

Cambio climático y maíz: cambios en las respuestas fisiológicas al estrés hídrico de *Zea mays* en presencia de bacterias promotoras de crecimiento (PGPB).

Camilo Racedo Pulido

Ciencias Biológicas

Biología

Directora: **Eloisa Lasso De Paulis**

Codirectora: **Adriana Jimena Bernal**

Universidad de los Andes

Departamento de Ciencias Biológicas

Bogotá D.C, Colombia

Agosto 2023

Resumen:

El cambio climático es uno de los retos actuales más importantes debido a los potenciales efectos adversos en la disponibilidad de agua y el crecimiento de cultivos y, por ende, en nuestra seguridad alimentaria. El cultivo de maíz es el tercer cultivo más importante a nivel global y se ve gravemente afectado por períodos de sequía que reducen su productividad. Para asegurar nuestro futuro alimenticio debemos explorar estrategias de cultivo que aseguren mantener la productividad aún en escenarios de sequía. En este trabajo evaluamos la capacidad de la variedad del maíz 'porva' de crecer bajo sequía al ser inoculado con una bacteria promotora de crecimiento vegetal (PGPB), de forma que se pueda determinar su comportamiento ante el estrés hídrico y si la presencia de esta bacteria logra aliviar el estrés hídrico. Se tomaron medidas fisiológicas como fluorescencia (F_v/F_m), conductancia estomática (g_s) y potencial hídrico (Ψ), así como mediciones de área foliar y peso seco tanto de la parte aérea como de raíz. En respuesta al tratamiento de sequía las plantas disminuyeron la eficiencia del fotosistema PSII detectado por medio de fluorescencia, disminuyeron su conductancia estomática y tuvieron valores más negativos de potencial hídrico. Sin embargo, no se detectó ningún efecto asociado a la PGPB indicando que la bacteria no alivió el estrés hídrico. Se observó que las medidas de área foliar y peso seco no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos, indicando que 21 días de sequía no afectan el crecimiento de esta variedad de maíz. Nuestros resultados sugieren que la variedad de maíz 'porva' sería una buena variedad para ser utilizado en climas áridos o en condiciones de cambio climático. Sin embargo, es necesario realizar más ensayos para poder comprobar la efectividad de esta variedad hasta la producción del grano.

Abstract:

Climate change is one of the most important challenges of our day and age, as this problem threatens water availability and crop production, which in turn affects our food safety. Maize is the third most important crop worldwide and its productivity is seriously affected by drought periods. To ensure our food safety, it is essential to explore different cultivation strategies which maintain crop production even during dry seasons. In this work we evaluated the capability of 'porva' maize variety to grow under drought conditions when inoculated with a plant growth promoting bacteria (PGPB). We determined its behavior towards hydric stress and evaluated if the bacteria could alleviate this stress. Physiological measurements were taken of fluorescence (F_v/F_m), stomatal conductance (g_s) and hydric potential (Ψ); additionally, measurements of leaf area and dry weight of both above and below ground biomass were taken. In response to the drought treatment, the efficiency of the photosystem PSII decreased, which was detected by fluorescence, stomatal conductance also decreased and they also presented more negative values of hydric potential. However, no effect by the PGPB was detected, indicating that the bacteria did not relieve hydric stress. Nevertheless, measurements for leaf area and dry weight were not significantly different between treatments, indicating that after 21 days of drought did not affect the growth of this maize variety. Our result suggests that 'porva' maize variety is a good alternative to be planted in arid climates or in climate change conditions. However, it is imperative to conduct more trials to verify the effectiveness of this variety until grain production.

Palabras claves: Irrigación, maíz, PGPB, 'porva', sequía

Introducción

Una de las problemáticas más importantes en la actualidad es el cambio climático, resultado de la acumulación de gases efecto invernadero producto de la industrialización, deforestación y la agricultura extensiva que se han ido acumulando a través de los años (EPA, 2023). Esta acumulación de gases en nuestra atmósfera ha causado que lentamente se aumente la temperatura mundial, lo que se ha relacionado directamente con afectaciones climáticas globales como: olas de calor, aumento en el nivel del mar, sequías, ciclones y precipitaciones anormales. Según el reporte de la IPCC (2023) algunos de los impactos que genera el cambio climático son: disminución en la disponibilidad de agua, disminución en la producción agrícola, afectaciones en la salud humana, inundaciones, daños a ecosistemas terrestres y acuáticos, incremento en enfermedades infecciosas, entre otras. Adicionalmente, se espera que incrementen los eventos de sequía, lluvias pesadas, acidificación del océano y de temperaturas máximas, generando impactos negativos globalmente. Una de las afectaciones más importantes del cambio climático es la vulneración de la seguridad alimentaria global, pues se espera una disminución en la producción agrícola como efecto del cambio climático (Wheeler & Von Braun, 2013).

