B. cereus* significantly increased the mean values of growth traits, inducing drought tolerance, possibly due to the ability of the bacterium to solubilize P, K, and Zn, thus contributing to improved plant nutrition and promoting healthier growth and development, with a consequent increase in stress tolerance [65].

In the present study, inoculation with *B. cereus* in popcorn hybrid UENF WS01 resulted in beneficial effects on several morphological plant growth traits, including LW, LB, SB, and SLA. Our results indicate significant increases in these traits ($p < 0.01$), highlighting the potential of bioinoculation to promote plant development under water stress conditions. These findings underscore the importance of microbial inoculants in enhancing plant resilience and growth performance during periods of limited water availability. Stomatal and epidermal cell density increased due to water stress, indicating a form of adaptation to water scarcity. Hussain et al. (2019) [66] and Song et al. (2020) [67], in studies on drought and heat tolerance in *Zea mays*, found that increases in stomata and epidermal cells in stressed corn plants were associated with improved water use efficiency and the ability to tolerate adverse conditions. These adaptations enable corn plants to maximize water absorption from the soil and minimize water loss through transpiration, ensuring survival under adverse environmental conditions [66].

Among the various root traits evaluated, water stress significantly increased only in section e, which extended from 120 to 150 cm of the specific length. Roots play a critical role in sensing water deficit signals and the absorption of water and nutrients [68]. From germination, roots primarily capture water and nutrients essential for plant development and growth [69]. The observed increase in the specific length of this root section is attributed to the production of hormones by bacteria, which stimulate root volume expansion and enable greater soil volume exploration, optimizing water absorption as an adaptive strategy to water deficit conditions [70].

In this study, bacterial inoculation increased the biomass of both the shoots and the deepest portion of the root system of popcorn plants. This enhancement may be related to increased root length and the improved formation of lateral roots and root hairs, responding to the need for water and nutrient absorption in plants exposed to water stress. The impacts of bioinoculation on morphological and physiological traits highlight the various mechanisms through which *B. cereus* positively influences plant growth and development, even under challenging environmental conditions.

Identifying morphophysiological variability in popcorn inoculated with *B. cereus* holds promise for breeding programs and biotechnological initiatives to develop future biotechnological products, such as bioinoculants. By leveraging the beneficial effects of *B. cereus* on plant morphophysiology for stress tolerance, plant breeders, physiologists, and biotechnologists are poised to contribute to the development of fortified cultivars that are resilient and can thrive in adverse conditions, thus positively impacting agricultural sustainability and food security.

5. Conclusions

The conclusion of this study highlights the effectiveness of inoculation with *Bacillus cereus* in promoting morphophysiological adaptations in popcorn plants (UENF WS01 genotype) under water deficit conditions. Inoculated plants showed significant improvements in various parameters, such as relative chlorophyll content, maximum fluorescence intensity, chlorophyll fluorescence, stem diameter, leaf area, root length and density, increased biomass, and improved water use efficiency, suggesting a crucial role of this bacterium

in mitigating the negative effects of water stress. Furthermore, the increase in stomatal density and epidermal cells, along with the strengthening of the root system, reinforces the adaptive capacity of plants in the face of water scarcity.

These results indicate great potential to use *B. cereus* in crop improvement programs and to develop bioinoculants, contributing to enhanced plant resilience in adverse environments and promoting more sustainable agriculture. The application of these technologies can, therefore, be a valuable tool for improving food security in the context of climate change.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/microorganisms12112351/s1>: Figure S1. Soil water potential (-MPa) as a function of days after planting (DAP) popcorn hybrid UENF WS01 under well-watered (solid blue line) and water stress (solid red line) conditions; Figure S2. Average temperature (°C) (red dotted line), relative humidity (%) (blue dashed line), and photosynthetically active radiation ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (green solid line) recorded by the meteorological station throughout the experiment (February to March 2023); Table S1. Summary of individual and combined analyses of variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 physiological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions with *Bacillus cereus* inoculation; Table S2. Summary of individual and combined analyses of variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 morphological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions with *Bacillus cereus* inoculation.

Author Contributions: Conceptualization, S.H.K.; methodology, U.A.d.O., A.T.d.A.J., S.H.K., V.J.d.L., F.L.O., S.K., M.d.S.S., J.d.S.F., S.P.d.S., F.N.V., T.d.O.S., G.R.G., A.P.V., and F.M.-P.; software, V.J.d.L.; formal analysis, V.J.d.L.; investigation, U.A.d.O., A.T.d.A.J., S.H.K., V.J.d.L., F.L.O., S.K., M.d.S.S., J.d.S.F., S.P.d.S., F.N.V., T.d.O.S., G.R.G., A.P.V., and F.M.-P.; resources, E.C.; data curation, E.C.; writing—original draft preparation, S.H.K., A.T.d.A.J., and U.A.d.O.; writing—review and editing, U.A.d.O., A.T.d.A.J., and S.H.K.; supervision, S.H.K. and A.T.d.A.J.; project administration, S.H.K. and A.T.d.A.J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors acknowledge the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, Brazil, Grant 304470/2023-6, to E.C.) and Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, E-26/200.957/2022 conceded to E.C.). Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior: CODE 001.

Data Availability Statement: The authors can provide experimental data for all interested researchers.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Kim, K.-H.; Lee, B.-M. Effects of Climate Change and Drought Tolerance on Maize Growth. *Plants* **2023**, *12*, 3548. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Samanta, S.; Seth, C.S.; Roychoudhury, A. The Molecular Paradigm of Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) with Different Phytohormone Signaling Pathways during Drought Stress in Plants. *Plant Physiol. Biochem.* **2024**, *206*, 108259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Azeem, M.; Haider, M.Z.; Javed, S.; Saleem, M.H.; Alatawi, A. Drought Stress Amelioration in Maize (*Zea mays* L.) by Inoculation of *Bacillus* spp. Strains under Sterile Soil Conditions. *Agriculture* **2022**, *12*, 50. [[CrossRef](#)]
4. Chieb, M.; Gachomo, E.W. The Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Plant Drought Stress Responses. *BMC Plant Biol.* **2023**, *23*, 407. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Mahreen, N.; Yasmin, S.; Asif, M.; Yahya, M.; Ejaz, K.; Rahman, M.U.; Yousaf, S.; Amin, I.; Zulfiqar, S.; Imran, A.; et al. Mitigation of Water Scarcity with Sustained Growth of Rice by Plant Growth Promoting Bacteria. *Front. Plant Sci.* **2023**, *14*, 1081537. [[CrossRef](#)]
6. Praveen, A.; Dubey, S.; Singh, S.; Sharma, V.K. Abiotic Stress Tolerance in Plants: A Fascinating Action of Defense Mechanisms. *3 Biotech* **2023**, *13*, 102. [[CrossRef](#)]
7. Cabrera-Ramírez, A.H.; Gaytán-Martínez, M.; Gonzáles-Jasso, E.; Ramírez-Jiménez, A.K.; Velázquez, G.; Villamiel, M.; Morales-Sánchez, E. Flours from Popped Grains: Physicochemical, Thermal, Rheological, and Techno-Functional Properties. *Food Hydrocoll.* **2023**, *135*, 108129. [[CrossRef](#)]

8. de Lima, V.J.; do Amaral Júnior, A.T.; Kamphorst, S.H.; dos Santos, A.; Schmidt, K.F.M.; Azeredo, V.C.; Leite, J.T.; dos Santos Junior, D.R.; Santos, T.d.O.; Bispo, R.B.; et al. UENF WS01: Popcorn Hybrid with Water Use Efficiency for the State of Rio de Janeiro. *Crop. Breed. Appl. Biotechnol.* **2021**, *21*, e375821411. [[CrossRef](#)]
9. Schmitt, K.F.M.; do Amaral Junior, A.T.; Kamphorst, S.H.; Pinto, V.B.; de Lima, V.J.; de Oliveira, U.A.; Viana, F.N.; Leite, J.T.; Gomes, L.P.; Silva, J.G.d.S.; et al. Decoding the Effects of Drought Stress on Popcorn (*Zea mays* Var. Everta) Flowering Combining Proteomics and Physiological Analysis. *Plant Physiol. Biochem.* **2024**, *208*, 108444. [[CrossRef](#)]
10. Kamphorst, S.H.; do Amaral Júnior, A.T.; de Lima, V.J.; Guimarães, L.J.M.; Schmitt, K.F.M.; Leite, J.T.; Santos, P.H.A.D.; Chaves, M.M.; Mafra, G.S.; dos Santos Junior, D.R.; et al. Can Genetic Progress for Drought Tolerance in Popcorn Be Achieved by Indirect Selection? *Agronomy* **2019**, *9*, 792. [[CrossRef](#)]
11. Santos, T.d.O.; Junior, A.T.D.A.; Bispo, R.B.; de Lima, V.J.; Kamphorst, S.H.; Leite, J.T.; Júnior, D.R.d.S.; Santos, P.H.A.D.; de Oliveira, U.A.; Schmitt, K.F.M.; et al. Phenotyping Latin American Open-Pollinated Varieties of Popcorn for Environments with Low Water Availability. *Plants* **2021**, *10*, 1211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Kamphorst, S.H.; do Amaral Júnior, A.T.; Vergara-Díaz, O.; Gracia-Romero, A.; Fernandez-Gallego, J.A.; Chang-Espino, M.C.; Buchailot, M.L.; Rezzouk, F.Z.; de Lima, V.J.; Serret, M.D.; et al. Heterosis and Reciprocal Effects for Physiological and Morphological Traits of Popcorn Plants under Different Water Conditions. *Agric. Water Manag.* **2022**, *261*, 107371. [[CrossRef](#)]
13. Kamphorst, S.H.; De Lima, V.J.; Leite, J.T.; Carvalho, C.M.; Xavier, K.B.; Campostrini, E. Popcorn Breeding for Water-Stress Tolerance or for Agronomic Water-Use Efficiency? *Evolution* **2018**, *17*, gmr18184. [[CrossRef](#)]
14. de Lima, V.J.; Júnior, A.T.D.A.; Kamphorst, S.H.; Bispo, R.B.; Leite, J.T.; Santos, T.d.O.; Schmitt, K.F.M.; Chaves, M.M.; de Oliveira, U.A.; Santos, P.H.A.D.; et al. Combined Dominance and Additive Gene Effects in Trait Inheritance of Drought-Stressed and Full Irrigated Popcorn. *Agronomy* **2019**, *9*, 782. [[CrossRef](#)]
15. Leite, J.T.; Junior, A.T.D.A.; Kamphorst, S.H.; de Lima, V.J.; Junior, D.R.d.S.; Alves, U.O.; Azeredo, V.C.; Pereira, J.L.; Bispo, R.B.; Schmidt, K.F.M.; et al. All Are in a Drought, but Some Stand Out: Multivariate Analysis in the Selection of Agronomic Efficient Popcorn Genotypes. *Plants* **2022**, *11*, 2275. [[CrossRef](#)]
16. Bela, K. Crop Tolerance under Biotic and Abiotic Stresses. *Agronomy* **2023**, *13*, 3024. [[CrossRef](#)]
17. Hernández-Canseco, J.; Bautista-Cruz, A.; Sánchez-Mendoza, S.; Aquino-Bolaños, T.; Sánchez-Medina, P.S. Plant Growth-Promoting Halobacteria and Their Ability to Protect Crops from Abiotic Stress: An Eco-Friendly Alternative for Saline Soils. *Agronomy* **2022**, *12*, 804. [[CrossRef](#)]
18. 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* **2023**, *13*, 290. [[CrossRef](#)]
19. Meddich, A. Biostimulants for Resilient Agriculture—Improving Plant Tolerance to Abiotic Stress: A Concise Review. *Gesunde Pflanz.* **2023**, *75*, 709–727. [[CrossRef](#)]
20. Abdelkefi, N.; Louati, I.; Mechichi, H.-Z.; Sayahi, N.; El-Sayed, W.S.; El Nayal, A.; Ismail, W.; Hanin, M.; Mechichi, T. Enhanced Salt Stress Tolerance in Tomato Plants Following Inoculation with Newly Isolated Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Sci. Hortic.* **2024**, *328*, 112921. [[CrossRef](#)]
21. Hasan, A.; Tabassum, B.; Hashim, M.; Khan, N. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture: A Review. *Bacteria* **2024**, *3*, 59–75. [[CrossRef](#)]
22. Rafique, N.; Khalil, S.; Cardinale, M.; Rasheed, A.; Zhao, F.; Abideen, Z. A Comprehensive Evaluation of the Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Applications in Agriculture in Stressed Environments. *Pedosphere* **2024**, *in press*. [[CrossRef](#)]
23. 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. *Front. Microbiol.* **2023**, *13*, 1059549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Ehling-Schulz, M.; Lereclus, D.; Koehler, T.M. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiol. Spectr.* **2019**, *7*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kulkova, I.; Dobrzyński, J.; Kowalczyk, P.; Bełżecki, G.; Kramkowski, K. Plant Growth Promotion Using *Bacillus Cereus*. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 9759. [[CrossRef](#)]
26. Alotaibi, B.S.; Khan, M.; Shamim, S. Unraveling the Underlying Heavy Metal Detoxification Mechanisms of *Bacillus* Species. *Microorganisms* **2021**, *9*, 1628. [[CrossRef](#)]
27. Çam, S.; Küçük, Ç.; Almaca, A. *Bacillus* Strains Exhibit Various Plant Growth Promoting Traits and Their Biofilm-Forming Capability Correlates to Their Salt Stress Alleviation Effect on Maize Seedlings. *J. Biotechnol.* **2023**, *369*, 35–42. [[CrossRef](#)]
28. Chen, Y.; Zhang, X.; Gong, X.; Tao, T.; Wang, Z.; Zhang, J.; Zhu, Y. Recovery and Utilization of Waste Filtrate from Industrial Biological Fermentation: Development and Metabolite Profile of the *Bacillus Cereus* Liquid Bio-Fertilizer. *J. Environ. Manag.* **2023**, *346*, 118945. [[CrossRef](#)]
29. Rengarajan, S.; Deepa, S.; Natarajan, D.; Pandian, A.; Al-Ansari, M.M.; Oza, G.; Castillo-Maldonado, I.; Sharma, A. Bioremediation Potential of Biochar and Metal Tolerant *Bacillus Cereus* on Heavy Metal Polluted Mine Surrounding Pond and Assessed Cytotoxicity and Phytotoxicity Attributes of Treated Water on Brine Shrimp Larvae and Paddy Seedling. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2024**, 105330. [[CrossRef](#)]
30. Zhang, S.; Wu, J.; Chen, J.; Jun, S.; Yuan, Y.; Dai, X.; Wang, F.; Ma, Y. The Biological Control Effect of *Bacillus cereus* on Strawberry Leaf Spot Disease Caused by *Neopestalotiopsis clavispora*. *Sci. Hortic.* **2024**, *327*, 112841. [[CrossRef](#)]
31. Zhang, Y.; Tian, Z.; Xi, Y.; Wang, X.; Chen, S.; He, M.; Chen, Y.; Guo, Y. Improvement of Salt Tolerance of *Arabidopsis Thaliana* Seedlings Inoculated with Endophytic *Bacillus Cereus* KP120. *J. Plant Interact.* **2022**, *17*, 884–893. [[CrossRef](#)]

32. Andy, A.K.; Rajput, V.D.; Burachevskaya, M.; Gour, V.S. Exploring the Identity and Properties of Two *Bacilli* Strains and Their Potential to Alleviate Drought and Heavy Metal Stress. *Horticulturae* **2023**, *9*, 46. [CrossRef]
33. Wróbel, M.; Śliwakowski, W.; Kowalczyk, P.; Kramkowski, K.; Dobrzyński, J. Bioremediation of Heavy Metals by the Genus *Bacillus*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2023**, *20*, 4964. [CrossRef] [PubMed]
34. Mukhtar, T.; Rehman, S.U.; Smith, D.; Sultan, T.; Seleiman, M.F.; Alsadon, A.A.; Amna; Ali, S.; Chaudhary, H.J.; Solieman, T.H.I.; et al. Mitigation of Heat Stress in *Solanum lycopersicum* L. by ACC-Deaminase and Exopolysaccharide Producing *Bacillus cereus*: Effects on Biochemical Profiling. *Sustainability* **2020**, *12*, 2159. [CrossRef]
35. Peixoto, A.R.; Mariano, R.d.L.R.; Viana, I.O. Meio Semi-Seletivo Para Isolamento de *Xanthomonas Campestris* Pv. *Viticola*. *Ciência Rural* **2006**, *36*, 1317–1320. [CrossRef]
36. Döbereiner, J.; Baldani, V.L.D.; Baldani, J.I. *Como Isolar e Identificar Bactérias Diazotróficas de Plantas Não Leguminosas*; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária—CNPAB: Sete Lagoas, Brazil, 1995.
37. Hoagland, D.R.; Arnon, D.I.; Hoagland, D.R.; Arnon, D.I. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. *Circular. Calif. Agric. Exp. Stn.* **1950**, *347*.
38. Radoglou, K.M.; Jarvis, P.G.; Radoglou, K.M.; Jarvis, P.G. Effects of CO₂ Enrichment on Four Poplar Clones. I. Growth and Leaf Anatomy. *Ann. Bot.* **1990**, *65*, 617–626. [CrossRef]
39. Galkovskiy, T.; Mileiko, Y.; Bucksch, A.; Moore, B.; Symonova, O.; Price, C.A.; Topp, C.N.; Iyer-Pascuzzi, A.S.; Zurek, P.R.; Fang, S.; et al. GiA Roots: Software for the High Throughput Analysis of Plant Root System Architecture. *BMC Plant Biol.* **2012**, *12*, 116. [CrossRef]
40. Elazab, A.; Molero, G.; Serret, M.D.; Araus, J.L. Root Traits and $\Delta^{13}C$ and $\Delta^{18}O$ of Durum Wheat under Different Water Regimes. *Funct. Plant Biol.* **2012**, *39*, 379. [CrossRef]
41. Cruz, C.D. GENES—A Software Package for Analysis in Experimental Statistics and Quantitative Genetics. *Acta Sci. Agron.* **2013**, *35*, 271–276. [CrossRef]
42. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2018.
43. Dabravolski, S.A.; Isayenkov, S.V. The Role of Anthocyanins in Plant Tolerance to Drought and Salt Stresses. *Plants* **2023**, *12*, 2558. [CrossRef] [PubMed]
44. Araujo, J.L.; de Mesquita Alves, J.; Rocha, R.H.C.; Santos, J.Z.L.; dos Santos Barbosa, R.; da Costa, F.M.N.; de Lima, G.S.; de Freitas, L.N.; Lima, A.S.; Nogueira, A.E.P.; et al. Beneficial Microorganisms Affect Soil Microbiological Activity and Corn Yield under Deficit Irrigation. *Agriculture* **2023**, *13*, 1169. [CrossRef]
45. Han, L.-J.; Fan, D.-Y.; Wang, X.-P.; Xu, C.-Y.; Xia, X.-L.; Chow, W.S. The Protective Role of Non-Photochemical Quenching in PSII Photo-Susceptibility: A Case Study in the Field. *Plant Cell Physiol.* **2023**, *64*, 43–54. [CrossRef] [PubMed]
46. Roach, T.; Na, C.S.; Stöggel, W.; Krieger-Liszka, A. The Non-Photochemical Quenching Protein LHCSR3 Prevents Oxygen-Dependent Photoinhibition in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*, 2650–2660. [CrossRef] [PubMed]
47. Bittencourt, P.P.; Alves, A.F.; Ferreira, M.B.; da Silva Irineu, L.E.S.; Pinto, V.B.; Olivares, F.L. Mechanisms and Applications of Bacterial Inoculants in Plant Drought Stress Tolerance. *Microorganisms* **2023**, *11*, 502. [CrossRef]
48. de Aquino, J.P.A.; Junior, F.B.d.M.; Antunes, J.E.L.; Figueiredo, M.D.V.B.; Neto, F.d.A.; de Araujo, A.S.F. Plant Growth-Promoting Endophytic Bacteria on Maize and Sorghum1. *Pesqui Agropecu Trop.* **2019**, *49*, e56241. [CrossRef]
49. Navarro-Torre, S.; Rodríguez-Llorente, I.D.; Pajuelo, E.; Mateos-Naranjo, E.; Redondo-Gómez, S.; Mesa-Marín, J. Role of Bacterial Endophytes in Plant Stress Tolerance: Current Research and Future Outlook. In *Microbial Endophytes and Plant Growth*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2023; pp. 35–49.
50. Singh, G.M.; Goldberg, S.; Schaefer, D.; Zhang, F.; Sharma, S.; Mishra, V.K.; Xu, J. Biochemical, Gas Exchange, and Chlorophyll Fluorescence Analysis of Maize Genotypes under Drought Stress Reveals Important Insights into Their Interaction and Homeostasis. *Photosynthetica* **2022**, *60*, 376–388. [CrossRef]
51. Kamphorst, S.H.; Júnior, A.T.D.A.; de Lima, V.J.; Santos, P.H.A.D.; Rodrigues, W.P.; Vivas, J.M.S.; Gonçalves, G.M.B.; Schmitt, K.F.M.; Leite, J.T.; Vivas, M.; et al. Comparison of Selection Traits for Effective Popcorn (*Zea mays* L. Var. Everta) Breeding Under Water Limiting Conditions. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 1289. [CrossRef]
52. Haworth, M.; Belcher, C.M.; Killi, D.; Dewhirst, R.A.; Materassi, A.; Raschi, A.; Centritto, M. Impaired Photosynthesis and Increased Leaf Construction Costs May Induce Floral Stress during Episodes of Global Warming over Macroevolutionary Timescales. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 6206. [CrossRef]
53. Sherin, G.; Aswathi, K.P.R.; Puthur, J.T. Photosynthetic Functions in Plants Subjected to Stresses Are Positively Influenced by Priming. *Plant Stress* **2022**, *4*, 100079. [CrossRef]
54. Basnayake, J.; Jackson, P.A.; Inman-Bamber, N.G.; Lakshmanan, P. Sugarcane for Water-Limited Environments. Genetic Variation in Cane Yield and Sugar Content in Response to Water Stress. *J. Exp. Bot.* **2012**, *63*, 6023–6033. [CrossRef] [PubMed]
55. Taiz, L.; Zeiger, E.; Møller, I.M.; Murphy, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*; Artmed Editora: Porto Alegre, Brazil, 2017; ISBN 9788582713679.
56. Wang, F.; Cui, P.; Tian, Y.; Huang, Y.; Wang, H.; Liu, F.; Chen, Y. Maize ZmPT7 Regulates Pi Uptake and Redistribution Which Is Modulated by Phosphorylation. *Plant Biotechnol. J.* **2020**, *18*, 2406–2419. [CrossRef] [PubMed]
57. Begum, N.; Ahanger, M.A.; Su, Y.; Lei, Y.; Mustafa, N.S.A.; Ahmad, P.; Zhang, L. Improved Drought Tolerance by AMF Inoculation in Maize (*Zea mays*) Involves Physiological and Biochemical Implications. *Plants* **2019**, *8*, 579. [CrossRef] [PubMed]