Uno de los cultivos que se verá más afectado por el cambio climático es el maíz (*Zea mays*), puesto que cambios en la estacionalidad, aumento de temperatura e incremento en la concentración de CO₂ atmosférico afectan su productividad (Raza et al., 2019). El maíz es altamente susceptible a cambios en la temperatura y se ha visto que a temperaturas más altas disminuye la productividad del cultivo (Ahmed et al., 2019). Además, la sequía limita su crecimiento afectando tanto el ciclo de cosecha como la calidad del producto final (Kang et al., 2009). El aumento en temperatura tiene efectos negativos en el desarrollo reproductivo del maíz, al afectar la división celular y la viabilidad del polen (Hatfield et al. 2011). El aumento en temperatura genera un retraso en el periodo de floración, afectando el tiempo entre la apertura de las flores y la floración, lo que causa una disminución en su producción (Maazou et al., 2016). Se ha documentado que un incremento en la temperatura de 1°C reduce la producción del maíz en un 1.7% (Wu et al., 2021). Además, el aumento de temperatura y cambios en los patrones de precipitación causados por el cambio climático se proyecta que causarán efectos negativos en la producción del maíz, tanto por desabastecimiento de agua, disminución en el rendimiento e incremento en la presencia de patógenos para esta especie (Edreira et al., 2011; Evenson & Gollin, 2003).

El cultivo de maíz es uno de los más importantes económicamente a nivel mundial, junto con el arroz y el trigo puesto que es un integrante primordial en nuestra dieta, además de que es usado como alimento para el ganado (Shiferaw et al., 2011). Adicionalmente, este cultivo es una de las principales fuentes de biocombustible en el mundo (Skoufogianni et al., 2020), siendo una importante alternativa para el uso de combustibles fósiles. En Colombia el maíz es el cultivo más importante después del arroz y el café representando aproximadamente un 9 % de la dieta de los colombianos (CIMMYT & CIAT, 2019). Además, se usa como alimento para ganado y aves de corral. Sin embargo, la producción de maíz en Colombia es baja a comparación de otros países por lo que la mayoría del maíz que se utiliza en el país es importado. En el año 2022 se gastaron 831 millones de dólares en importaciones solamente de maíz amarillo (De Redactores Legis, 2022). Por otro lado, la mayor parte de lo que se produce en el país, alrededor de 54 ton/ha, es por medios

tecnificados utilizando semillas mejoradas, fertilizantes, y pesticidas. Solo unas 5 ton/ha se producen por medios tradicionales usando cultivares nativos y herramientas menos tecnificadas. En vista de los cambios mundiales en el clima y en el deterioro ambiental global, el país debe moverse hacia una producción más sostenible que adicionalmente contrarreste los efectos negativos que tendrá el cambio climático en la producción del maíz. Algunas de las modificaciones en las prácticas de cultivo que se han propuesto son cambiar las fechas de siembra, aumentar el uso de fertilizantes y la intensidad de irrigación, así como adoptar variedades resistentes al cambio climático (Yasin et al., 2022). Algunas de estas alternativas aumentan el deterioro ambiental o requieren fuentes de agua cada vez más escasas, por lo que se debe buscar una alternativa sostenible para incrementar la producción de alimento bajo escenarios de cambio climático. Un ejemplo de esto es el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPB que se encuentran asociadas a la rizosfera de las plantas y facilitan la accesibilidad de nutrientes, controlan posibles patógenos y favorecen el crecimiento vegetal (Babalola, 2010; Glick, 2012).