58. Molla, S.H.; Kumdee, O.; Worathongchai, N.; Khongchui, P.; Ali, M.A.; Anwar, M.; Wongkaew, A.; Nakasathien, S. Efforts to Stimulate Morpho-Physio-Biochemical Traits of Maize for Efficient Production Under Drought Stress in Tropics Field. *Agronomy* **2023**, *13*, 2673. [[CrossRef](#)]
59. Li, X.; Guo, L.; Zhou, B.; Tang, X.; Chen, C.; Zhang, L.; Zhang, S.; Li, C.; Xiao, K.; Dong, W.; et al. Characterization of Low-N Responses in Maize (*Zea mays* L.) Cultivars with Contrasting Nitrogen Use Efficiency in the North China Plain. *J. Integr. Agric.* **2019**, *18*, 2141–2152. [[CrossRef](#)]
60. Kumdee, O.; Molla, S.H.; Kanavittaya, K.; Romkaew, J.; Sarobol, E.; Nakasathien, S. Morpho-Physiological and Biochemical Responses of Maize Hybrids under Recurrent Water Stress at Early Vegetative Stage. *Agriculture* **2023**, *13*, 1795. [[CrossRef](#)]
61. Saxena, A.K.; Kumar, M.; Chakdar, H.; Anuroopa, N.; Bagyaraj, D.J. *Bacillus* Species in Soil as a Natural Resource for Plant Health and Nutrition. *J. Appl. Microbiol.* **2020**, *128*, 1583–1594. [[CrossRef](#)]
62. Jabeen, Z.; Irshad, F.; Habib, A.; Hussain, N.; Sajjad, M.; Mumtaz, S.; Rehman, S.; Haider, W.; Hassan, M.N. Alleviation of Cadmium Stress in Rice by Inoculation of *Bacillus cereus*. *PeerJ* **2022**, *10*, e13131. [[CrossRef](#)]
63. Vitorino, L.C.; de Souza Rocha, A.F.; Bessa, L.A.; Lourenço, L.L.; da Costa, A.C.; Silva, F.G. Symbiotic Microorganisms Affect the Resilience of *Hymenaea courbaril* L., a Neotropical Fruit Tree, to Water Restriction. *Plant Stress* **2022**, *5*, 100092. [[CrossRef](#)]
64. Bandeppa, S.; Paul, S.; Thakur, J.K.; Chandrashekar, N.; Umesh, D.K.; Aggarwal, C.; Asha, A.D. Antioxidant, Physiological and Biochemical Responses of Drought Susceptible and Drought Tolerant Mustard (*Brassica juncea* L.) Genotypes to Rhizobacterial Inoculation under Water Deficit Stress. *Plant Physiol. Biochem.* **2019**, *143*, 19–28. [[CrossRef](#)]
65. Jha, Y.; Yadav, K.A.; Mohamed, H.I. Plant Growth-Promoting Bacteria and Exogenous Phytohormones Alleviate the Adverse Effects of Drought Stress in Pigeon Pea Plants. *Plant Soil* **2023**. [[CrossRef](#)]
66. Hussain, H.A.; Men, S.; Hussain, S.; Chen, Y.; Ali, S.; Zhang, S.; Zhang, K.; Li, Y.; Xu, Q.; Liao, C.; et al. Interactive Effects of Drought and Heat Stresses on Morpho-Physiological Attributes, Yield, Nutrient Uptake and Oxidative Status in Maize Hybrids. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 3890. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Song, X.; Zhou, G.; He, Q.; Zhou, H. Stomatal Limitations to Photosynthesis and Their Critical Water Conditions in Different Growth Stages of Maize under Water Stress. *Agric. Water Manag.* **2020**, *241*, 106330. [[CrossRef](#)]
68. Liu, S.; Qin, F. Genetic Dissection of Maize Drought Tolerance for Trait Improvement. *Mol. Breed.* **2021**, *41*, 8. [[CrossRef](#)]
69. de Oliveira Neto, S.S.; Bossolani, J.W.; de Freitas, S.E.; Gazola, B.; Gonçalves, A.S.F.; Zoz, T.; Calonego, J.C. Impact of Glyphosate on Morphophysiological Traits of RR Corn Plants under Drought Stress. *Acta Physiol. Plant* **2023**, *45*, 28. [[CrossRef](#)]
70. Zarei, T. Balancing Water Deficit Stress with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: A Case Study in Maize. *Rhizosphere* **2022**, *24*, 100621. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Supplementary material

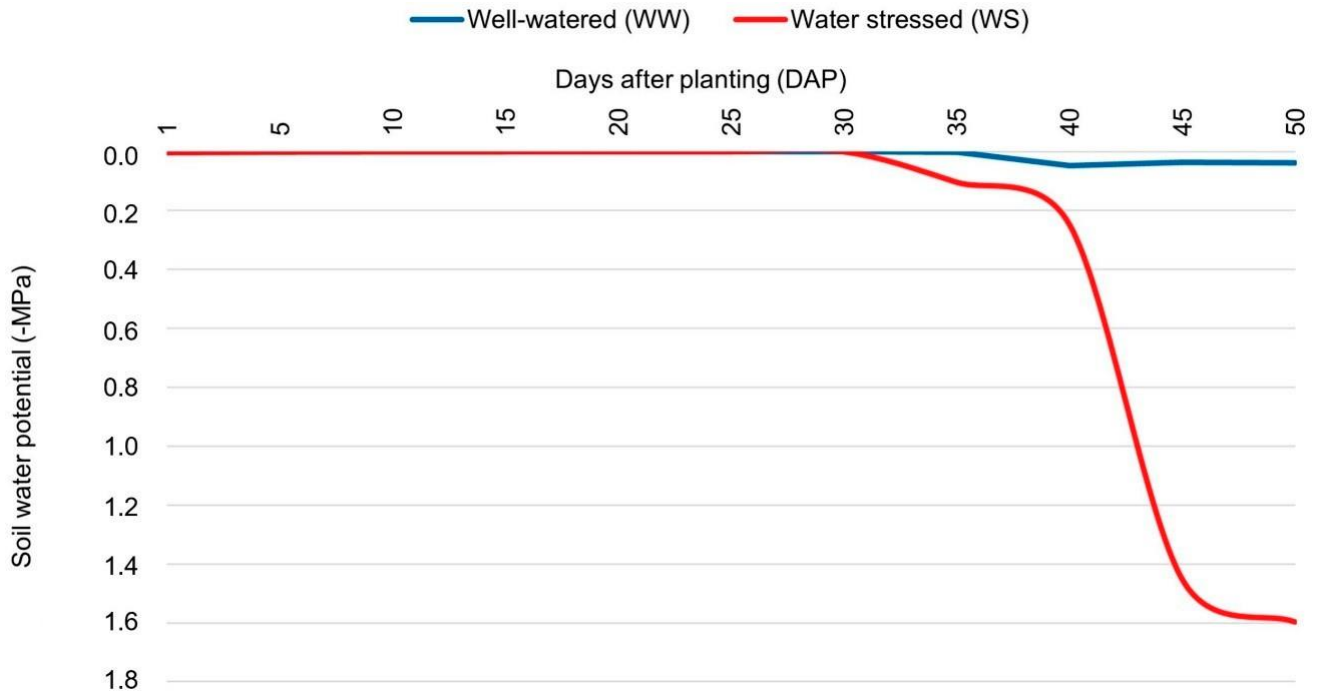


Figure S1. Soil water potential (-MPa) as a function of days after planting (DAP) popcorn hybrid UENF WS01 under well-watered (solid blue line) and water stress (solid red line) conditions.

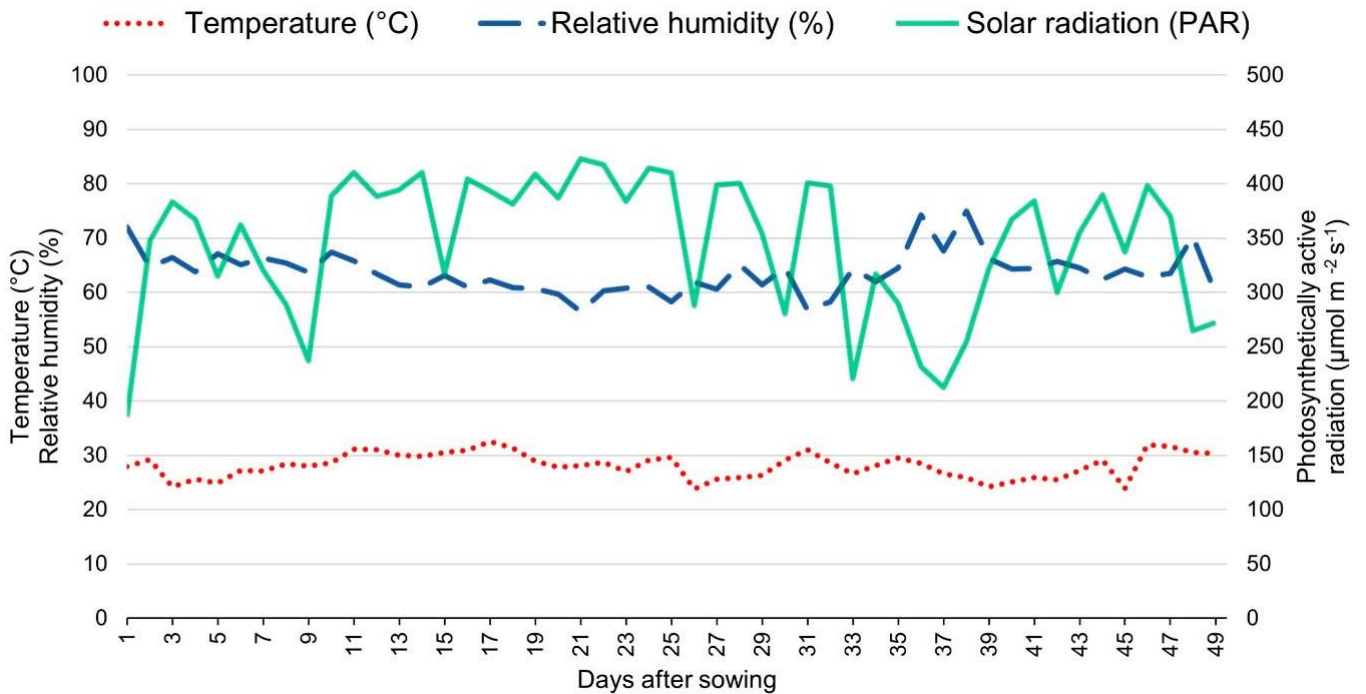


Figure S2. Average temperature (°C) (red dotted line), relative humidity (%) (blue dashed line), and photosynthetically active radiation ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (green solid line) recorded by the meteorological station throughout the experiment (February to March 2023).

Table S1. Summary of individual and combined analyses variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 physiological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions associated with *Bacillus cereus* inoculation.

Trait	T	Water condition		CV _e (%)	Combined		
		WS	WW		BC	WC	BC*WC
		Mean ± SD	Mean ± SD				
Chl	I	19.10 ± 1.74	36.44 ± 2.39	7.67	**	**	**
	C	12.70 ± 2.43	34.04 ± 1.91	5.30			
Flav	I	0.9967 ± 0.03	0.8256 ± 0.02	2.70	**	**	**
	C	0.8578 ± 0.01	0.7444 ± 0.02	2.38			
Anth	I	0.3700 ± 0.02	0.2000 ± 0.01	7.99	*	**	*
	C	0.2922 ± 0.03	0.1756 ± 0.01	4.21			
NBI	I	20.64 ± 1.33	48.99 ± 4.77	8.26	**	**	ns
	C	14.46 ± 1.33	41.72 ± 4.86	6.33			
Fm	I	72265.33 ± 15185.70	70697.67 ± 2015.85	10.62	**	**	**
	C	57700.22 ± 8354.61	70774.33 ± 2375.96	1.98			
Fv	I	48761.22 ± 8235.60	54521.78 ± 2252.14	16.04	ns	**	ns
	C	44011.11 ± 10508.20	54412.67 ± 3647.61	5.23			
Fm/Fo	I	3.81 ± 0.54	4.59 ± 0.36	30.25	*	**	ns
	C	2.70 ± 1.17	4.33 ± 0.36	6.64			
Fv/Fo	I	3.11 ± 0.94	3.63 ± 0.33	40.59	**	**	*
	C	1.74 ± 1.14	3.33 ± 0.36	8.75			
Fv/Fm	I	0.76 ± 0.07	0.78 ± 0.01	14.87	*	*	ns
	C	0.65 ± 0.13	0.77 ± 0.02	2.04			
A	I	20.46 ± 2.47	25.87 ± 1.79	5.34	**	**	ns
	C	16.98 ± 1.77	23.18 ± 4.17	13.31			
Gs	I	0.17 ± 0.01	0.22 ± 0.02	9.59	**	**	ns
	C	0.11 ± 0.02	0.18 ± 0.05	19.98			
Ci	I	139.25 15.06	172.70 18.44	14.28	*	**	ns
	C	114.51 21.79	154.84 32.36	17.52			
E	I	2.01 ± 0.61	2.81 ± 0.68	9.62	ns	**	ns
	C	1.72 ± 0.48	2.59 ± 0.76	20.44			
NPQT	I	3.78 ± 2.04	1.94 ± 0.63	65.81	ns	*	ns
	C	3.46 ± 2.86	1.76 ± 0.77	38.34			
PHI2	I	0.47 ± 0.08	0.55 ± 0.05	27.58	ns	**	ns
	C	0.42 ± 0.17	0.55 ± 0.07	13.73			
RLWC	I	86.47 ± 8.63	90.87 ± 1.76	10.22	**	ns	ns
	C	74.13 ± 4.81	78.51 ± 12.24	9.96			
WUEint	I	132.42 ± 12.65	116.81 ± 17.47	7.60	*	**	ns
	C	156.86 ± 13.34	123.84 ± 25.03	18.27			
WUEinst	I	9.66 ± 1.51	9.84 ± 0.86	11.20	*	ns	ns
	C	11.03 ± 1.86	10.13 ± 1.45	8.96			

WUEagr	I	5.03 ± 0.46	5.96 ± 0.69	18.81	ns	**	ns
	C	4.86 ± 0.92	6.05 ± 0.73	9.92			

**, *, ns, significant at 1%, 5%, and not significant, respectively, by the F test. WS: water stress condition; WW: well-watered condition; SD: standard deviation; CVe: coefficient of experimental variation; BC: bacterium; WC: water condition; BC*WC: bacterium*water condition interaction.

Relative chlorophyll content (Chl), leaf anthocyanin content (Anth), flavonoid content (Flv), nitrogen balance index (NBI), maximum fluorescence intensity (Fm), variable fluorescence (Fv), basal quantum production of non-photochemical processes in PSII (Fm/Fo), potential quantum efficiency of PSII (Fv/Fo), potential quantum yield (Fv/Fm), net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (GS), intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (E), non-photochemical quenching (NPQT), quantum yield of PSII (PHI2), relative leaf water content (RLWC), intrinsic water use efficiency (WUEInt), instantaneous water use efficiency (WUEinst), and agronomic water use efficiency (WUEagro).

Table S2. Summary of individual and combined analyses of variance, mean estimates, standard deviations, and coefficients of experimental variation for 19 morphological traits evaluated in the UENF WS01 popcorn hybrid, grown under full irrigation (WW) and water deficit (WS) conditions associated with *Bacillus cereus* inoculation.

Trait	T	Water condition		CV _e (%)	Combined		
		WS	WW		BC	WC	BC*WC
		Mean ± SD	Mean ± SD				
PH	I	57.27 ± 4.47	92.72 ± 4.23	5.42	ns	**	ns
	C	55.20 ± 5.21	92.58 ± 7.59	5.50			
SD	I	13.79 ± 0.82	15.09 ± 0.50	6.23	ns	**	ns
	C	13.58 ± 0.82	14.94 ± 0.58	3.25			
LL	I	70.78 ± 10.07	80.06 ± 3.59	7.94	*	*	ns
	C	76.70 ± 6.11	82.70 ± 4.16	3.87			
LW	I	6.70 ± 0.11	7.04 ± 0.17	1.78	**	**	ns
	C	6.42 ± 0.19	6.75 ± 0.21	3.07			
LB	I	9.69 ± 1.10	12.53 ± 0.82	11.75	**	**	ns
	C	8.55 ± 0.64	11.53 ± 0.85	6.42			
SB	I	7.96 ± 0.61	14.83 ± 1.30	4.89	**	**	ns
	C	6.62 ± 0.59	13.54 ± 0.63	7.27			
SLA	I	228.37 ± 10.67	225.86 ± 17.23	4.88	**	ns	ns
	C	244.22 ± 12.17	247.28 ± 13.65	5.93			
SDAB	I	150.90 ± 22.16	106.44 ± 21.15	10.34	*	**	ns
	C	135.40 ± 22.52	99.54 ± 16.61	14.07			
ECDAB	I	750.27 ± 237.25	527.87 ± 76.13	18.34	ns	**	ns
	C	743.21 ± 140.17	562.96 ± 65.31	11.37			
SDAD	I	113.74 ± 19.56	94.89 ± 18.93	8.95	*	ns	ns
	C	99.15 ± 15.56	81.02 ± 10.81	19.95			
ECDAD	I	609.35 ± 100.42	502.82 ± 67.28	18.34	ns	*	ns
	C	567.90 ± 95.84	540.56 ± 74.10	15.24			
SIAB	I	22.54 ± 5.78	20.65 ± 1.95	20.69	**	**	ns
	C	18.79 ± 3.97	18.65 ± 1.35	8.81			
SIAD	I	20.43 ± 2.08	21.32 ± 3.95	11.57	**	ns	ns
	C	18.15 ± 4.05	15.09 ± 2.30	19.61			
MNRa	I	68.20 ± 5.45	62.20 ± 5.81	7.85	*	ns	ns

	C	59.60 ± 3.21	59.40 ± 5.86	9.57			
MNRb	I	31.00 ± 6.12	24.20 ± 3.11	22.37	ns	**	ns
	C	27.40 ± 5.55	21.20 ± 2.68	15.88			
MNRc	I	20.80 ± 1.48	20.40 ± 1.67	11.02	ns	**	ns
	C	20.20 ± 2.17	20.20 ± 2.39	12.66			
MNRd	I	18.00 ± 1.22	16.80 ± 1.92	19.98	ns	*	ns
	C	17.60 ± 4.16	13.60 ± 0.89	11.58			
SRLe	I	3822.67 ± 1829.94	1779.97 ± 204.94	30.38	ns	*	ns
	C	3274.19 ± 1328.38	1482.19 ± 219.57	11.31			
RWDc	I	1.74 ± 0.31	5.38 ± 2.19	12.32	**	**	*
	C	1.39 ± 0.38	1.55 ± 0.72	48.00			

**, *, ns, significant at 1%, 5%, and non-significant, respectively, by the F test. WS: water stress condition; WW: well-watered condition; SD: standard deviation; CVe: coefficient of experimental variation; BC: bacterium; WC: water condition; BC*WC: bacterium*water condition interaction.

Mean plant height (PH), mean stem diameter (SD), mean leaf length (LL), mean leaf width (LW), mean leaf biomass (LB), mean stem biomass (SB), specific leaf area (SLA), abaxial stomata density (SDAB), abaxial epidermal cell density (ECDAB), adaxial stomata density (SDAD), adaxial epidermal cell density (ACDAD), abaxial stomatal index (SIAB), adaxial stomatal index (SIAD), mean number of roots (MNR, section **a**, **b**, **c**, and **d**), specific root length (SRLe), and root weight density (RWDc).

Capítulo II

Interação simbiótica entre *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 e o híbrido de milho-pipoca UENF WS01: Análise proteômica em cenários de estresse hídrico e irrigado

RESUMO

A escassez de água e as variações na precipitação decorrentes das mudanças climáticas aumentam os desafios para a agricultura, afetando a produtividade das culturas. O uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas, como *Bacillus cereus*, tem se mostrado promissor para mitigar os efeitos do estresse hídrico. Para compreender melhor os mecanismos da tolerância ao déficit hídrico nas plantas, é essencial analisar os processos moleculares subjacentes à expressão proteica em cultivo em ambiente com carência de água. A proteômica, ao investigar as proteínas diferencialmente acumuladas, propicia a identificação dos mecanismos metabólicos subjacentes a essa adaptação. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo analisar as proteínas diferencialmente acumuladas no híbrido tolerante ao déficit hídrico UENF WS01 de milho-pipoca inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 sob estresse hídrico e condição bem irrigada, visando a identificar os processos moleculares que possam contribuir para maior adaptação ao déficit hídrico e os possíveis mecanismos de promoção de crescimento induzidos pela interação com a inoculação da bactéria. O híbrido foi avaliado em casa de vegetação sob duas condições hídricas (CHs), a saber: irrigada (WW), mantida à capacidade de campo (CC – 100%); e sob estresse hídrico (WS), a 40% da CC. O experimento foi implementado em blocos completos casualizados, em esquema fatorial, combinando as duas CHs com presença e ausência de inoculação com *B. cereus*, totalizando quatro tratamentos com nove repetições cada. Após sete dias a 40% da CC, as folhas foram coletadas de cada tratamento para a análise proteômica, tendo sido identificadas 726 proteínas. Comparando os ambientes de seca (WS) e irrigado (WW) com inoculação de *B. cereus* (WSI/WWI), foram observadas 70 proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs), sendo 68 up-acumuladas, com proteínas únicas para os tratamentos WSI e WWI. Na comparação entre WS e WW sem inoculação (WSC/WWC), foram detectadas 20 DAPs, das quais 14 foram up-acumuladas e seis down-acumuladas. A análise de Ontologia Gênica (GO) revelou que em WSI/WWI as principais funções proteicas envolvem o metabolismo celular, a fotossíntese e o dobramento de proteínas, enquanto em WSC/WWC destacaram-se as proteínas relacionadas com a fotossíntese, a sinalização por giberelinas e a resposta ao estímulo de giberelinas. As DAPs estavam principalmente relacionadas ao metabolismo energético, ao transporte de moléculas, à defesa antioxidante e à modulação do metabolismo de aminoácidos e de proteínas. A inoculação com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 tanto em WS quanto em WW aumentou significativamente o número de DAPs, contribuindo para maior tolerância ao estresse hídrico. As expressões diferenciadas de proteínas associadas à fotossíntese, regulação redox e estabilidade celular indicam que a bactéria favorece a adaptação das plantas à condição de escassez de água e, também, promove o crescimento em condição bem irrigada.

Palavras-chave: Estresse abiótico; Proteínas; *Zea mays* everta.

ABSTRACT

Water scarcity and precipitation variations resulting from climate change increase challenges for agriculture, affecting crop productivity. The use of plant growth-promoting bacteria, such as *Bacillus cereus*, has shown promise in mitigating the effects of water stress. To better understand the mechanisms of drought tolerance in plants, it is essential to analyze the underlying molecular processes related to protein expression in water-deficient environments. Proteomics, by investigating differentially accumulated proteins, facilitates the identification of metabolic mechanisms underlying this adaptation. In this regard, this study aimed to analyze the differentially accumulated proteins in the drought-tolerant hybrid UENF WS01 popcorn inoculated with *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 under water stress and well-irrigated conditions, aiming to identify the molecular processes that may contribute to better adaptation to water deficit and the possible growth-promoting mechanisms induced by the bacterial inoculation. The hybrid was evaluated in a greenhouse under two water conditions (WC), namely: irrigated (WW), maintained at field capacity (FC – 100%); and under water stress (WS), at 40% of FC. The experiment was set up in a completely randomized block design with a factorial scheme, combining the two WC conditions with the presence and absence of *B. cereus* inoculation, totaling four treatments with nine repetitions each. After seven days at 40% FC, leaves were collected from each treatment for proteomic analysis, and 726 proteins were identified. Comparing the drought (WS) and irrigated (WW) environments with *B. cereus* inoculation (WSI/WWI), 70 differentially accumulated proteins (DAPs) were observed, with 68 up-regulated, including unique proteins for the WSI and WWI treatments. In the comparison between WS and WW without inoculation (WSC/WWC), 20 DAPs were detected, of which 14 were up-regulated and six down-regulated. Gene Ontology (GO) analysis revealed that in WSI/WWI, the main protein functions involve cellular metabolism, photosynthesis, and protein folding, while in WSC/WWC, proteins related to photosynthesis, gibberellin signaling, and response to gibberellin stimuli were highlighted. The DAPs were mainly associated with energy metabolism, molecular transport, antioxidant defense, and modulation of amino acid and protein metabolism. Inoculation with *Bacillus cereus* UENF-LMS 71, both in WS and WW, significantly increased the number of DAPs, contributing to greater tolerance to water stress. The differential protein expressions associated with photosynthesis, redox regulation, and cellular stability indicate that the bacteria enhance plant adaptation to water scarcity conditions and also promote growth under well-irrigated conditions.

Keywords: Abiotic stress; Proteins; *Zea mays* everta.

1. INTRODUÇÃO

A melhoria da produtividade agrícola e a garantia de sua estabilidade anual são fundamentais para a segurança alimentar global a longo prazo e para a sustentabilidade ambiental (Rehman et al., 2022; Coronado-Apodaca et al., 2023). Todavia, esses objetivos enfrentam desafios crescentes devido às mudanças climáticas e à escassez de recursos hídricos (He et al., 2023; Shemer et al., 2023). O aumento da temperatura média global tem exacerbado os estresses ambientais, tornando as plantas mais vulneráveis a condições adversas que afetam negativamente seu metabolismo, desenvolvimento e rendimento (Ingrao et al., 2023; Yang et al., 2023).

Estresses abióticos, são responsáveis por cerca de 50% das perdas de produtividade agrícola, comprometendo a viabilidade das culturas e a segurança alimentar (Junaid et al., 2023; Kopecká et al., 2024). O estresse hídrico pode afetar de forma significativa o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Cabello et al., 2023; Kim et al., 2023) que, quando em condições limitantes de disponibilidade de água, ativam mecanismos moleculares complexos para se adaptar e mitigar os efeitos adversos da escassez de água (Yang et al., 2021; Naikwade et al., 2023).

A resposta das plantas ao estresse hídrico é um processo fisiológico complexo que envolve regulação hormonal, estresse oxidativo, modulação da abertura e fechamento estomático, ajustes no crescimento e no desenvolvimento das raízes e a modulação da expressão de genes, que podem incluir tanto o aumento quanto o silenciamento (Wahab et al., 2022; Wu et al., 2022; Haghpanah et al., 2024; Qiao et al., 2024). No caso do milho-pipoca, o estresse hídrico pode desencadear efeitos adversos, como declínios no índice de verde das folhas, alterações nos ângulos e volumes radiculares, e redução no rendimento de grãos, na capacidade de expansão e na massa dos grãos (Kamphorst et al., 2018; Kamphorst et al., 2019; Santos et al., 2021; Leite et al., 2022). Esses impactos prejudicam ainda mais o *status* fotossintético e a condutância estomática, fatores essenciais para a produtividade das culturas (Kamphorst et al., 2020; Oliveira et al., 2024b).

Em resposta a esses desafios, tem-se intensificado o interesse por soluções agrícolas mais sustentáveis e ecologicamente corretas, como o uso de inoculantes de bactérias promotoras do crescimento das plantas (BPCP), que se mostram uma alternativa promissora (Chandran et al., 2021; Elnahal et al., 2022). Esses inoculantes

podem não apenas aliviar os impactos do estresse hídrico, como também promover o crescimento e o desenvolvimento das plantas de forma mais eficiente (Mishra et al., 2021; Fanai et al., 2024).

As BPCP têm sido amplamente investigadas e podem estimular o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos (Wang et al., 2022; Díaz-Rodríguez et al., 2024). Diversos estudos indicam que múltiplos mecanismos podem atuar simultaneamente, incluindo a produção de fitohormônios como auxinas, citocininas e giberelinas (Orozco-Mosqueda et al., 2023; Timofeeva et al., 2024), a solubilização de nutrientes essenciais como fósforo e potássio (Dey et al., 2021; Fanai et al., 2024), a fixação biológica de nitrogênio (Aasfar et al., 2021; Lima et al., 2024), a produção de sideróforos (Singh et al., 2022; Deb et al., 2024), a indução de resistência sistêmica adquirida (Elsharkawy et al., 2022; Sallam et al., 2024) e a modulação da resposta aos estresses bióticos e abióticos (Ali et al., 2023; Rahnama et al., 2023; Maurya et al., 2024). Além disso, algumas BPCP também melhoram o estado nutricional das plantas, aumentando a absorção de nutrientes essenciais como fosfato inorgânico (Pi) e nitrogênio (N), além de aumentar a disponibilidade de elementos como ferro (Pattnaik et al., 2021; Shah et al., 2024).

Evidenciando a importância das BPCP, um estudo realizado por Oliveira et al. (2024a) com o híbrido UENF WS01 de milho-pipoca sob estresse hídrico mostrou que a bactéria *Bacillus cereus* promoveu aumentos significativos em várias características morfofisiológicas, como no conteúdo de clorofila (50,39%), no índice do balanço de nitrogênio (42,74%), na condutância estomática (54,55%), na eficiência quântica do PSII (78,74%), na largura da folha (13,33%), na biomassa do caule (20,24%) e no índice estomático abaxial (19,96%), mitigando os efeitos do déficit hídrico e otimizando a funcionalidade das plantas.

Além das respostas morfofisiológicas, a interação planta-bactéria envolve uma complexa rede de respostas moleculares (Gianneli et al., 2023; Mattedi et al., 2024). Nesse caso, é fundamental não apenas compreender os processos fisiológicos influenciados pela bactéria *Bacillus cereus* no híbrido UENF WS01 de milho-pipoca sob estresse hídrico, mas também investigar os mecanismos moleculares subjacentes a essa interação, a fim de entender os processos que favorecem a adaptação das plantas (Aleynova et al., 2023; Kulkova et al., 2023; Oliveira et al., 2024a; Uday et al., 2024).

Investigações das interações planta-microrganismo requerem técnicas de alto

rendimento, como sequenciamento genômico, análise de transcriptoma, proteoma e metaboloma (Wei et al., 2023). A compreensão aprofundada dos mecanismos moleculares subjacentes a essa interação pode ser alcançada por meio da análise proteômica, que permite avaliar as alterações na expressão do perfil proteico decorrente da interação (Shoresh et al., 2008; Ghabooli et al., 2013; Yadav et al., 2022). As análises proteômicas em plantas sob estresse hídrico demonstram que a resposta ao déficit de água envolve a modulação de diversas proteínas, incluindo as de choque térmico (HSPs), resposta de defesa antioxidante e osmólitos, além de aquaporinas e proteínas relacionadas à sinalização hormonal (Kaya et al., 2024; Molo et al., 2024; Schmitt et al., 2024).

Essa abordagem permite identificar os efeitos dos microrganismos na fisiologia das plantas, avaliar as respostas moleculares e identificar os produtos finais durante os processos regulatórios celulares em diferentes condições hídricas (Ibort et al., 2018; Zhao et al., 2022). Entretanto, análises proteômicas relacionadas à interação entre plantas e inoculação com BPCP carecem de estudos mais aprofundados para entender plenamente os mecanismos moleculares subjacentes a essas associações e como as bactérias podem influenciar a acumulação de proteínas-chave que promovem a tolerância à seca. Compreender como as proteínas são expressas em resposta ao estresse hídrico em adição a BPCP fornece valiosas informações sobre a comunicação molecular na interação entre plantas e microrganismos (Chiquito-Contreras et al., 2024). Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo analisar as proteínas diferencialmente acumuladas no híbrido UENF WS01 de milho-pipoca inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 sob estresse hídrico e condição bem irrigada, para identificar os processos moleculares que por ventura contribuam para a adaptação ao déficit hídrico e os mecanismos que eventualmente favoreçam a promoção do crescimento em ambiente bem irrigado.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparo do inóculo bacteriano

O inóculo da cepa de *Bacillus cereus* UENF-LMS71 foi preparado a partir do estoque bacteriano do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). A cepa bacteriana foi inoculada em placas de *Petri* contendo meio sólido DYGS (Rodrigues Neto, 1986),

utilizando uma alça bacteriológica de platina. Posteriormente, as cepas foram incubadas em estufa por 72 h a 30 °C.

Para a obtenção do pré-inóculo, a colônia bacteriana foi transferida da placa de *Petri* para um tubo de ensaio contendo 5 mL de meio líquido DYGS, com o auxílio de alça bacteriológica. Esta cultura foi crescida a 30 °C com agitação orbital a 180 rpm durante 24 h. A preparação final do inóculo se deu a partir de 150 µL do pré-inóculo pipetado para um frasco *erlenmeyer* contendo 100 mL de meio líquido DIGYS, incubado novamente em agitador orbital a 180 rpm durante 24 h a 30 °C (Döbereiner e Baldani, 1995). Posteriormente, a leitura da densidade óptica (DO) foi realizada a 600 nm. Para tanto foi utilizado espectrofotômetro e objetivando-se uma concentração de $1,8 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia (UFC.mL⁻¹).

2.2 Material vegetal

O híbrido UENF WS01, registrado no Brasil no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob nº 46965 pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), foi utilizado nesse estudo. As sementes desse híbrido foram obtidas no primeiro semestre de 2021, em casa de vegetação da Unidade de Apoio a Pesquisa (UAP) do *Campus* Leonel Brizola da UENF, utilizando como genitores as linhagens L76 (feminina) x L61 (masculina).

2.3 Preparação das sementes

As sementes do híbrido de milho-pipoca foram previamente desinfestadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% por 3 min seguidos. Após, foram imersas em solução de etanol a 70% por 2 min. Posteriormente, as sementes foram enxaguadas cuidadosamente três vezes consecutivas com água destilada autoclavada. Após este processo as sementes foram submetidas à pré-germinação, em que as sementes foram umedecidas com água destilada autoclavada em papel de germinação por 5 h e incubadas em incubadora B.O.D (*biochemical oxygen demand*) a 25 °C por mais 24 h.

2.4 Implementação do experimento

O experimento foi implementado em casa de vegetação localizada na Unidade de Apoio à Pesquisa do *Campus* Leonel Brizola da UENF, em Campos dos Goytacazes – RJ, sob condições semicontroladas (abrigo de chuvas). Durante a

execução do experimento, as condições climáticas – temperatura, radiação solar e umidade – foram monitoradas por meio da estação meteorológica WatchDog® (Spectrum Technologies, Inc., Aurora, IL, USA).

O desenho experimental seguiu o modelo em blocos completos casualizados, no esquema fatorial, combinando quatro tratamentos com nove repetições. Os tratamentos consistiram em combinações de presença e ausência de estresse hídrico por seca e de inoculação com a bactéria. Denominaram-se os tratamentos por: i) WSI – plantas inoculadas em estresse hídrico; ii) WSC – plantas controle (não-inoculadas) em estresse hídrico; iii) WWI – plantas inoculadas irrigadas; e iv) WWC – plantas controle (não-inoculadas) irrigadas.

As sementes, submetidas à pré-germinação, foram plantadas em tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 150 cm de comprimento), os quais foram preenchidos com um composto contendo 70% de substrato Basaplant® e 30% de perlita. O processo de inoculação foi executado concomitantemente ao ato de plantio, em que a quantidade de 1 mL do inóculo foi aplicada sobre as sementes. Os tratamentos designados como não-inoculados receberam apenas 1 mL de meio branco, garantindo que a única disparidade entre eles resida somente na presença ou ausência de bactéria inoculada.

A suspensão da irrigação para os tratamentos em WS aconteceu aos 24 dias após o plantio (DAP), que perdurou até os 40 DAP, momento em que as plantas atingiram 40% da capacidade de campo (CC). Após atingirem 40% da CC, as plantas foram mantidas nessa condição por mais oito dias. Em contraste, as plantas submetidas à condição WW foram mantidas a 100% da CC ao longo de todo experimento.

Para estimar a capacidade de campo, os tubos foram irrigados com água em abundância antes da realização do plantio. Em seguida, por 72 h sob percolação, foi drenado o excesso. Logo após, os tubos foram pesados em balança de precisão para determinar a capacidade máxima de água no tubo (100%). Paralelamente, amostras do substrato foram secas em estufa a 70 °C por 72 h. A capacidade de campo de cada tubo foi estimada pela diferença entre o peso molhado (após drenagem do excesso) e o substrato seco (antes da saturação). Durante todo o experimento, os tubos foram pesados e irrigados em intervalos de 2 dias, para manter sua respectiva capacidade. O peso das plantas foi desconsiderado do cálculo da capacidade de água dos tubos. O teor médio de água por tubo na capacidade relativa de campo foi de 4,77 L (100%) em WW e 3,16 L (40%) em WS.

O suprimento nutricional utilizado foi a solução completa de Hoagland e Arnon (1938), com 224 ppm de N sendo aplicados durante todas as irrigações até a imposição do estresse. A solução nutritiva fornece nutrientes essenciais ao milho-pipoca em condições de seca, ajudando a compensar as limitações na absorção de água e nutrientes do solo. Isso garante que a planta permaneça sobrevivente, mesmo sob estresse, permitindo que avaliações eficazes sejam conduzidas.