Las PGPB favorecen el crecimiento vegetal porque funcionan como: biofertilizantes, fitoestimulantes, y biopesticidas (Prasad et al., 2019). El potencial como biofertilizantes se basa en la habilidad que tienen las bacterias de facilitar el acceso a nutrientes para las plantas por medio de mecanismos como: fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, solubilización de potasio o quelación de hierro mejorando su crecimiento (Dasgupta et al., 2021). Por otro lado, funcionan como fitoestimulantes al producir compuestos que afectan el desarrollo o el metabolismo como son: ácido indol 3 acético (IAA), giberelinas, citoquininas o ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (ACCD), los cuales pueden modificar la elongación y división de células vegetales, afectar la germinación de semillas o inhibir los efectos negativos de la acumulación de etileno (Calvo et al., 2014). La actividad como biopesticida se relaciona con la capacidad que tienen estas bacterias de disminuir el ataque por agentes patógenos en las plantas, ya sea produciendo sideróforos, cianuro de hidrógeno, antibióticos, antifúngicos, enzimas líticas o mediante inducción de resistencia sistémica en la planta, causando que esta tenga un mejor desempeño al enfrentarse a posibles patógenos (Riaz et al., 2021).

El uso de PGPB para mejorar la producción de maíz no es totalmente novedoso. Específicamente en maíz se ha visto el efecto positivo de la inoculación de PGPB para aumentar la producción de un cultivo (Breedt et al., 2017), favoreciendo el crecimiento y protegiendo el cultivo de patógenos (Bevivino, 1998). También se ha mostrado que las PGPB mejoran el crecimiento del maíz bajo estrés hídrico (De Araujo et al., 2020) al modificar la morfología de la raíz, aumentar la producción de fitohormonas, exopolisacáridos (EPS), antioxidantes o ACCD, que alivian el estrés (Notununu et al., 2022). El aumento en la producción de fitohormonas, en especial la IAA se ha relacionado con un incremento en la división y elongación de células vegetales, modificando la arquitectura de las raíces resultando en un mejor desempeño en escenarios de estrés hídrico (Pereira et al., 2020). Por otro lado, la producción de ACCD alivia respuestas de estrés al inhibir la acumulación de etileno en la planta, al ser capaz de degradar el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico ACC, evitando que se reduzca tanto el tamaño de tallo como de raíz en las plantas (Gupta & Pandey, 2019). Finalmente, la producción de EPS puede favorecer la retención de agua en situaciones de sequía, ya que generan un microambiente alrededor de la raíz que protege de la desecación a la vez que facilita la adquisición de nutrientes por parte de la planta (Naseem et al., 2018).

Dada la importancia económica y alimenticia del maíz y la necesidad de buscar alternativas sostenibles para su producción en los escenarios de cambio climático que se avecinan, este proyecto de tesis evalúa la capacidad de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) para promover el crecimiento y para aliviar el estrés hídrico en plantas de maíz en un experimento de invernadero.

Métodos

Germinación y siembra de semillas

Las semillas de la variedad #1 (Semillas del Campo SA), fueron utilizadas para este ensayo. Estas fueron esterilizadas utilizando la metodología propuesta por (Davoudpour et al., 2020) con algunas modificaciones. Para el proceso de esterilización se hizo un primer lavado por 2 minutos con ADE, luego por 5 minutos con etanol 70%, posteriormente se lavó con agua destilada estéril (ADE) para quitar el exceso de etanol de las semillas, luego se hizo un lavado con hipoclorito 2% por 20 minutos y finalmente se hicieron 4 lavados por 2 minutos con ADE. Una vez esterilizadas las semillas se germinaron en cajas de petri con algodón estéril con 15 ml de ADE.

Condiciones de crecimiento y tratamientos

Para determinar la cantidad de agua para usar durante el experimento se midió la capacidad de carga de la mezcla de tierra utilizada en las materas en las cuales se hizo el ensayo. Para esto se siguió la metodología de Dane & Topp (2020), para lo cual se llenó una matera con la mezcla del suelo, se regó con abundante agua hasta que esta cayera en chorros y se tapó con un plástico dejándola escurrir por 2 días. Posteriormente, se pesó la maceta con la tierra húmeda y luego se pesó el suelo secado en horno a 105°C por 24 horas. La diferencia de estos dos pesos resulta en la cantidad de agua que había en el suelo en su capacidad de carga para esta mezcla de tierra y el volumen utilizado. Para evitar anegamiento en las macetas debido a que el drenaje es lento el suelo se mantuvo al 50% de su capacidad de carga que corresponde a 300 ml de agua a la semana durante todo el experimento.

El experimento se realizó en el invernadero de la Universidad de los Andes en Bogotá, Colombia del 10 de marzo al 17 de mayo del 2022. En el invernadero la temperatura mínima promedio fue de 11.5°C y la máxima promedio de 35.5 °C. Las plántulas de maíz fueron sembradas en macetas TP49 de Mini-Treepot (<https://stuewe.com/product/4-x-9-5-short-one-mini-treepot/>) que tienen un volumen de 1642 ml, 24 cm de profundidad y 10 cm de ancho. A las macetas se les agregó 1.2 kg de la mezcla del sustrato que estaba compuesta por 3 partes de suelo, 1 parte cascarilla de arroz, 0.5 partes de acondicionador de suelo ANASAC (Agrofertas SAS ®) y 0.5 partes turba ForzaMix (FORZA MIX– Fercon).

Para este ensayo se utilizó una bacteria del género *Streptomyces* de la colección del Laboratorio de Interacciones Moleculares de Microorganismos en Agricultura (LIMMA) de la Universidad de los Andes, la cual mostró capacidad de promover crecimiento en *Arabidopsis thaliana* en ensayos *in vitro* previos. Se preparó un inóculo con 200 ml de ISP-2 líquido donde la bacteria seleccionada se dejó incubar por 7 días a 28°C a 150 rpm, posteriormente se filtró y re-suspendió en MgSO₄ 10 mM. De esta solución se hicieron diluciones 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ y 10⁻⁴ para hacer un conteo de células

bacterianas en cámara de Neubauer y conocer la carga bacteriana del inóculo que se estandarizó a 1×10^8 células/mL.

El experimento consistió en dos factores: Presencia y ausencia de PGPB y presencia y ausencia de riego resultando en los siguientes cuatro tratamientos: 1) bacteria con irrigación, 2) bacteria sin irrigación, 3) sin bacteria con irrigación y 4) sin bacteria y sin irrigación. Bajo el tratamiento de irrigación se mantuvo el suelo al 50% de su capacidad de carga usando 300 ml de agua a la semana durante todo el experimento, mientras que para el de sequía se dejó de regar las plantas durante 21 días, desde el 21 de abril al 13 de mayo. Para el tratamiento con presencia de bacteria se hizo la inoculación por riego directo a las plántulas de 11 días de edad con 15 ml del inóculo bacteriano. Para las plantas control sin bacteria se agregó en el mismo momento 15 ml de MgSO_4 10 mM. Este procedimiento se repitió a los 32 días. Se utilizaron 25 plantas por tratamiento dando un total de 100 plantas.

Los datos de contenido de agua medidos en las macetas utilizando el sensor TEROS 11 (Meter Environment), al inicio y al final del ensayo confirmaron que las plantas en los tratamientos de sequía tenían menos agua disponible que las plantas irrigadas y que la presencia de las bacterias no alteran el contenido de agua (Estadístico de Kruskal-Wallis= 56.22; df = 3; $P < 0.0001$; Figura 1).