Durante a execução do experimento, as condições climáticas – de temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e radiação fotossinteticamente ativa (PPFD/PAR) – foram monitoradas por meio da estação meteorológica WatchDog®. A temperatura média por dia variou de 23,8 °C a 32,5 °C, e a umidade do ar de 56,5% a 75%. A radiação solar teve uma intensidade média que variou de 185,44 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 423,08 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1).

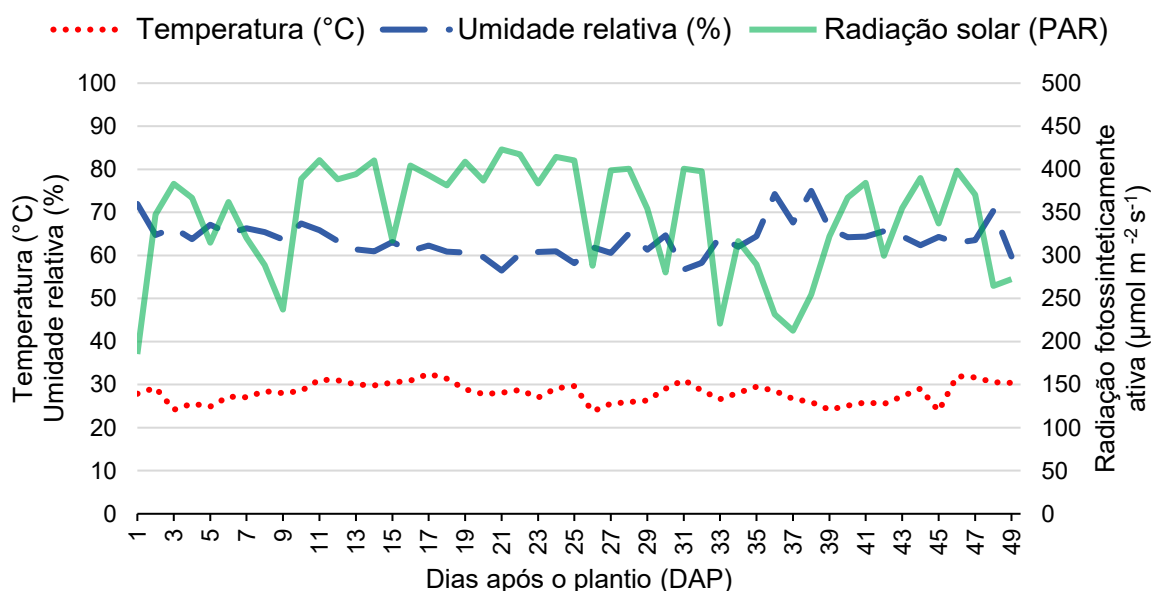


Figura 1. Estimativas de médias de temperatura (T, °C) (linha pontilhada vermelha), umidade relativa do ar (UR, %) (linha tracejada azul) e radiação fotossinteticamente ativa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (linha contínua verde) registradas por meio de estação meteorológica ao longo da realização do experimento (fevereiro a março de 2023).

O potencial hídrico e a temperatura do solo também foram monitorados por meio de oito tensiômetros (quatro em cada condição hídrica – CH) modelo Decagon MPS-6 (Decagon, EUA), distribuídos entre os tubos, a uma profundidade de 20 cm. Em WS, em que a irrigação foi suspensa 24 DAP, atingiu-se 40% da CC aos 40 DAP, e o ponto de murcha permanente (-1,5 MPa) aos 44 DAP (Figura 2).

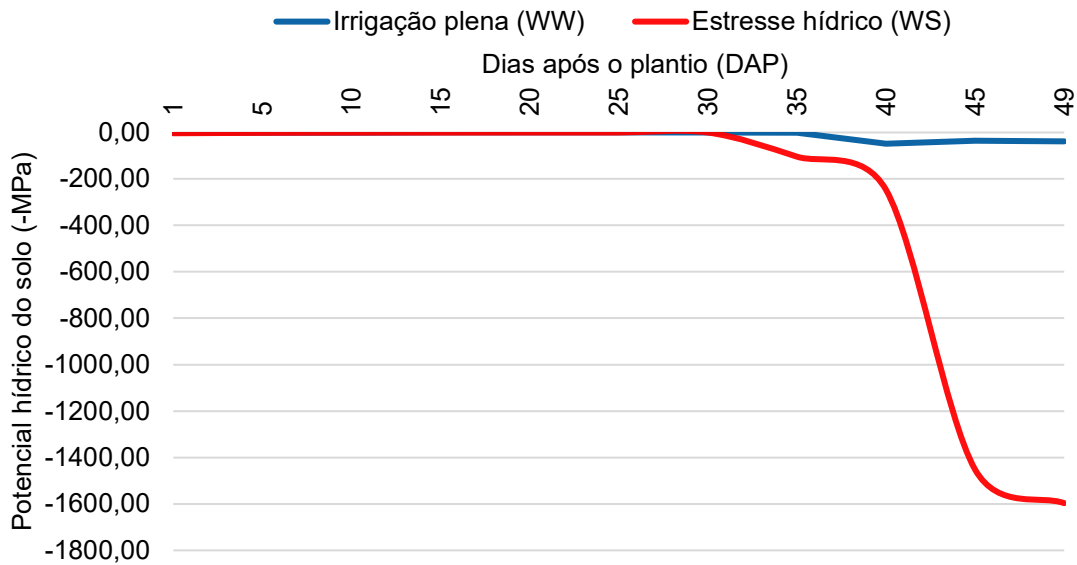


Figura 2. Potencial hídrico do solo (-MPa) em dias após o plantio (DAP) do híbrido UENF WS01 de milho-pipoca em condição irrigada (linha azul contínua) e de estresse hídrico (linha vermelha contínua).

Durante a execução do experimento, a temperatura do solo apresentou valores que oscilaram de 27,88 °C a 30,32 °C na condição WW e de 32,34 °C a 33,95 °C na condição WS (Figura 3).

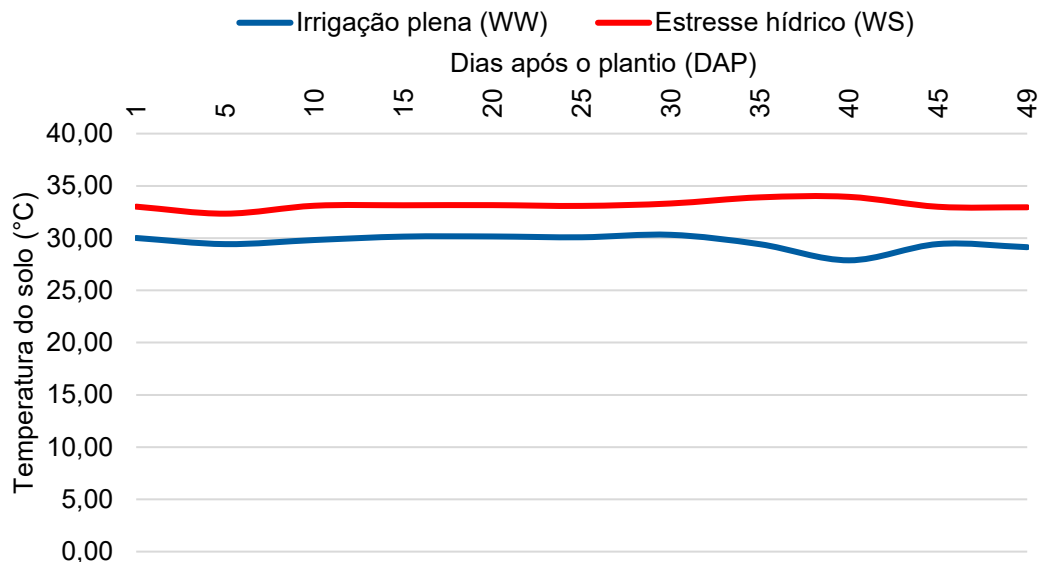


Figura 3. Temperatura do solo (°C) em dias após o plantio (DAP) do híbrido UENF WS01 de milho-pipoca em condição irrigada (linha azul contínua) e sob estresse hídrico (linha vermelha contínua).

2.5 Análise proteômica

2.5.1 Extração de proteínas e digestão trípica

Para extração e digestão de proteínas foram utilizadas três amostras biológicas de aproximadamente 300 mg de cada tratamento, totalizando 12 amostras, as quais foram maceradas em microtubos de 1,5 mL. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de tampão de extração contendo 7 M de ureia e 2 M de tiourea. As amostras foram maceradas em nitrogênio líquido usando um pilão e um almofariz e, em seguida, misturadas com 1 mL de tampão de extração ureia/tiourea [(composto de 7 M de ureia, 2 M de tiourea, 2% de Triton X-100, 1% de ditioneitol (DTT) e 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF, Sigma-Aldrich, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)].

A concentração de proteína foi determinada usando o 2-D Quant Kit® (Cytiva, Marlborough, MA, USA). As proteínas extraídas (100 µg) foram precipitadas com metanol-clorofórmio e digeridas usando o método de preparação de amostra auxiliada por filtro (FASP), descrito por Wiśniewski et al. (2009), com modificações por Reis et al. (2021). A quantificação dos peptídeos resultantes foi obtida para cada réplica biológica usando um NanoDrop 2000c a A205 nm (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA).

2.5.2 Análise de espectrometria de massa e processamento de espectros

Para análise proteômica, a aquisição de espectros de massa foi realizada em um sistema nanoACQUITY UPLC acoplado a um espectrômetro de massa SYNAPT G2 Si S para análise LC-ESI-MS/MS de acordo com as configurações descritas por Reis et al. (2021). Os espectros foram analisados usando o *software* PLGS e o *Zea mays* (ID: UP000007305) disponível no UniProtKB (www.uniprot.org) (versão 11.0). A quantificação *label-free* foi realizada usando o *software* IsoQuant (versão, Distler et al., 2014). Apenas as proteínas presentes em todas as três réplicas biológicas ou ausentes (no caso de proteínas únicas) foram consideradas para análise comparativa.

As proteínas foram filtradas de acordo com o teste t-Student ($p < 0,05$) e *fold change* $\leq -0,585$ ou $\geq 0,585$ para proteínas *down* acumuladas ou *up* acumuladas, respectivamente. A anotação funcional de proteínas e análises de enriquecimento foram realizadas usando o *software* OmicsBox (versão 2.1) e *Metascape* (Zhou et al., 2019).

3. RESULTADOS

Foi identificado o total de 726 proteínas. Na combinação dos ambientes de seca (WS) e irrigado (WW) inoculado com *B. cereus* UENF-LMS71 (WSI/WWI), a análise

de perfis proteômicos revelou 70 proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) no híbrido de milho-pipoca UENF WS01, das quais 68 foram *up*-acumuladas, uma proteína única no tratamento WSI e uma única no tratamento WWI (Tabela Suplementar 1). Considerando-se a combinação dos ambientes WS e WW na ausência da inoculação com *B. cereus* (WSC/WWC), a análise dos perfis proteômicos revelou 20 DAPs, sendo 14 proteínas *up*-acumuladas e seis proteínas *down*-acumuladas (Tabela Suplementar 2).

O diagrama de Venn apresenta as DAPs no híbrido de milho-pipoca sob diferentes condições hídricas durante o cultivo. Observa-se que todas as proteínas identificadas em WSC/WWC foram compartilhadas com WSI/WWI (Figura 4).

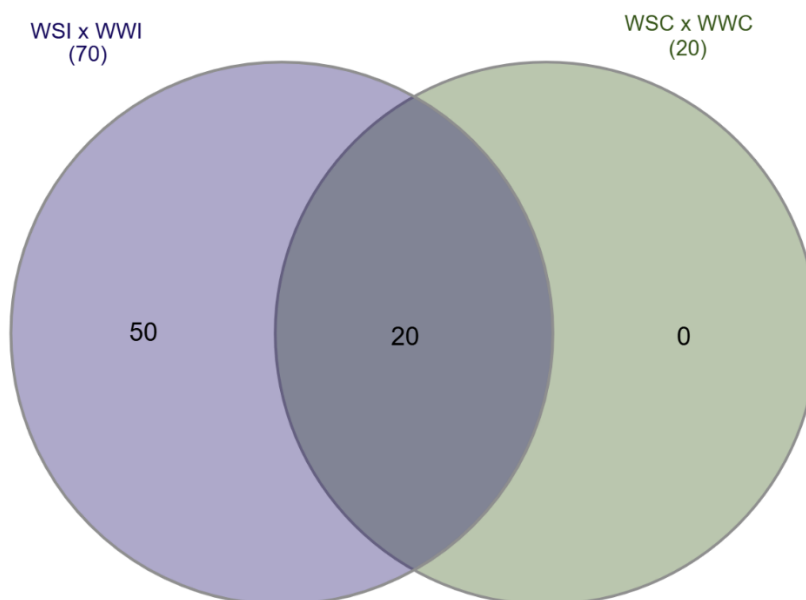


Figura 4. Diagrama de Venn de proteínas diferencialmente expressas (DAPs) em WSI/WWI e WSC/WWC. WSI: plantas do milho-pipoca cultivadas em condição de estresse hídrico e inoculadas com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71; WSC: plantas de milho-pipoca cultivadas em estresse hídrico e não-inoculadas; WWI: plantas de milho-pipoca cultivadas sob irrigação à capacidade de campo e inoculadas com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71; e WWC: plantas de milho-pipoca cultivadas sob irrigação à capacidade de campo e não-inoculadas.

Além disso, foi realizada a análise de enriquecimento de ontologia gênica (GO), que classificou as DAPs em diferentes categorias funcionais, abrangendo processos biológicos, componentes celulares e funções moleculares, com os principais grupos de GO relevantes apresentados nas Tabelas Suplementares 3 e 4.

Para os processos biológicos, as principais classes funcionais reguladas em WSI/WWI foram “cellular metabolic process” (GO: 0044237), “photosynthesis” (GO:

0015979) e “protein folding” (GO: 0006457). Para os componentes celulares, as principais categorias foram “apoplast” (GO: 0048046), “extracellular region” (GO: 0005576), “peroxisome” (GO: 0005777), “microbody” (GO: 0042579) e “cytoplasm” (GO: 0005737). Em se tratando da função molecular, as DAPs identificadas pertenciam apenas à classe de “antioxidant activity” (GO: 0016209) (Tabela Suplementar 3, Figura 5).

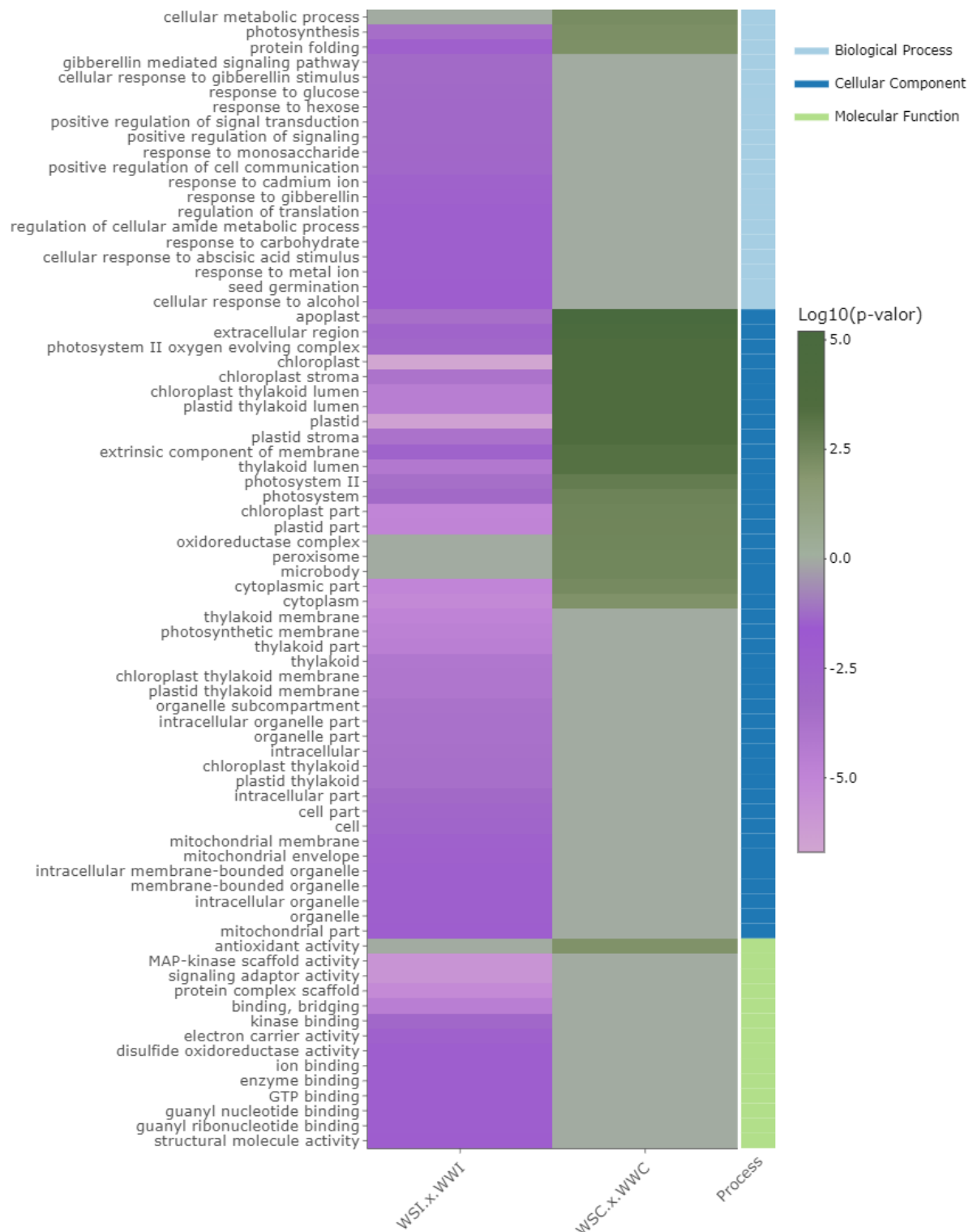


Figura 5. Heatmap dos grupos de ontologia gênica (GO) de acordo com a categoria funcional obtidos para as DAPs em proteínas de amostras de folha do híbrido UENF WS01 cultivado em condição de irrigação adequada e de estresse hídrico com e sem inoculação por *Bacillus cereus* UENF-LMS 71.

Os principais grupos de GO observados para as DAPs em WSC/WWC foram relacionados aos processos biológicos “photosynthesis” (GO: 0015979), “gibberellin mediated signaling pathway” (GO: 0010476), “cellular response to gibberellin stimulus”

(GO: 0071370), “positive regulation of signal transduction” (GO:0009967) e “cellular response to alcohol” (GO: 0097306). Para os componentes celulares, as categorias principais incluíram “chloroplast” (GO: 0009507), “cytoplasm” (GO: 0005737), “apoplast” (GO: 0048046), “photosynthetic membrane” (GO:0034357) e “photosystem II” (GO: 0009523). Para a função molecular, as categorias identificadas foram “signaling adaptor activity” (GO:0035591), “electron carrier activity” (GO: 0009055), “enzyme binding” (GO: 0019899), “guanyl nucleotide binding” (GO: 0019001) e structural molecule activity (GO: 0005198) (Tabela Suplementar 4, Figura 5).

Dentro dos principais grupos de GO, destacam-se as DAPs relacionadas ao metabolismo energético, ao transporte de moléculas, à regulação redox e a defesa antioxidante, à síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos e proteínas, à proteção de organelas e ao controle de apoptose celular.

3.1 Proteínas reguladoras do metabolismo energético e transporte de moléculas

As proteínas plastocyanin (B6SSB9), ADP/ATP translocase (B4FSA7), carbamoyl-phosphate synthase (glutamine-hydrolyzing) (K7V2Z8), Ypt homolog 4 (B4FC26), ADP, ATP carrier protein 1, mitochondrial (P04709) e outer mitochondrial membrane protein porin (Q9SPD7) foram *up*-acumuladas exclusivamente na comparação WSI/WWI. Além disso, as proteínas early nodulin-like protein 9 (Q6XZ79), malic enzyme (ME – B6TVG1) foram *up*-acumuladas e compartilhadas em ambas as combinações. A comparação WSI/WWI apresentou a acumulação de duas DAPs únicas, uma elongation factor 1-gamma 2 (A0A804R0N5) na condição WSI e uma methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine S-methyltransferase (A0A804LS44) na condição WWI. Essas proteínas pertencem a um grupo funcional comum, relacionado diretamente ao metabolismo energético e ao transporte de moléculas.

O metabolismo energético nas plantas é regulado principalmente por proteínas envolvidas na cadeia respiratória mitocondrial, fotossíntese e Ciclo de Calvin, com destaque para a geração e regulação de energia (Wang et al., 2021; Igamberdiev et al., 2023; Qiao et al., 2024). Sob estresse hídrico, a demanda energética aumenta para sustentar processos de defesa e adaptação da planta, sendo crucial para a manutenção da homeostase celular (Oziturk et al., 2021; Wu et al., 2022).

A plastocyanin (PC) é uma proteína-chave no transporte de elétrons durante a fotossíntese, conectando o complexo citocromo *b₆f* ao fotossistema I (PSI) (Castel et al., 2021; Zhang et al., 2023). Essa transferência de elétrons é essencial para a formação de ATP e NADPH, que alimentam o Ciclo de Calvin e outros processos metabólicos (Höhner et al., 2020; Igamberdiev et al., 2023). Sob estresse, a PC ajuda a mitigar os efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio (ROS), preservando a eficiência da fotossíntese e estabilizando a maquinaria fotossintética (Okooboh et al., 2023; Zahra et al., 2023).

A PC pode estar associada ao aumento na expressão de características fisiológicas, como a taxa fotossintética (A), a eficiência quântica do PSII (Fv/Fo) e o conteúdo de clorofila (Chl). Em comparação com a condição WSC, observou-se, na condição WSI, um aumento de 50,39% no conteúdo de clorofila, 11,60% na taxa fotossintética e 78,74% na eficiência quântica do PSII, evidenciando uma melhora significativa no desempenho fisiológico das plantas sob essa condição (Oliveira et al., 2024, capítulo I).

Esta proteína desempenha um papel crucial na transferência de elétrons durante a fotossíntese, impactando a produção de ATP e NADPH (Gideon et al., 2022; Li et al., 2023). A melhoria na eficiência fotossintética, proporcionada por uma maior transferência de elétrons, resulta em uma maior taxa de fixação de carbono e aumento no teor de clorofila, o que otimiza a captura de luz (Messant et al., 2021; Billah et al., 2024). A maior eficiência fotossintética pode elevar a eficiência quântica e a dissipação de energia (NPQt), contribuindo para a redução de danos causados pelo estresse (Bharadwaj et al., 2024; Herts et al., 2024).

A proteína carbamoyl-phosphate synthase (glutamine-hydrolyzing) (CPS1) contribui indiretamente para o metabolismo energético, fornecendo intermediários que suportam a estabilidade metabólica e energética, promovendo o aumento de ATP (Ter-Ovanessian et al., 2021; Wang et al., 2021). Essa proteína pode ajudar a manter a produção de aminoácidos essenciais, que, por sua vez, estão envolvidos na manutenção da eficiência fotossintética e no metabolismo de nitrogênio (Jiang et al., 2024).

O aumento na disponibilidade de ATP pode favorecer a taxa de transpiração (E), a condutância estomática (Gs) e a eficiência agrônômica no uso da água (WUE_{agro}). Em WSI, Gs apresentou um incremento de 54,55% em relação à condição WSC (Figura 3, capítulo I). Isso ocorre porque ATP é crucial para ativar as bombas

de prótons (H⁺-ATPase) nas células-guarda, facilitando a abertura dos estômatos e aumentando a transpiração (Ding et al., 2021; Kabala et al., 2023). O ATP é essencial para o transporte de íons como potássio (K⁺), promovendo a expansão celular e a troca gasosa, otimizando a eficiência agrônômica no uso da água, permitindo à planta absorver CO₂ sem desperdiçar água (Cheng et al., 2021; Juhaszova et al., 2022).

Além do metabolismo energético, as proteínas envolvidas no transporte de moléculas são cruciais para a manutenção da homeostase celular e a adaptação ao estresse (Heinemann et al., 2021; Abare et al., 2023). As proteínas ADP/ATP translocase, outer mitochondrial membrane protein porin (Q9SPD7) e ADP/ATP carrier protein 1, mitochondrial (AAC1) são essenciais para a respiração mitocondrial (Bennett et al., 2022; Berwanger et al., 2024).

A ADP/ATP translocase e a outer mitochondrial membrane protein porin (Q9SPD7) regulam a troca de nucleotídeos entre o citosol e a matriz mitocondrial, promovendo a geração de ATP pela fosforilação oxidativa (Mavridou et al., 2022; Chen et al., 2023; De et al., 2024). A AAC1 assegura a distribuição eficiente de ATP, ADP e outros íons para o citosol, sustentando sistemas antioxidantes e processos metabólicos (Yao et al., 2022; Mavridou et al., 2024). Essa proteína regula a abertura estomática, controlando a perda de água e a troca gasosa, o que é crucial para a homeostase hídrica e a resposta ao estresse (Lemonnier et al., 2024).

A proteína Ypt homolog 4 (Ypt4) atua no tráfego de vesículas e na sinalização celular (Füllbrunn et al., 2024). Essa proteína facilita o transporte de moléculas sinalizadoras, como o ácido abscísico (ABA), que regula o fechamento estomático (Tripathy et al., 2021). A Ypt4, ao mediar o tráfego vesicular, desempenha um papel crucial na reciclagem de proteínas essenciais, como receptores de ABA e transportadores de membrana (Tripathy et al., 2021). Nesse sentido, essa ação também estão ligadas diretamente para o controle da condutância estomática (Gs) e da concentração interna de CO₂ (C_i), ajustando o fechamento estomático em resposta ao estresse.

As proteínas elongation factor 1-gamma 2 (EF1G2, A0A804R0N5) e Methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine S-methyltransferase (MHT, ID: A0A804LS44) facilitam a síntese proteica e a elongação do mRNA, promovendo a ligação de aminoácidos ao ribossomo em complexos com tRNA e GTP (Li et al., 2021; Şekerci et al., 2024; Xu et al., 2022). Atuam também como reguladoras do metabolismo do folato, transferindo grupos metil para a homocisteína, formando

metionina, o que é essencial para o equilíbrio de metionina e a síntese de proteínas (Sobieszczuk-Nowicka et al., 2022; Tiwari et al., 2022).

Nossa hipótese é que as proteínas reguladoras do metabolismo energético e do transporte de moléculas permitem às plantas manter a produção de energia e a homeostase celular mesmo sob estresse hídrico, quando a captação de CO₂ é limitada pelo fechamento estomático. Essas proteínas contribuem para a utilização de fontes alternativas de carbono e para a redistribuição eficiente de energia e metabólitos essenciais, garantindo a continuidade de processos como a fotossíntese e o Ciclo de Calvin-Benson. Com isso, promovem o aumento de características fisiológicas importantes, como a taxa fotossintética, o conteúdo de clorofila, a condutância estomática e a eficiência do uso da água, auxiliando na adaptação da planta ao déficit hídrico e sustentando a produção de biomassa.

Esses efeitos foram evidenciados pelos incrementos observados com a inoculação de *B. cereus*, especialmente na condição WSI, com aumentos percentuais em Chl (50,39%), A (20,49%), Gs (54,55%) e Fv/Fo (78,74%), bem como em Ci (21,61%), Anth (26,63%) e NBI (42,74%). Além disso, características relacionadas à biomassa, como a biomassa foliar (LB) e a biomassa do colmo (SB), apresentaram aumentos de 13,33% e 20,24%, respectivamente, em relação ao controle. Esses dados confirmam a contribuição funcional dessas proteínas para uma resposta fisiológica mais eficiente ao estresse hídrico, favorecendo a manutenção da atividade fotossintética, o equilíbrio celular e o acúmulo de biomassa sob limitação hídrica (Figura 3, Capítulo I).

3.2 Proteínas de defesa celular: regulação redox, proteção de organelas e controle da apoptose

Dentro do grupo de proteínas antioxidantes e de regulação redox, destacam-se as DAPs thioredoxin M-type, chloroplastic (ID: Q41864), Glutathione reductase (ID: B4FWU6), heat shock protein 90 kDa (ID: C0P4Q3) e heat shock protein 70 kDa protein (ID: C4J410), que são *up*-acumuladas e observadas exclusivamente na combinação dos tratamentos WSI/WWI. Outras proteínas também foram diferencialmente acumuladas de forma compartilhada entre as duas combinações, como a peroxidase (ID: K7V8K5), que foi *down*-acumulada na combinação sem a bactéria (WSC/WWC) e *up*-acumulada na condição com a bactéria (WSI/WWI). A

proteína Heat shock 70 kDa protein (ID: C4J410) foi *up*-acumulada em ambas as combinações experimentais.

As proteínas antioxidantes e de regulação redox nas plantas protegem contra o estresse oxidativo, neutralizando as ROS, como radicais o ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singlete (O_2), radicais hidroxila (OH) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), mantendo o equilíbrio redox celular e prevenindo danos a proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (Jena et al., 2023; César et al., 2024; Tripathi et al., 2024).

Dentre as proteínas antioxidantes, a thioredoxin M-type, chloroplastic, destaca-se como uma proteína-chave no controle do estado redox nos cloroplastos, desempenhando funções críticas na manutenção da homeostase redox celular ao regular enzimas envolvidas na fotossíntese e reduzir disulfetos (Yokochi et al., 2021; Delgado-Requerey et al., 2023; Hou et al., 2024; Povea-Cabello et al., 2024). A Glutathione reductase é essencial para manter a glutathione na forma reduzida (GSH), permitindo sua ação antioxidante contra espécies reativas de oxigênio (ROS) (Weaver et al., 2022; Averill-Bates et al., 2023).

A proteína de choque térmico de 90 kDa (Hsp90) desempenha um papel crucial como uma chaperona molecular (Pareek et al., 2021; Huang et al., 2024). Ela é responsável por estabilizar proteínas, auxiliar na refoldagem de proteínas desnaturadas e proteger as células durante situações de estresse, incluindo o estresse oxidativo (Lang et al., 2021; Hu et al., 2022). Diferente da Hsp90, que regula proteínas envolvidas em sinalização celular, a Heat shock protein 70 kDa protein (Hsp70) atua como chaperona molecular, ajudando no dobramento de proteínas, na renaturação de proteínas malformadas e na prevenção de agregação proteica, especialmente em estresse térmico e oxidativo (Alberti et al., 2022). A Hsp70 protege as mitocôndrias, promove a mitofagia e regula a apoptose, evitando a morte celular prematura e permitindo a sobrevivência celular em condições adversas (Davoudi et al., 2022; Ciesielski et al., 2023).

Em situações de estresse hídrico, essas proteínas podem melhorar a eficiência quântica do PSII (Fv/Fo) e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no PSII (Fm/Fo), otimizando a captura de energia solar e reduzindo danos fotossintéticos, além de estar envolvida na regulação da biossíntese de flavonóides (FLV) e antocianinas (ANT), compostos essenciais para a proteção contra o estresse oxidativo (Chen et al., 2024). A Glutathione reductase, ao manter a glutathione reduzida (GSH), não só contribui para a neutralização de ROS, melhorando a WUE_{Agro}, mas

também favorece a produção de FLV e ANT como parte da resposta antioxidante (Zhang et al., 2024).

Nossa hipótese é que a defesa antioxidante e a reparação de proteínas são essenciais para manter a integridade dos cloroplastos e a eficiência fotossintética sob estresse hídrico. Proteínas como thioredoxin M-type, Glutathione reductase, Hsp70 e Hsp90 neutralizam ROS, protegem as membranas dos tilacoides e evitam a degradação das clorofilas. Também contribuem para a biossíntese de flavonoides e antocianinas, reforçando as defesas antioxidantes. Essas ações preservam a atividade do fotossistema II, estabilizam a produção de energia e evitam a morte celular precoce. Com isso, foram observados efeitos benéficos sobre diversos processos fisiológicos das plantas, incluindo a fotossíntese, cuja taxa apresentou um aumento expressivo de 20,49% no tratamento WSI. Esse incremento reflete diretamente na maior eficiência do uso da água, na mitigação dos efeitos do estresse oxidativo e na preservação do metabolismo celular (Figura 3, Capítulo I).

3.3 Proteínas de síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos e proteínas

No contexto das proteínas envolvidas na síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos e polipeptídeos, duas se destacaram: uma 50S ribosomal protein L12-1 (IB6UIC1) foi *up-acumulada* exclusivamente na condição com a bactéria (WSI/WWI), enquanto a alanine-glyoxylate transaminase (B6T171) apresentou uma acumulação compartilhada nas duas combinações, sendo *down-acumulada* na condição sem a bactéria (WSC/ WWC) e *up-acumulada* na condição com a bactéria (WSI/WWI).

As proteínas de síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos são fundamentais para a síntese de proteínas, crescimento celular e adaptação fisiológica (Heinemann et al., 2021; Ling et al., 2023). Elas regulam a tradução do RNA mensageiro em ribossomos, o equilíbrio de aminoácidos essenciais, influenciam a produção de proteínas e a resposta celular ao estresse, com impactos diretos na saúde celular, longevidade e função metabólica (Han et al., 2022; Wang et al., 2023).

A 50S ribosomal protein L12-1 é crucial para a síntese proteica, compondo a subunidade maior do ribossomo (Tavirani et al., 2021; Zhou et al., 2021). Essa proteína facilita a tradução do RNA mensageiro (mRNA) ao interagir com outras proteínas ribossômicas e fatores de tradução, estabilizando o ribossomo e promovendo a translocação ao longo do mRNA, essencial para a incorporação

eficiente de aminoácidos nas cadeias polipeptídicas (Petibon et al., 2021; Scaltsoyiannes et al., 2022). Sob estresse, a L12-1 modula a síntese de polipeptídeos, promovendo a produção de proteínas de choque térmico (HSPs), essenciais para a adaptação celular e a manutenção do metabolismo em condições adversas (Bakshi et al., 2023).

Nossa hipótese é que as proteínas envolvidas na síntese e modulação do metabolismo de aminoácidos e polipeptídeos são fundamentais para a adaptação das plantas ao estresse, permitindo a regulação eficiente da síntese proteica e a manutenção do equilíbrio de aminoácidos essenciais. A 50S ribosomal protein L12-1 regula a tradução do RNA mensageiro, facilitando a incorporação de aminoácidos nas cadeias polipeptídicas e promovendo a produção de proteínas de choque térmico (HSPs). Além disso, a alanine-glyoxylate transaminase desempenha um papel crucial no metabolismo de aminoácidos, contribuindo para a adaptação celular. Juntas, essas proteínas garantem uma resposta celular mais eficaz ao estresse, ajudando a preservar a homeostase celular, a eficiência do uso da água e a produção de energia, aspectos essenciais para a sobrevivência e crescimento da planta em condições adversas.

3.4 Modulação da resposta ao estresse hídrico por *Bacillus cereus*

Nesse estudo, como a maioria das DAPs foram exclusivamente observadas na combinação WSI/WWI, com a presença de inoculação, sugere-se que *Bacillus cereus* influenciou significativamente a expressão de proteínas-chave na resposta ao estresse hídrico. Especificamente, *Bacillus cereus* pode atuar através da modulação de vias de sinalização redox, o que é fundamental para a regulação da resposta celular ao estresse oxidativo induzido pela desidratação (Kubori et al., 2022).

Em estudo realizado por Naher et al. (2018) com a cultivar de arroz MR219-9 inoculada com uma combinação de *Stenotrophomonas maltophilia* e *Bacillus* spp., demonstrou-se efeito promotor de crescimento e na expressão de 153 proteínas diferencialmente expressas, das quais doze foram identificadas. A maioria dessas proteínas estava relacionada ao controle do estresse abiótico, resistência a doenças, processos de redução da oxidação, síntese de proteínas e funções fisiológicas associadas à fotossíntese.

Ainda são limitadas as informações sobre as proteínas em plantas inoculadas com BPCP, especialmente sobre os mecanismos moleculares de adaptação ao

estresse. Este estudo se destaca ao fornecer novos *insights* sobre proteínas diferencialmente expressas em resposta à inoculação com *Bacillus cereus*, ampliando o entendimento das interações entre plantas e microrganismos benéficos. A identificação dessas proteínas é essencial para desenvolver estratégias mais eficazes no manejo de estresses ambientais.

4. CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível identificar DAPs nas diferentes combinações de tratamentos, sendo o quantitativo mais relevante na combinação WSI/WWI (com inoculação de *Bacillus cereus*). A presença dessas proteínas tende contribuir para a maior tolerância das plantas ao estresse hídrico, otimizando processos como a fotossíntese, a regulação redox e a estabilidade das organelas celulares.

A inoculação com *B. cereus* na combinação WSI/WWI demonstrou significativo impacto na modulação proteica da resposta das plantas ao estresse, com a expressão de proteínas-chave associadas ao metabolismo energético, ao transporte de moléculas e à defesa antioxidante. Esses resultados indicam que a bactéria tende a atuar como redutora do impacto causado pelo estresse, favorecendo a adaptação das plantas à condição de escassez de água.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aasfar, A. et al. (2021) Nitrogen fixing Azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in microbiology*, 12: pp. 628379.

Abare, M. Y.; Rahayu, S.; Tugiyanti, E. (2023). The role of heat shock proteins in chicken: Insights into stress adaptation and health. *Research in Veterinary Science*, 165: pp. 105057.

Adeleke, B. S.; Ayangbenro, A. S.; e Babalola, O. O. (2021). Genomic analysis of endophytic *Bacillus cereus* T4S and its plant growth-promoting traits. *Plants*, 10(9), pp. 1776.

Ajjah, N. et al. (2023). Plant growth-promoting bacteria (PGPB) with biofilm-forming ability: a multifaceted agent for sustainable agriculture. *Diversity*, 15(1), 112.

Akhtar, N., et al. (2021). Papel do *Bacillus cereus* na melhoria do crescimento e fitoextratabilidade de *Brassica nigra* (L.) K. Koch em solo contaminado com cromo. *Molecules*, 26(6), pp. 1569.

Albahri, G. et al. (2023). Enhancing essential grains yield for sustainable food security and bio-safe agriculture through latest innovative approaches. *Agronomy*, 13(7), pp.

Alberti, G. et al. (2022). The chaperone system in breast cancer: Roles and therapeutic prospects of the molecular chaperones Hsp27, Hsp60, Hsp70, and Hsp90. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), pp. 7792.

Aleynova, O. A. e Kiselev, K. V. (2023). Interaction of plants and endophytic microorganisms: molecular aspects, biological functions, community composition, and practical applications. *Plants*, 12(4): pp. 714.

Ali, A. M., et al. (2021). Effect of potassium solubilizing bacteria (*Bacillus cereus*) on growth and yield of potato. *Journal of Plant Nutrition*, 44(3), pp. 411-420.

Ali, B. et al. (2023). Bacterial-mediated salinity stress tolerance in maize (*Zea mays* L.): A fortunate way toward sustainable agriculture. *ACS Omega*, 8(23): pp. 20471-20487.

Amaral Júnior, A. T. et al. (2016). Proposal of a super trait for the optimum selection of popcorn progenies based on path analysis. *Genet. Mol. Res.*, 15(1), pp. 1-9.

Amezquita-Aviles, C. F., et al. (2022). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotecnia*, 24(1), pp. 15-22.

Andrade, L. A., et al. (2023). Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *Microorganisms*, 11(4), pp. 1088.

Arnhold, E., Soriano Viana, J. M., Mora, F., Vieira Miranda, G., Silva, R. G. (2010). Inbreeding depression and genetic components for popping expansion and other traits in Brazilian populations of popcorn. *Cienc. Investig. Agrar.*, 37, pp. 125–132.

Averill-Bates, D. A. (2023). The antioxidant glutathione. In: *Vitamins and hormones*. Academic Press, pp. 109-141.

Bakshi, A. et al. (2023). Involvement of target of rapamycin (TOR) signaling in the regulation of crosstalk between ribosomal protein small subunit 6 kinase-1 (RPS6K-1) and ribosomal proteins. *Plants*, 12(1), pp. 176.

Balyan, N., et al. (2022). Optimization of gibberellic acid production in endophytic *Bacillus cereus* using response surface methodology and its use as plant growth regulator in chickpea. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(7), pp. 3019-3029.

Banerjee, A., Sarkar, S., Cuadros-Orellana, S., & Bandopadhyay, R. (2019). Exopolysaccharides and biofilms in mitigating salinity stress: the biotechnological potential of halophilic and soil-inhabiting PGPB microorganisms. In *Microorganisms in saline environments: Strategies and functions*, pp. 133-153).

Barros, J. F. C., Calado, J. G. (2014). A cultura do milho. *Évora: Escola de Ciência e Tecnologia - Universidade de Évora*, pp. 1-54.

- Bharadwaj, B. et al. (2024). Physiological and Biochemical Responses of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Under Drought Stress. *Journal of Medicinally Active Plants*, 13: pp. 2-3.
- Bhat, B. A., et al. (2022). The role of plant-associated rhizobacteria in plant growth, biocontrol and abiotic stress management. *Journal of Applied Microbiology*, 133(5), pp. 2717-2741.
- Bennett, C. F.; Latorre-Muro, P.; Puigserver, P. (2022). Mechanisms of mitochondrial respiratory adaptation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(12), pp. 817-835.
- Berwanger, C. et al. (2024). Immortalised murine R349P desmin knock-in myotubes exhibit a reduced proton leak and decreased ADP/ATP translocase levels in purified mitochondria. *European Journal of Cell Biology*, 103(2), pp. 151399.
- Billah, M. et al. (2024). Exploring Regulatory Roles of Plant Thylakoid-Bound Proteins Involved in Abiotic Stress Responses. *Journal of Plant Growth Regulation*, pp. 1-22.
- Bispo, R. B. et al. (2023). Assessing combining abilities of popcorn inbred lines for agronomic and root traits under contrasting water conditions: Towards developing drought-tolerant genotypes. *Stresses*, 3(3), pp. 586-604.
- Bittencourt, P. P., Alves, A. F., Ferreira, M. B., da Silva Irineu, L. E. S., Pinto, V. B., Olivares, F. L. (2023). Mechanisms and applications of bacterial inoculants in plant drought stress tolerance. *Microorganisms*, 11(2), pp. 502.
- Borras, F. et al. (2006). Relationship between popcorn composition and expansion volume and discrimination of corn types by using zein properties. *Cereal Chem.*, 83, pp. 86–92. doi: 10.1094/CC-83-0086.
- Cabello, G. G. C. et al. (2023). Plant adaptability to climate change and drought stress for crop growth and production. *CABI Reviews*.
- Cabral, P. D. S. et al. (2016). Relação causa e efeito de caracteres quantitativos sobre a capacidade de expansão do grão em milho-pipoca. *Ciência Agrônômica*, 47(1), pp. 108–117.
- Cairns, J. E., et al. (2012). Dissecting Maize Productivity: Ideotypes Associated with Grain Yield under Drought Stress and Well-watered Conditions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54(12), 1007–1020.
- Carvalho, C. M. et al. (2023). Early selection for drought tolerance in popcorn based on gene effects estimated in seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 14, pp. 1203972.
- Castell, C. et al. (2021). New insights into the evolution of the electron transfer from cytochrome f to photosystem I in the green and red branches of photosynthetic eukaryotes. *Plant and Cell Physiology*, 62(7): pp. 1082-1093.
- César, A. P. C. et al. (2024). Antioxidant peptides from plants: A review. *Phytochemistry Reviews*, 23(1): pp. 95-104.

Chaffai, R., Ganesan, M., & Cherif, A. (2024). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPB) and Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF) for Alleviating Abiotic Stress in Plants. In *Plant Adaptation to Abiotic Stress: From Signaling Pathways and Microbiomes to Molecular Mechanisms* (pp. 457-496). Springer Nature Singapore.

Chandran, H. e Meena, M.; Swapnil, P. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(19): pp. 10986.

Chen, Q. et al. (2024). m-Type thioredoxin regulates cytochrome b6f complex of photosynthesis. *Plant Physiology*, 194(3): pp. 1294-1298.

Chen, Y. et al. (2023). Adenine nucleotide translocase: current knowledge in post-translational modifications, regulations and pathological implications for human diseases. *The FASEB Journal*, 37(6): pp. e22953.

Chen, Y., et al. (2024). Repeated inoculations improve wheat yield through modifying the rhizobacterial communities and nitrogen and phosphorus fractions. *Applied Soil Ecology*, 196, pp. 105287.

Cheng, H. et al. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in trifoliolate orange by regulating H⁺-ATPase activity and gene expression. *Frontiers in Plant Science*, 12: pp. 659694.

Chiquito-Contreras, C. J. et al. (2024). Molecular insights into plant–microbe interactions: A comprehensive review of key mechanisms. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 16(1): pp. 9.

Ciesielski, S. J. et al. (2023). The Hsp70 and JDP proteins: Structure-function perspective on molecular chaperone activity. *The Enzymes*, 54, pp. 221-245.

Coronado-apodaca, K. G. et al. (2023). Agro-food sustainability transitions: New Frontiers for food security. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 31: pp. 100412.

Dalla-Costa, D. A. et al. (2018). Qualidade fisiológica de sementes crioulas de milho pipoca. *Rev. Bras. Agroecol.*, 13, pp. 256-259. doi: 10.33240/rba.v13i5.22750.

Davoudi, M., Chen, J., e Lou, Q. (2022). Genome-wide identification and expression analysis of heat shock protein 70 (HSP70) gene family in pumpkin (*Cucurbita moschata*) rootstock under drought stress suggested the potential role of these chaperones in stress tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), pp. 1918.

De, B. C. et al. (2024). Photosynthetic directed endosymbiosis to investigate the role of bioenergetics in chloroplast function and evolution. *Nature Communications*, 15(1): pp. 1-14.

Deb, C. R.; Tatung, M. (2024). Siderophore producing bacteria as biocontrol

agent against phytopathogens for a better environment: A review. *South African Journal of Botany*, 165: pp. 153-162.

Delgado-Requerey, V., Cejudo, F. J., González, M.-C. (2023). The functional relationship between NADPH thioredoxin reductase C, 2-Cys peroxiredoxins, and m-type thioredoxins in the regulation of Calvin–Benson cycle and malate-valve enzymes in *Arabidopsis*. *Antioxidants*, 12(5): pp. 1041.

Deng, Z., et al. (2025). Biochar-based *Bacillus subtilis* inoculants promote plant growth: Regulating microbial community to improve soil properties. *Journal of Environmental Management*, 373, pp. 123534.

Desoky, E. S. M., Saad, A. M., El-Saadony, M. T., Merwad, A. R. M., & Rady, M. M. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria: Potential improvement in antioxidant defense system and suppression of oxidative stress for alleviating salinity stress in *Triticum aestivum* (L.) plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101878.

Dey, G. et al. (2021). Management of phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria—A review. *Agronomy*, 11(8): pp. 1552.

Dhar, S. K., Kaur, J., Singh, G. B., Chauhan, A., Tamang, J., Lakhara, N., Abdi, G. (2024). Novel *Bacillus* and *Prestia* isolates from Dwarf century plant enhance crop yield and salinity tolerance. *Sci. Rep.*, 14(1), pp. 14645.

Díaz-rodríguez, A. M. et al. (2024). Plant growth-promoting bacteria as a sustainable agricultural strategy. In: *New Insights, Trends, and Challenges in the Development and Applications of Microbial Inoculants in Agriculture*. Academic Press, pp. 37-50.

Dimkić, I., et al. (2022). Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms—A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117, 101754.

Ding, M. et al. (2021). Molecular basis of plasma membrane H⁺-ATPase function and potential application in the agricultural production. *Plant Physiology and Biochemistry*, 168: pp. 10-16.

Distler, U.; Kuharev, J.; Navarro, P.; Levin, Y.; Schild, H.; Tenzer, S. (2014). Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. *Nat Methods*, 11: pp. 167–170.

Engels, J. M. M. et al. (2006). Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 53(8), pp. 1675-1688.

Elnahal, A. S. M. et al. (2022). The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. *European Journal of Plant Pathology*, 162(4): pp. 759-792.

Elsharkawy, M. M. et al. (2022). Induction of systemic resistance against sheath blight in rice by different *Pseudomonas* isolates. *Life*, 12(3): pp. 349.

Fanai, A. et al. (2024). Plant growth promoting bacteria (PGPB)-induced plant adaptations to stresses: an updated review. *PeerJ*, 12: pp. e17882.

Fanchin, D. T., Scheer, A. P., Sampaio, E. et al. (1993). Elaboração de pós para bebidas utilizando milho pipoca. *Boletim do CEPPA*, Curitiba, 11(1), pp. 1116.

Faria Junior, C. A. et al. (2018). Calibração dos coeficientes genéticos e simulação da produtividade do milho pipoca de segunda safra para Tangará da Serra, Brasil. *Rev. Ciênc. Agrár.*, 41, pp. 201–210. doi: 10.19084/RCA17234.

Farooq, M., Hussain, M., e Siddique, K. H. M. (2014). Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33, 331-349. doi: 10.1080/07352689.2014.875291.

Farooq, M. et al. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, pp. 153-188

Fritze, D. (2004). Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: the aerobic endospore-forming bacteria. *Phytopathology*, 94(11), 1245-1248.

Fu, Z. et al. (2010). Nucleotide diversity and molecular evolution of the PSY1 gene in *Zea mays* compared to some other grass species. *Theor. Appl. Genet.*, 120(4), pp. 709-720. doi: 10.1007/s00122-009-1188-x.

Gamalero, E., Lingua, G., Glick, B. R. (2023). Ethylene, ACC, and the plant growth-promoting enzyme ACC deaminase. *Biology*, 12(8), pp. 1043.

Gao, T., et al. (2019). The phosphotransferase system gene ptsH plays an important role in MnSOD production, biofilm formation, swarming motility, and root colonization in *Bacillus cereus* 905. *Research in Microbiology*, 170(2), pp. 86-96.

Ghabooli, M. et al. (2013). Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *Journal of Proteomics*, 94: pp. 289-301.

Gharib, A. A., et al. (2020). *Bacillus cereus*: Pathogenicity, viability and adaptation. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(s1), 34-40.

Giannelli, G.; Potestio, S.; Visioli, G. (2023). The contribution of PGPR in salt stress tolerance in crops: Unravelling the molecular mechanisms of cross-talk between plant and bacteria. *Plants*, 12(11): pp. 2197.

Gideon, D. A., Nirusimhan, V., Manoj, K. M. (2022). Are plastocyanin and ferredoxin specific electron carriers or generic redox capacitors? Classical and murburn perspectives on two photosynthetic proteins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(5): pp. 1995-2009.

Goodman, M. M. (1980). Melhoramento e produção do milho no Brasil: Botânica. *Piracicaba/ESALQ*, Marprint, 2ª impressão.

Goodman, M. M., Smith, J. S. C. (1987). Melhoramento e produção de milho. In: Paterniani, E., Viegas, G. P., Fundação Cargill, Campinas, pp. 41–78.

Gopinath, I. et al. (2024) Genetic analysis of popping quality traits and development of superior quality popcorn hybrids for a sustainable popcorn breeding program in India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(15), pp. 9265-9276.

Granum, P. E., & Lindbäck, T. (2012). *Bacillus cereus*. In *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, pp. 491-502.

Haghpanah, M. et al. (2024). Drought tolerance in plants: Physiological and molecular responses. *Plants*, 13(21): pp. 2962.

Han, M. et al. (2022) Transcriptome analysis reveals critical genes and pathways in carbon metabolism and ribosome biogenesis in poplar fertilized with glutamine. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), pp. 9998, 2022.

Hasan, A. et al. (2024). Role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as a plant growth enhancer for sustainable agriculture: A review. *Bacteria*, 3(2): 59-75.

Haugh, W. A et al. (1976). Physical properties of popcorn. *Trans. ASAE*, St Joseph, 19, pp. 168-171.

He, L.; Rosa, L. (2023). Solutions to agricultural green water scarcity under climate change. *PNAS Nexus*, 2(4), pp. 117.

Heinemann, B.; Hildebrandt, T. M. (2021). The role of amino acid metabolism in signaling and metabolic adaptation to stress-induced energy deficiency in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(13): pp. 4634-4645.

Herts, A. I. et al. (2024). Influence of two types of biochars on the photosynthetic apparatus of prickly-seeded spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Agricultural Science and Practice*, 11(1): pp. 56-69.

Hoagland, D. R. e Arnon, D. I. (1938). The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*, 347, pp. 1-39.

Höhner, R. et al. (2020). Plastocyanin is the long-range electron carrier between photosystem II and photosystem I in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(26): pp. 15354-15362.

Hou, L. et al. (2024) The impact of light and thioredoxins on the plant thiol-disulfide proteome. *Plant Physiology*, 195(2): pp. 1536-1560.

Hu, C. et al. (2022). Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities. *MedComm*, 3(3), pp. e161.

Huang, Y. et al. (2024). Multifaceted roles of Arabidopsis heat shock factor binding protein in plant growth, development, and heat shock response. *Environmental and Experimental Botany*, 226: pp. 105878.

Ibort, P. et al. (2018). Proteomic analysis reveals that tomato interaction with plant growth promoting bacteria is highly determined by ethylene perception. *Journal of Plant Physiology*, 220: pp. 43-59.

Igamberdiev, A. U.; Bykova, N. V. (2023). Mitochondria in photosynthetic cells: Coordinating redox control and energy balance. *Plant Physiology*, 191(4): pp. 2104-2119.

Ingrao, C. et al. (2023). Water scarcity in agriculture: An overview of causes, impacts and approaches for reducing the risks. *Heliyon*.

Jabeen, Z., et al. (2022). Alleviation of cadmium stress in rice by inoculation of *Bacillus cereus*. *PeerJ*, 10, e13131.

Jain, A.; Singh, H. B.; Das, S. (2021). Deciphering plant-microbe crosstalk through proteomics studies. *Microbiological Research*, 242, pp. 126590.

Janni, M. et al. (2024). Plant responses to climate change, how global warming may impact on food security: a critical review. *Front. Plant Sci.*, 14, pp. 1297569.

Jena, A. B. et al. (2023). Cellular red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, pp. 114606.

Juhaszova, M. et al. (2022). ATP synthase K⁺- and H⁺-fluxes drive ATP synthesis and enable mitochondrial K⁺-“uniporter” function: I. Characterization of ion fluxes. *Function*, 3(2): pp. zqab065.

Jiang, J. et al. (2024) Photosynthetic cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* with formate as a novel carbon source to the protein production. *Chemical Engineering Journal*, pp. 152518.

Junaid, M. D.; Gokce, A. F. (2024). Global agricultural losses and their causes. *Bulletin of Biological and Allied Sciences Research*, 2024(1), pp. 66-66.

Kabała, K. e Janicka, M. (2023). Structural and functional diversity of two ATP-driven plant proton pumps. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5): pp. 4512.

Kamphorst, S. H. et al. (2019). Driving sustainable popcorn breeding for drought tolerance in Brazil. *Front. Plant Sci.*, 12, pp. 732285.

Kamphorst, S. H. et al. (2018). Can genetic progress for drought tolerance in popcorn be achieved by indirect selection?. *Agronomy*, 9(12): pp. 792.

Kamphorst, S. H. et al. (2021). Driving sustainable popcorn breeding for drought

tolerance in Brazil. *Frontiers in Plant Science*, 12: pp. 732285.

Kamphorst, S. H. et al. (2022). Heterosis and reciprocal effects for physiological and morphological traits of popcorn plants under different water conditions. *Agricultural Water Management*, 261, pp. 107371.

Kaur, S., Kumar, B., Singh, V., Das, A. K., & Rakshit, S. (2023). Genetic dissection of popping quality traits in tropical popcorn (*Zea mays* L. var. *everta*). *Journal of Cereal Science*, 112, 103700.

Kaya, C. et al. (2024). Epigenetic Modifications of Hormonal Signaling Pathways in Plant Drought Response and Tolerance for Sustainable Food Security. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8229.

Kaya, C. et al. (2024). Microbial modulation of hormone signaling, proteomic dynamics, and metabolomics in plant drought adaptation. *Food and Energy Security*, 13(1), pp. e513.

Kerr, W. E. (1969). *Melhoramento e genética*. São Paulo: Universidade de São Paulo, pp. 1-301.

Keswani, C., et al. (2020). Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(3), 1013-1034.

Kim, K.-H.; Lee, B.-M. (2023). Effects of climate change and drought tolerance on maize growth. *Plants*, 12(20): pp. 3548.

Kist, B. B. (2020). *Anuário Brasileiro do Milho*. Editora Gazeta Santa Cruz: Santa Cruz, Brasil, 43p.

Kistler, L., et al. (2018). Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. *Science*, 362, pp. 1309–1313.

Kopecká, R. et al. (2023). Abiotic stress in crop production. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7): pp. 6603.

Kulkova, I. et al. (2023). Plant growth promotion using *Bacillus cereus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11): pp. 9759.

Kumar, A., & Johri, B. N. (2012). Antimicrobial lipopeptides of *Bacillus*: natural weapons for biocontrol of plant pathogens. In *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*, pp. 91-111.

Kumar, P., et al. (2020). Effect of silver nanoparticles and *Bacillus cereus* LPR2 on the growth of *Zea mays*. *Scientific Reports*, 10(1), 20409.

Lamêgo, D. L. et al. (2024). Gene Effect of Morphophysiological Traits in Popcorn (*Zea mays* L. var. *everta*) Grown Under Contrasting Water Regimes. *Agriculture*, v. 14(12), 2157.

Leite, J. T. et al. (2022). All are in a drought, but some stand out: multivariate analysis in the selection of agronomic efficient popcorn genotypes. *Plants*, 11(17), pp. 2275.

Lemonnier, P., Lawson, T. (2024). Calvin cycle and guard cell metabolism impact stomatal function. In: *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Academic Press, pp. 59-70.

Li, R. et al. (2023). Research progress in improving photosynthetic efficiency. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), pp. 9286.

Li, T. et al. (2021). Selection of reference genes for gene expression analysis in *Liriodendron* hybrids' somatic embryogenesis and germinative tissues. *Scientific Reports*, 11(1), pp. 4957.

Lima, J. D. et al. (2024). Expanding agricultural potential through biological nitrogen fixation: Recent advances and diversity of diazotrophic bacteria. *Australian Journal of Crop Science*, 18(6): pp. 324-333.

Lima, V. J. et al. (2019). Combined dominance and additive gene effects in trait inheritance of drought-stressed and full irrigated popcorn. *Agronomy*, 9(12), pp. 782.

Lima, V. J. et al. (2021). UENF WS01: Popcorn hybrid with water use efficiency for the State of Rio de Janeiro. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.*, 21, pp. 1-7.

Ling, Z. et al. (2023). Amino acid metabolism in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), pp. 345, 2023.

Liu, F., et al. (2023). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the physioecological characteristics and growth of walnut seedlings under drought stress. *Agronomy*, 13(2), pp. 290.

Liu, Y., et al. (2015). Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group. *Scientific Reports*, 5(1), pp. 14082.

Lucas, J. A., et al. (2023). Physiological and genetic modifications induced by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPB) in tomato plants under moderate water stress. *Biology*, 12(7), pp. 901.

Lukhele, P. T. et al. (2020). Análises morfológicas e proteômicas de *Zea mays* em resposta ao estresse hídrico. *Afr. J. Biotechnol.*, 19(5), pp. 789-795.

Luz, M. D. L. S., Dalpasquale, V. A., Alberto, C. (2005). Influência da umidade das sementes na capacidade de expansão de três genótipos de milho-pipoca (*Zea mays* L.). *Acta Scientiarum Biol. Sci.*, 27, pp. 549-553.

Mandic-Mulec, I., Stefanic, P., & Van Elsas, J. D. (2016). Ecology of *Bacillaceae*. In *The bacterial spore: From molecules to systems*, pp. 59-85.

Mansoor, S., & Chung, Y. S. (2024). Functional phenotyping: understanding the

dynamic response of plants to drought stress. *Current Plant Biology*, pp. 100331.

Martins, S. J., et al. (2018). Plant-associated bacteria mitigate drought stress in soybean. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, pp. 13676-13686.

Matta, F. P., Viana, J. M. S. (2001). Testes de capacidade de expansão em programas de melhoramento de milho pipoca. *Scientia Agricola*, 58(4), pp. 845–851.

Maurya, N.; Sharma, A.; Sundaram, S. (2024). The role of PGPB-microalgae interaction in alleviating salt stress in plants. *Current Microbiology*, 81(9): pp. 270.

Mavridou, V. et al. (2024). Membrane potential stimulates ADP import and ATP export by the mitochondrial ADP/ATP carrier due to its positively charged binding site. *Science Advances*, 10(44): pp. eadp7725.

Mccree, K. J., & Fernández, C. J. (1989). Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. *Crop Science*, 29(2), pp. 353-360.

Messant, M., Krieger-Liszkay, A., Shimakawa, G. (2021) Dynamic changes in protein-membrane association for regulating photosynthetic electron transport. *Cells*, 10(5), pp. 1216.

Mikiciuk, G., Miller, T., Kisiel, A., Cembrowska-Lech, D., Mikiciuk, M., Łobodzińska, A., & Bokszczanin, K. (2024). Harnessing Beneficial Microbes for Drought Tolerance: A Review of Ecological and Agricultural Innovations. *Agriculture*, 14(12), 2228.

Miljaković, D., Marinković, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. *Microorganisms*, 8(7), pp. 1037.

Mishra, P.; Mishra, J.; Arora, N. K. (2021). Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants—Recent developments and prospects: A review. *Microbiological Research*, 252: pp. 126861.

Mohsin, M. Z., et al. (2021). Advances in engineered *Bacillus subtilis* biofilms and spores, and their applications in bioremediation, biocatalysis, and biomaterials. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 6(3), pp. 180-191.

Naher, U. A. et al. (2018). Proteomic study on growth promotion of PGPR inoculated aerobic rice (*Oryza sativa* L.) cultivar MR219-9. *Pak. J. Bot.*, 50(5): pp. 1843-1852.

Naikwade, P. V. (2023). Plant responses to drought stress: Morphological, physiological, molecular approaches, and drought resistance. In: *Plant Metabolites under Environmental Stress*. Apple Academic Press, pp. 149-183.

Nguyễn, C. T. et al. (2024). Drought-ready plant resilience: Harnessing nano-biotechnology techniques for swift screening and selection of organic crop varieties. *South Afr. J. Bot.*, 169, pp. 553-566.

Novaes, M., David, A., Silva, V., Rodrigues, E., Villa, R., & Oliveira, A. (2019). Caracterização física e química de grãos de milho pipoca comercializados no Brasil. *Multi-Science Journal*, 2(2), 75-81.

Okooboh, G. O. et al. (2023). Expression of the plastocyanin gene PETE2 in *Camelina sativa* improves seed yield and salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 290: pp. 154103.

Olanrewaju, O. S. et al. (2019). Plant health: feedback effect of root exudates-rhizobiome interactions. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, pp. 1155-1166, 2019.

Oliveira, U. A. et al. (2024a). *Bacillus cereus*: An ally against drought in popcorn cultivation. *Microorganisms*, 12(11): pp. 2351.

Oliveira, U. A. et al. (2024b). Unveiling drought-resilient Latin American popcorn lines through agronomic and physiological evaluation. *Life*, 14(6): pp. 743.

Ologundudu, F. (2021). Antioxidant enzymes and non-enzymatic antioxidants as defense mechanism of salinity stress in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)—Ife brown and Ife bpc. *Bull. Natl. Res. Centre*, 45, pp. 1-6.

Omelyanchuk, N. A., Lavrekha, V. V., Bogomolov, A. G., Dolgikh, V. A., Sidorenko, A. D., Zemlyanskaya, E. V. (2024). Computational reconstruction of the transcription factor regulatory network induced by auxin in *Arabidopsis thaliana* L. *Plants*, 13(14), pp. 1905.

Orozco-mosqueda, M. D. C.; Santoyo, G.; Glick, B. R. (2023). Recent advances in the bacterial phytohormone modulation of plant growth. *Plants*, 12:3, pp. 606.

Ozturk, M. et al. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2): pp. 1321-1335.

Oyebamiji, Y. O., et al. (2024). Recent advancements in mitigating abiotic stresses in crops. *Horticulturae*, 10(2), 156.

Patani, A. et al. (2024). Recent advances in *Bacillus*-mediated plant growth enhancement: a paradigm shift in redefining crop resilience. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 40(2), pp. 77.

Patel, M. et al. (2024). Zero budget natural farming components Jeevamrit and Beejamrit augment *Spinacia oleracea* L.(spinach) growth by ameliorating the negative impacts of the salt and drought stress. *Frontiers in Microbiology*, 15, pp. 1326390.

Paterniani, E. (1980). (Ed.). Melhoramento e produção do milho no Brasil. Campinas: Fundação Cargill, pp. 1-650.

Paterniani, E.; Campos, M. S. (2005). Melhoramento do milho. In: Borém, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, MG: UFV, pp. 491-552.

Pattnaik, S. e Mohapatra, B.; Gupta, A. (2021). Plant growth-promoting microbe mediated uptake of essential nutrients (Fe, P, K) for crop stress management: Microbe–soil–plant continuum. *Frontiers in Agronomy*, 3: pp. 689972.

Pareek, A. et al. (2021). The small heat shock proteins, chaperonin 10, in plants: an evolutionary view and emerging functional diversity. *Environmental and Experimental Botany*, 182: pp. 104323.

Pena, G. F., Amaral Júnior, A. T. do., Gonçalves, L. S. A., Vivas, M., Rodrigo Moreira Ribeiro, G. S. M., Santos, A. dos., Scapim, C. A. (2016). Comparison of testers in the selection of S3 families obtained from the UENF-14 variety of popcorn. *Bragantia*, 75, pp. 135–144.

Peñas-Corte, M., Bouzas, P. R., Nieto del Río, J., Manzanera, M., Barros-Rodríguez, A., Fernández-Navarro, J. R. (2024). Enhancing maize stress tolerance and productivity through synergistic application of *Bacillus velezensis* A6 and Lamiales plant extract, biostimulants suitable for organic farming. *Biology*, 13(9), pp. 718.

Perdomo, J. A., et al. (2017). Rubisco and rubisco activase play an important role in the biochemical limitations of photosynthesis in rice, wheat, and maize under high temperature and water deficit. *Frontiers in Plant Science*, 8, 490.

Pereira Filho, I. A., Pacheco, C. A. P., Cruz, J. C. (2010). A cultura do milho-pipoca. Embrapa Informação Tecnológica, 67, Coleção Plantar, 79.

Petibon, C. et al. (2021). Regulation of ribosomal protein genes: An ordered anarchy. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 12(3), pp. e1632.

Poggi, G. M., et al. (2024). Phenotypic variability for early drought stress resistance in tetraploid wheat accessions correlates with terminal drought performance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 210(2), e12691.

Porto, E. M. V., Teixeiras, F. A., Fries, D. D., Jardim, R. R., Amaro, H. T. R., dos Santos Filho, J. R., Vieira, T. M. (2023). Plant growth-promoting microorganisms as mitigators of water stress in pastures: A narrative review. Seven Editora.

Poveda, J., & González-Andrés, F. (2021). *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1-17.

Povea-Cabello, S.; Brischigliaro, M.; Fernández-Vizarra, E. (2024). Emerging mechanisms in the redox regulation of mitochondrial cytochrome c oxidase assembly and function. *Biochemical Society Transactions*, 52(2): pp. 873-885.

Prashar, P., Kapoor, N., Sachdeva, S. (2014). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, 13, pp. 63-77.

Qiao, M. et al. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13): pp. 1808.

- Qiao, M. et al. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), pp. 1808.
- Rahman, N. S. N., Abdul Hamid, N. W., Nadarajah, K. (2021). Effects of abiotic stress on soil microbiome. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(16), pp. 9036.
- Rangel, R. M., Amaral Júnior, A. T., Freitas Júnior, S. P. (2011). Associação entre características agrônômicas e capacidade de expansão em população de milho pipoca sob seleção recorrente. *Rev. Ciênc. Agrotecnol.*, 35, pp. 225–233.
- Rahnama, S. et al. (2023). Seed priming with plant growth-promoting bacteria (PGPB) improves growth and water stress tolerance of *Secale montanum*. *Heliyon*, 9(4): pp. e14563.
- Rehman, A. et al. (2022). Sustainable agricultural practices for food security and ecosystem services. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(56): pp. 84076-84095.
- Reis, R. S. et al. (2021). Pretreatment free of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid improves the differentiation of sugarcane somatic embryos by affecting the hormonal balance and the accumulation of reserves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 145: pp. 101-115.
- Ren, W. et al. (2022). iTRAQ-based quantitative proteomic analysis provides insight into the drought-stress response in maize seedlings. *Sci. Rep.*, 12(1), pp. 9520.
- Ribeiro, M. P. et al. (2024). Uni-and Multivariate Analyses for the Characterization of Popcorn Inbred Lines for Drought Tolerance at Seedling and Vegetative Stages. *Agronomy*, 14(11), pp. 2513.
- Rodrigues Neto, J. (1986). Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *citri* tipo B. *Summa Phytopathologica*, 12: pp. 16.
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M., Hasanuzzaman, M. (2021). Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants*, 10(2), pp. 277.
- Saini, P., e Mishra, P. (2024). Biofilm Linked Microbial Prospecting of Bioremediation. In *Bioprospecting of Microbial Resources for Agriculture, Environment and Bio-chemical Industry* (pp. 87-108). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Sallam, A. A. et al. (2024). Enterobacter cloacae induces SA-dependent systemic acquired resistance of Zea mays against Fusarium oxysporum. *Journal of Plant Growth Regulation*, pp. 1-19.
- Saini, P., e Mishra, P. (2024). Biofilm Linked Microbial Prospecting of Bioremediation. In *Bioprospecting of Microbial Resources for Agriculture, Environment and Bio-chemical Industry* (pp. 87-108). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Santos, T. O. et al. (2021). Phenotyping Latin American open-pollinated

varieties of popcorn for environments with low water availability. *Plants*, 10(6): pp. 1211.

Sarker, A., Mitra, D., Das Mohapatra, P. K., Ansary, M. W. R., Islam, T. (2022). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biostimulants in Sustainable Crop Production. In *Biostimulants for Crop Production and Sustainable Agriculture* (pp. 455–483). GB: CABI.

Sawazaki, E. (1996). Parâmetros genéticos em milho-pipoca (*Zea mays* L.). Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, pp. 157.

Sawazaki, E. (2001). A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O Agrônomo*, 53, pp. 11-13.

Scaltsoyiannes, V. et al. (2022). Types and functions of mitoribosome-specific ribosomal proteins across eukaryotes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), pp. 3474.

Schmitt, K. F. M. et al. (2024). Decoding the effects of drought stress on popcorn (*Zea mays* var. *everta*) flowering combining proteomics and physiological analysis. *Plant Physiol Biochem*, 208: pp. 108444.

Şekerci, K. et al. (2024). Proteomic profiling of an extreme halophyte *Schrenkiella parvula* with accelerated root elongation under mild salt stress. *Plant Stress*, 11: pp. 100357.

Shah, M. H. et al. (2024). Beneficial microbes in soil and plant nutrition. In: *Plant Holobiome Engineering for Climate-Smart Agriculture*. Singapore: Springer Nature Singapore, pp. 163-181.

Shemer, H.; Wald, S.; Semiat, R. (2023). Challenges and solutions for global water scarcity. *Membranes*, 13(6), pp. 612.

Sherpa, M. T., et al. (2021). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from organically grown high yielding pole-type native pea (*Pisum sativum* L.) variety Dentami of Sikkim, India. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100068.

Shikha, D., Jakhar, P., Satbhai, S. B. (2023). Role of jasmonate signaling in the regulation of plant responses to nutrient deficiency. *J. Exp. Bot.*, 74(4), pp. 1221-1243.

Sicuia, A., Constantinescu, F., & Petruța, C. C. (2015). Biodiversity of *Bacillus subtilis* group and beneficial traits of *Bacillus* species useful in plant protection. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5), 10737-10750.

Silva, E. (2025). Produção de milho-pipoca estoura no Brasil. *Globo Rural*, 22 nov. 2023. Disponível em: <https://globorural.globo.com/agricultura/milho/noticia/2023/11/producao-de-milho-pipoca-estoura-no-brasil.ghtml>. Acesso em: 11 fev..

Şimşek, Ö. et al. (2024). Advanced biotechnological interventions in mitigating drought stress in plants. *Plants*, 13(5), pp. 717.

Singh, S., Pandey, S. S., Chanotiya, C. S., Barnawal, D., Vajpayee, P., Kalra, A. (2025). The synergy of ACC deaminase producing plant growth-promoting microbes provide drought tolerance in *Ocimum basilicum* L. cv. "Saumya". *Scientia Horticulturae*, 339, pp. 113810.

Shoresh, M.; Harman, G. E. (2008). The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. *Plant Physiology*, 147(4), pp. 2147-2163.

Singh, P. et al. (2022). Mechanistic insights and potential use of siderophores producing microbes in rhizosphere for mitigation of stress in plants grown in degraded land. *Frontiers in Microbiology*, 13: pp. 898979.

Sobieszczuk-Nowicka, E. et al. (2022). Plant homocysteine, a methionine precursor and plant's hallmark of metabolic disorders. *Front. Plant Sci.*, 13: pp. 1044944.

Souza, T. C., et al. (2016). Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress. *Pesquisa Agropecuária*, 51(4), pp. 330-339.

Sowmiya, K., et al. (2024). Biofilm-Forming Capability of *Bacillus* and Its Related Genera. In *Applications of Bacillus and Bacillus Derived Genera in Agriculture, Biotechnology and Beyond* (pp. 71-89).

Sweley, J. C. et al. (2013). Quality traits and popping performance considerations for popcorn (*Zea mays* Everta). *Food Reviews International*, 29(2), pp. 157-177.

Taiz, L., & Zeiger, E. (1991). *Plant Physiology*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company.

Tavirani, M. R. et al. (2021). 50S Ribosomal proteins family is the main target of cinnamon extract: a network analysis. *Res. J. Pharmacognosy*, 8(2): pp. 63-68.

Tenaillon, M. I. et al. (2004). Selection versus demography: a multilocus investigation of the domestication process in maize. *Mol. Biol. Evol*, 21(7), pp. 1214-1225.

Ter-Ovanessian, L. M. P. et al. (2021). Carbamoyl phosphate and its substitutes for the uracil synthesis in origins of life scenarios. *Scientific Reports*, 11(1): pp. 19356.

Timofeeva, A. M.; Galyamova, M. R.; Sedykh, S. E. (2024). How do plant growth-promoting bacteria use plant hormones to regulate stress reactions?. *Plants*, 13(17): pp. 2371.

Tiwari, D.; Rani, A.; Jha, H. C. (2022). Homocysteine and Folic Acid Metabolism. In: *Homocysteine Metabolism in Health and Disease*. Singapore: *Springer Nature Singapore*, pp. 3-36.

Tripathi, D. K. et al. (2024). Redox regulation by priming agents toward a sustainable agriculture. *Plant and Cell Physiology*, 65(7): pp. 1087-1102.

Tripathy, M. K.; Deswal, R.; Sopory, S. K. (2021). Plant RABs: role in development and in abiotic and biotic stress responses. *Current Genomics*, 22(1): pp. 26-40.

Tuipulotu, D. E., et al. (2021). *Bacillus cereus*: epidemiology, virulence factors, and host–pathogen interactions. *Trends in Microbiology*, 29(5), 458-471.

Uday, G. et al. (2024). Advances in plant proteomics toward improvement of crop productivity and stress resistance. In: *Plant Proteomics: Implications in Growth, Quality Improvement, and Stress Resilience*, pp. 11-29.

Velmourougane, K., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2017). Agriculturally important microbial biofilms: present status and future prospects. *Journal of Basic Microbiology*, 57(7), 548-573.

Vishnupadeep, R., et al. (2022). Plant growth promoting bacteria improve growth and phytostabilization potential of *Zea mays* under chromium and drought stress by altering photosynthetic and antioxidant responses. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 102154.

Xu, B.; Liu, L.; Song, G. (2022). Functions and regulation of translation elongation factors. *Front. Mol. Biosci.*, 8: pp. 816398.

Wahab, A. et al. (2022). Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13): pp. 1620.

Wallace, N., et al. (2016). The impact of oxygen on bacterial enteric pathogens. *Advances in Applied Microbiology*, 95, 179-204.

Wang, L. et al. (2023). Two environmental signal-driven RNA metabolic processes: Alternative splicing and translation. *Plant, Cell & Environment*, 46(3), pp. 718-732.

Wang, Q. et al. (2021). Enhanced production of L-arginine by improving carbamoyl phosphate supply in metabolically engineered *Corynebacterium crenatum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105: pp. 3265-3276.

Wang, T. et al. (2021). C9orf72 regulates energy homeostasis by stabilizing mitochondrial complex I assembly. *Cell Metabolism*, 33(3): pp. 531-546. e9.

Wang, Y. et al. (2022). Plant growth-promoting bacteria in metal-contaminated soil: Current perspectives on remediation mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 13: pp. 966226.

Weaver, K. e Skouta, R. (2022). The selenoprotein glutathione peroxidase 4: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities. *Biomedicines*,

10(4): pp. 891.

Wei, L. et al. (2023). A proteomics insight into advancements in the rice–microbe interaction. *Plants*, 12(5): pp. 1079.

Wei, X., Xie, B., Wan, C., Song, R., Zhong, W., Xin, S., Song, K. (2024). Enhancing soil health and plant growth through microbial fertilizers: Mechanisms, benefits, and sustainable agricultural practices. *Agronomy*, 14(3), pp. 609.

Wijman, J. G. E., et al. (2007). Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(5), 1481-1488.

Wiśniewski, JR.; Zougman, A.; Nagaraj, N.; Mann, M. (2009). Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat Methods*, 6: pp. 359

Wu, J. et al. (2022). Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review. *Forests*, 13(2): pp. 324.

Wu, J. et al. (2022). Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review. *Forests*, 13(2): pp. 324.

Yadav, R.; Chakraborty, S.; Ramakrishna, W. (2022). Wheat grain proteomic and protein–metabolite interactions analyses provide insights into plant growth promoting bacteria–arbuscular mycorrhizal fungi–wheat interactions. *Plant Cell Reports*, 41(6): pp. 1417-1437.

Yanagi, M. (2024). Climate change impacts on wheat production: Reviewing challenges and adaptation strategies. *Advances in Resources Research*, 4(1), 89-107.

Yang, X. et al. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3): pp. 50.

Yang, Z. et al. (2023). Genetic and molecular exploration of maize environmental stress resilience: Toward sustainable agriculture. *Molecular Plant*, 16(10): pp. 1496-1517.

Yao, S. et al. (2022). Mechanistic insights into multiple-step transport of mitochondrial ADP/ATP carrier. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20: pp. 1829-1840.

Yi, Y. et al. (2023). Antimicrobial mechanism and biocontrol effect of *Bacillus cereus* XZ30-2 on *Aspergillus niger*. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 15(4), 77-88.

Yokochi, Y. et al. (2021). Oxidative regulation of chloroplast enzymes by thioredoxin and thioredoxin-like proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(51): p. e2114952118.

Yousaf, M. I. et al. (2023). Responses of maize hybrids to water stress conditions at

different developmental stages: accumulation of reactive oxygen species, activity of enzymatic antioxidants and degradation in kernel quality traits. *PeerJ*, 11, pp. e14983.

Youssfi, C. E. et al. (2024). Overview of insights into the role of *Bacillus* species in drought stress alleviation and plant disease management. In: *E3S Web of Conferences*. EDP Sciences, pp. 03010.

Zahra, N. et al. (2023). Plant photosynthetic responses under drought stress: Effects and management. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 209(5): pp. 651-672.

Zeigler, D. R., & Perkins, J. B. (2021). The genus *Bacillus*. In *Practical Handbook of Microbiology* (pp. 249-278). CRC Press.

Zhang, H. et al. (2024). Glutathione peroxidase LtGPX3 contributes to oxidative stress tolerance, virulence, and plant defense suppression in the peach gummosis fungus *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytopathology Research*, 6(1), pp. 6.

Zhang, S. et al. (2023). Structural insights into photosynthetic cyclic electron transport. *Molecular Plant*, 16(1): pp. 187-205.

Zhao, Y. et al. (2022). Physiological, proteomic, and metabolomic analysis provide insights into *Bacillus* sp.-mediated salt tolerance in wheat. *Plant Cell Reports*, pp. 1-24.

Zhou, K. et al. (2021). Albino seedling lethality 4; Chloroplast 30S ribosomal protein S1 is required for chloroplast ribosome biogenesis and early chloroplast development in rice. *Rice*, 14(1): pp. 47.

Zhou, Y. et al. (2019). Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. *Nature communications*, 10(1): pp. 1523.

Zia, R. et al. (2021). Plant survival under drought stress: Implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation. *Microbiol. Res*, 242, pp. 126626.

Ziegler, K. E. (2001). Popcorn. In: Hallauer, A. R. (Ed.). *Specialty Corns* (2nd ed.). Florida: CRC Press, Boca Raton, pp. 19.

Zinsly, J. R. e Machado, J. A. (1987). Milho pipoca. In: Paterniani, E., Viegas, G. P. (Ed.). *Melhoramento e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, pp. 713–717.

Tabela Suplementar 1. Descrição de 70 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 em ambiente com e sem déficit hídrico (WSI e WWI).

WSI/WWI				
Acesso	Descrição	Fold change (log2)	p-valor	DAPs
A0A804M1R0	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine S-methyltransferase	0,85	0,001	UP
A0A804LS47	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine S-methyltransferase	1,15	0,000	UP
C4J410	Heat shock 70 kDa protein	0,91	0,035	UP
P49076	ADP-ribosylation factor	0,64	0,023	UP
Q6XZ79	Fructokinase-1	1,03	0,010	UP
A0A804NE51	Malic enzyme	1,07	0,008	UP
B6TVG1	Malic enzyme	0,92	0,041	UP
A0A804MNL0	aldehyde dehydrogenase (NAD (+))	1,49	0,041	UP
B6SJ21	Guanine nucleotide-binding protein beta subunit-like protein	0,67	0,035	UP
C3UZ63	HSP protein	1,66	0,021	UP
B4FKM1	Guanine nucleotide-binding protein beta subunit-like protein	0,67	0,016	UP
A0A804QAJ3	HATPase_c domain-containing protein	1,63	0,002	UP
P04709	ADP, ATP carrier protein 1, mitochondrial	0,67	0,013	UP
B4FTK0	Early nodulin-like protein 9	2,61	0,026	UP
B4FC26	Ypt homolog4	1,06	0,029	UP
B4FAE1	Ras-related protein RABD2c	0,79	0,036	UP
A0A804PEW7	Eukaryotic initiation factor 4A-11	0,86	0,015	UP
A0A804R918	Pept_C1 domain-containing protein	0,71	0,019	UP
Q84RL7	Aquaporin PIP2-1	1,04	0,014	UP
A0A804PX04	Eukaryotic initiation factor 4A-11	0,85	0,028	UP
C0P4Q3	Heat shock protein 90 kDa	2,88	0,004	UP
C4J3Y5	Glutamate decarboxylase	1,79	0,007	UP
B4FWU6	Glutathione reductase	1,07	0,008	UP
A0A804LY71	Alpha-galactosidase	0,61	0,01	UP
C0PH85	Tubulin beta chain	1,17	0,03	UP
A0A1D6I596	Copper transport protein	1,23	0,03	UP

Continua...

A0A804PM63	Plasma membrane intrinsic protein 1	1,59	0,00	UP	Continuação.
A0A1D6EGA9	Aconitate hydratase	1,10	0,01	UP	
P29185	Chaperonin CPN60-1, mitochondrial	0,80	0,02	UP	
A0A804NSQ8	glycerophosphodiester phosphodiesterase	0,80	0,05	UP	
A0A1D6NV83	Proteasome subunit beta	0,65	0,01	UP	
B6TEK2	GroES-like zinc-binding alcohol dehydrogenase family protein	0,85	0,02	UP	
A0A804Q5C3	Aldedh domain-containing protein	0,92	0,02	UP	
A0A804UIN4	sucrose synthase	1,57	0,00	UP	
A0A804M913	Plasma membrane ATPase	0,75	0,04	UP	
B4FNI0	Peroxidase	0,93	0,04	UP	
A0A1D6MAI5	Putative mitochondrial-processing peptidase subunit alpha-2 chloroplastic/mitochondrial	0,74	0,04	UP	
B4FSA7	ADP/ATP translocase	1,27	0,01	UP	
Q9SPD7	Outer mitochondrial membrane protein porin	0,66	0,04	UP	
K7V2Z8	carbamoyl-phosphate synthase (glutamine-hydrolyzing)	0,62	0,03	UP	
C0P618	Phosphoenolpyruvate carboxylase family protein	0,73	0,01	UP	
A0A804R0N5	Elongation factor 1-gamma 2	-	-	UNIQUE WSI	
Q41048	Oxygen-evolving enhancer protein 3-1, chloroplastic	-0,70	0,05	UP	
A0A804NHQ4	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	-1,41	0,01	UP	
B4FSD8	plastoquinol--plastocyanin reductase	-1,54	0,03	UP	
O65107	Photosystem I reaction center subunit N, chloroplastic (Fragment)	-0,80	0,04	UP	
A0A804MS63	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	-0,77	0,02	UP	
B4FCL1	Plastocyanin	-0,99	0,04	UP	
B6SSB9	Plastocyanin	-1,51	0,02	UP	
B4FLP0	Glycerate dehydrogenase HPR, peroxisomal	-0,69	0,02	UP	
A0A1D6FA18	alanine transaminase	-0,99	0,01	UP	
B4FZL4	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	-1,44	0,00	UP	
A0A1D6LZM7	Subtilisin-like serine endopeptidase family protein	-1,43	0,05	UP	
B6T171	alanine--glyoxylate transaminase	-1,00	0,02	UP	
K7V8K5	Peroxidase	-1,03	0,03	UP	
A0A804R8A0	AAA domain-containing protein	-0,76	0,01	UP	

Continua...

					Continuação.
P00835	ATP synthase epsilon chain, chloroplastic	-0,95	0,03		UP
Q41864	Thioredoxin M-type, chloroplastic	-0,63	0,01		UP
B6UIC1	50S ribosomal protein L12-1	-0,93	0,05		UP
A0A804QU08	Uncharacterized protein	-0,91	0,00		UP
A0A804U8G0	Photosynthetic NDH subunit of lumenal location 2, chloroplastic	-0,91	0,02		UP
B4FK49	Nucleoside diphosphate kinase 1	-1,31	0,01		UP
A0A096RYW9	alanine transaminase	-0,68	0,03		UP
A0A1D6EEW2	Natterin-4	-0,88	0,05		UP
B6UAK0	Probable 6-phosphogluconolactonase	-0,65	0,03		UP
P17847	Ferredoxin--nitrite reductase, chloroplastic (Fragment)	-1,42	0,04		UP
K7V9L0	Putative peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family protein	-1,04	0,02		UP
A0A804LR56	Serine hydroxymethyltransferase	-0,84	0,03		UP
A0A1D6GVM3	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	-0,61	0,02		UP
A0A804LS44	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine S-methyltransferase	-	-		UNIQUE WWI

Tabela Suplementar 2. Descrição de 20 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo não-inoculado com bactéria em ambiente com e sem déficit hídrico (WSC e WWC).

WSC/WWC					
Acesso	Descrição	Fold change (log2)	p-valor	DAPs	
C4J410	Heat shock 70 kDa protein	1,94	0,002	UP	
Q6XZ79	Fructokinase-1	1,08	0,026	UP	
A0A804NE51	Malic enzyme	1,65	0,004	UP	
B6TVG1	Malic enzyme	0,93	0,023	UP	
C3UZ63	HSP protein	1,76	0,048	UP	
B4FKM1	Guanine nucleotide-binding protein beta subunit-like protein	0,66	0,016	UP	
B4FTK0	Early nodulin-like protein 9	2,96	0,032	UP	
C4J3Y5	Glutamate decarboxylase	2,22	0,005	UP	
B4FWU6	Glutathione reductase	1,22	0,025	UP	
A0A1D6EGA9	Aconitate hydratase	1,35	0,019	UP	

Continua...

					Continuação.
P29185	Chaperonin CPN60-1, mitochondrial	1,33	0,037	UP	
A0A1D6NV83	Proteasome subunit beta	0,72	0,045	UP	
A0A804UIN4	sucrose synthase	1,84	0,023	UP	
A0A1D6MAI5	Putative mitochondrial-processing peptidase subunit alpha-2 chloroplastic/mitochondrial	0,74	0,013	UP	
Q41048	Oxygen-evolving enhancer protein 3-1, chloroplastic	-1,86	0,044	DOWN	
A0A804NHQ4	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	-1,07	0,017	DOWN	
A0A804MS63	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic	-1,51	0,001	DOWN	
B6T171	alanine--glyoxylate transaminase	-1,60	0,024	DOWN	
K7V8K5	Peroxidase	-1,50	0,049	DOWN	
K7V9L0	Putative peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family protein	-0,61	0,024	DOWN	

Tabela Suplementar 3. Análise descritiva de enriquecimento de Ontologia Gênica (GO) em diferentes categorias funcionais de 70 proteínas diferencialmente expressas (DEPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo inoculado com *Bacillus cereus* UENF-LMS 71 em ambiente com e sem déficit hídrico (WSI e WWI).

GO.ID	Termo	WSI/WWI		Esperado	Aspecto	p-valor	q-valor
		Quant.	N. de entradas				
GO:0015979	photosynthesis	216	4	0,33	Biological Process	0,00031	6,68E+02
GO:0010476	gibberellin mediated signaling pathway	24	2	0,04	Biological Process	0,00062	6,68E+02
GO:0071370	cellular response to gibberellin stimulus	25	2	0,04	Biological Process	0,00067	6,68E+02
GO:0009749	response to glucose	27	2	0,04	Biological Process	0,00078	6,68E+02
GO:0009746	response to hexose	31	2	0,05	Biological Process	0,00103	6,68E+02
GO:0009967	positive regulation of signal transduction	31	2	0,05	Biological Process	0,00103	6,68E+02
GO:0023056	positive regulation of signaling	31	2	0,05	Biological Process	0,00103	6,68E+02
GO:0034284	response to monosaccharide	33	2	0,05	Biological Process	0,00117	6,68E+02
GO:0010647	positive regulation of cell communication	35	2	0,05	Biological Process	0,00132	6,68E+02
GO:0046686	response to cadmium ion	191	3	0,29	Biological Process	0,00305	1,00E+03
GO:0009739	response to gibberellin	65	2	0,1	Biological Process	0,00447	1,00E+03
GO:0006457	protein folding	225	3	0,35	Biological Process	0,00483	1,00E+03
GO:0006417	regulation of translation	75	2	0,12	Biological Process	0,00591	1,00E+03
GO:0034248	regulation of cellular amide metabolic process	75	2	0,12	Biological Process	0,00591	1,00E+03

Continua...

GO:0009743	response to carbohydrate	78	2	0,12	Biological Process	0,00638	1,00E+03	Continuação,
GO:0071215	cellular response to abscisic acid stimulus	78	2	0,12	Biological Process	0,00638	1,00E+03	
GO:0010038	response to metal ion	254	3	0,39	Biological Process	6,76E-03	1,00E+03	
GO:0009845	seed germination	91	2	0,14	Biological Process	8,60E-03	1,00E+03	
GO:0097306	cellular response to alcohol	98	2	0,15	Biological Process	9,91E-03	1,00E+03	
GO:0009507	chloroplast	1592	13	2,6	Cellular Component	2,10E-07	1,29E-01	
GO:0009536	plastid	1669	13	2,73	Cellular Component	3,70E-07	1,29E-01	
GO:0005737	cytoplasm	5580	20	9,12	Cellular Component	6,80E-06	1,39E+00	
GO:0044444	cytoplasmic part	5088	19	8,31	Cellular Component	1,00E-05	1,39E+00	
GO:0044434	chloroplast part	955	9	1,56	Cellular Component	1,10E-05	1,39E+00	
GO:0044435	plastid part	972	9	1,59	Cellular Component	1,20E-05	1,39E+00	
GO:0042651	thylakoid membrane	339	6	0,55	Cellular Component	1,40E-05	1,39E+00	
GO:0034357	photosynthetic membrane	360	6	0,59	Cellular Component	1,90E-05	1,65E+00	
GO:0044436	thylakoid part	374	6	0,61	Cellular Component	2,40E-05	1,85E+00	
GO:0009543	chloroplast thylakoid lumen	38	3	0,06	Cellular Component	3,10E-05	1,96E+00	
GO:0031978	plastid thylakoid lumen	38	3	0,06	Cellular Component	3,10E-05	1,96E+00	
GO:0031977	thylakoid lumen	50	3	0,08	Cellular Component	7,10E-05	4,11E+00	
GO:0009579	thylakoid	468	6	0,76	Cellular Component	8,40E-05	4,49E+00	
GO:0009535	chloroplast thylakoid membrane	296	5	0,48	Cellular Component	1,00E-04	4,63E+00	
GO:0055035	plastid thylakoid membrane	298	5	0,49	Cellular Component	1,00E-04	4,63E+00	
GO:0009570	chloroplast stroma	518	6	0,85	Cellular Component	1,50E-04	6,52E+00	
GO:0009532	plastid stroma	533	6	0,87	Cellular Component	1,70E-04	6,95E+00	
GO:0031984	organelle subcompartment	542	6	0,89	Cellular Component	0,00019	6,95E+00	
GO:0044446	intracellular organelle part	2917	13	4,77	Cellular Component	2,00E-04	6,95E+00	
GO:0044422	organelle part	2920	13	4,77	Cellular Component	2,00E-04	6,95E+00	
GO:0005622	intracellular	8394	22	13,71	Cellular Component	0,00025	8,16E+00	
GO:0009534	chloroplast thylakoid	367	5	0,6	Cellular Component	2,70E-04	8,16E+00	
GO:0031976	plastid thylakoid	367	5	0,6	Cellular Component	0,00027	8,16E+00	
GO:0048046	apoplast	201	4	0,33	Cellular Component	0,00029	8,34E+00	Continua...

Continuação.

GO:0009523	photosystem II	81	3	0,13	Cellular Component	3,00E-04	8.34E+00
GO:0044424	intracellular part	8058	21	13,17	Cellular Component	0,00073	1,91E+01
GO:0009521	photosystem	110	3	0,18	Cellular Component	0,00074	1,91E+01
GO:0009654	photosystem II oxygen evolving complex	33	2	0,05	Cellular Component	0,00131	3,25E+01
GO:0044464	cell part	9180	22	15	Cellular Component	0,00144	3,45E+01
GO:0005623	cell	9301	22	15,2	Cellular Component	0,00184	4,26E+01
GO:0005576	extracellular region	572	5	0,93	Cellular Component	0,00202	4,53E+01
GO:0019898	extrinsic component of membrane	50	2	0,08	Cellular Component	0,00299	6,49E+01
GO:0031966	mitochondrial membrane	197	3	0,32	Cellular Component	0,00391	7,99E+01
GO:0005740	mitochondrial envelope	212	3	0,35	Cellular Component	0,0048	9,44E+01
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	6349	17	10,37	Cellular Component	0,0058	1,07E+02
GO:0043227	membrane-bounded organelle	6351	17	10,38	Cellular Component	0,00583	1,07E+02
GO:0043229	intracellular organelle	7014	18	11,46	Cellular Component	6,20E-03	1,09E+02
GO:0043226	organelle	7018	18	11,47	Cellular Component	6,25E-03	1,09E+02
GO:0044429	mitochondrial part	252	3	0,41	Cellular Component	7,74E-03	1,31E+02
GO:0005078	MAP-kinase scaffold activity	2	2	0	Molecular Function	1,80E-06	2,11E+00
GO:0035591	signaling adaptor activity	2	2	0	Molecular Function	1,80E-06	2,11E+00
GO:0032947	protein complex scaffold	3	2	0	Molecular Function	5,50E-06	4,29E+00
GO:0060090	binding, bridging	6	2	0,01	Molecular Function	2,80E-05	1,64E+01
GO:0019900	kinase binding	38	2	0,05	Molecular Function	0,0013	4,68E+02
GO:0009055	electron carrier activity	236	3	0,33	Molecular Function	0,0041	6,86E+02
GO:0015036	disulfide oxidoreductase activity	93	2	0,13	Molecular Function	0,0073	8,66E+02
GO:0043167	ion binding	6736	16	9,32	Molecular Function	0,0074	8,66E+02
GO:0019899	enzyme binding	95	2	0,13	Molecular Function	0,0076	8,66E+02
GO:0005525	GTP binding	302	3	0,42	Molecular Function	0,0082	8,66E+02
GO:0019001	guanyl nucleotide binding	302	3	0,42	Molecular Function	0,0082	8,66E+02
GO:0032561	guanyl ribonucleotide binding	302	3	0,42	Molecular Function	0,0082	8,66E+02
GO:0005198	structural molecule activity	592	4	0,82	Molecular Function	0,0085	8,66E+02

Quant. Quantidade.

Tabela Suplementar 4. Análise descritiva de enriquecimento de Ontologia Gênica (GO) em diferentes categorias funcionais de 20 proteínas diferencialmente expressas (DAPs) na comparação de amostras de milho-pipoca oriundas de cultivo não-inoculado com bactéria em ambiente com e sem déficit hídrico (WSC e WWC).

WSC/WWC							
GO.ID	Termo	Quant.	N. de entradas	Esperado	Aspecto	p-valor	q-valor
GO:0044237	cellular metabolic process	8634	9	5	Biological Process	0,005	1,00E+00
GO:0015979	photosynthesis	216	2	0,13	Biological Process	0,0065	1,00E+00
GO:0006457	protein folding	225	2	0,13	Biological Process	0,007	1,00E+00
GO:0048046	apoplast	201	4	0,14	Cellular Component	6,70E-06	4,66E+00
PGO:0005576	extracellular region	572	5	0,39	Cellular Component	1,90E-05	6,60E+00
GO:0009654	photosystem II oxygen evolving complex	33	2	0,02	Cellular Component	0,00022	2,32E+01
GO:0009507	chloroplast	1592	6	1,08	Cellular Component	0,00023	2,32E+01
GO:0009570	chloroplast stroma	518	4	0,35	Cellular Component	0,00027	2,32E+01
GO:0009543	chloroplast thylakoid lumen	38	2	0,03	Cellular Component	0,00029	2,32E+01
GO:0031978	plastid thylakoid lumen	38	2	0,03	Cellular Component	0,00029	2,32E+01
GO:0009536	plastid	1669	6	1,14	Cellular Component	3,00E-04	2,32E+01
GO:0009532	plastid stroma	533	4	0,36	Cellular Component	3,00E-04	2,32E+01
GO:0019898	extrinsic component of membrane	50	2	0,03	Cellular Component	5,00E-04	3,16E+01
GO:0031977	thylakoid lumen	50	2	0,03	Cellular Component	5,00E-04	3,16E+01
GO:0009523	photosystem II	81	2	0,06	Cellular Component	0,00131	7,59E+01
GO:0009521	photosystem	110	2	0,07	Cellular Component	0,0024	1,27E+02
GO:0044434	chloroplast part	955	4	0,65	Cellular Component	0,00272	1,27E+02
GO:0044435	plastid part	972	4	0,66	Cellular Component	0,0029	1,27E+02
GO:1990204	oxidoreductase complex	124	2	0,08	Cellular Component	0,00304	1,27E+02
GO:0005777	peroxisome	129	2	0,09	Cellular Component	0,00329	1,27E+02
GO:0042579	microbody	129	2	0,09	Cellular Component	0,00329	1,27E+02
GO:0044444	cytoplasmic part	5088	8	3,46	Cellular Component	0,00447	1,64E+02
GO:0005737	cytoplasm	5580	8	3,8	Cellular Component	0,00857	2,98E+02
GO:0016209	antioxidant activity	234	2	0,14	Molecular Function	0,00873	1,00E+03

Quant. Quantidade