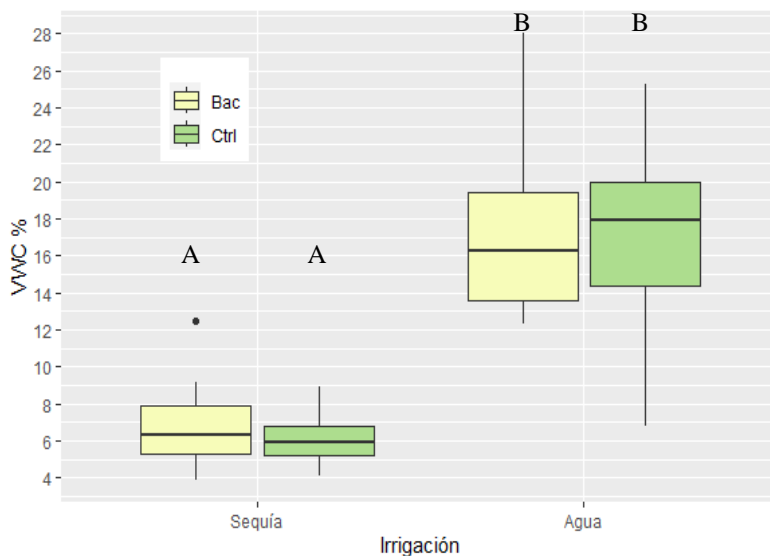


Figura 1. Porcentaje volumétrico de agua (%VWC) en el suelo en las macetas bajo los cuatro tratamientos. Los colores de las cajas representan los tratamientos con bacteria (Bac) y sin bacteria o control (Ctrl). Letras diferentes indican mediciones que son significativamente diferentes. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

Medidas fisiológicas y de crecimiento

Se usaron tres medidas fisiológicas para monitorear el estrés hídrico de las plantas: el potencial hídrico de la planta, la conductancia estomática y la eficiencia del fotosistema PSII estimado como (Fv/Fm) a partir de la fluorescencia de las hojas.

Para las medidas de fluorescencia se utilizó el fluorómetro OS30p (OptiScience Inc. NH, USA). Se adaptaron las hojas a la oscuridad por 40 minutos antes de hacer las medidas utilizando los clips de adaptación a la oscuridad que vienen con el equipo. Se escogieron las hojas más grandes y jóvenes, pero maduras para cada planta analizada. Se registraron los valores a las 10 am para cada una de las plantas al inicio del experimento y al final.

La conductancia estomática se midió utilizando un porómetro SC-1 (METER, WA, USA) que mide los mili moles de agua que salen por segundo (mmol/s^2) del área de la hoja cubierta por la cámara del porómetro. Para esto se situó la cabeza del lector con el sensor hacia la parte abaxial de las hojas, esperando hasta que este tomara la medida. Posterior a esto se esperó a que la humedad del lector bajara para seguir con las otras medidas, cambiando el agente desecante cuando se encontrara saturado. Las medidas se realizaron en la segunda hoja contando desde el ápice hacia abajo. Las mediciones se tomaron el día 22 después del inicio del estrés a las 11 am.

Para determinar el estado hídrico de las plantas medimos el potencial hídrico con una bomba de presión de Scholander 1505D-EXP (PMS Instrument Company, OR, USA). Se cortó únicamente la tercera hoja del ápice hacia abajo de cada planta y se situó en la cámara asegurándose de no fracturar la vena central. Se ingresó la muestra y se presurizo la cámara lentamente con gas Nitrógeno hasta observar la salida de agua por las venas de la hoja. La presión necesaria para ello es igual a la tensión de la columna de agua en el momento en que se cortó la muestra y plantas más estresadas tienen a más alta tensión la columna de agua y por lo tanto potenciales hídricos más negativos. Las mediciones se tomaron cuatro días después de terminar el experimento a las 2:00 pm.

Para evaluar el efecto de los tratamientos en el crecimiento se tomaron medidas del área foliar y del peso seco subterráneo y aéreo. Para tomar medidas de área foliar del maíz se separaron todas las hojas de cada planta y se situaron al lado de una regla para usarla como referencia sobre un fondo blanco. Luego se tomaron fotografías para ser analizadas por medio del programa ImageJ (Schneider et al., 2012). El peso seco se midió dividiendo las partes aéreas (tallo y hojas) de las partes subterráneas (raíz). Las raíces se lavaron hasta eliminar todo el suelo. Las muestras se secaron a 60°C por 2 días para evaporar toda el agua que tuvieran y luego se pesaron.

Análisis estadísticos:

Se realizaron pruebas de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos, luego se realizaron transformaciones a estos datos para reevaluar su normalidad. Adicionalmente, se realizaron gráficos Q-Qplot para evaluar la normalidad y sólo los datos de Fv/Fm presentaban comportamiento normal, por lo que se realizaron pruebas paramétricas ANOVA para estos. Para el resto de los datos no se lograron normalizar por lo que se optó por utilizar prueba no paramétrica.

Los resultados fueron evaluados por medio de pruebas Kruskal Wallis y test de Dunn utilizando el programa R (RStudio Team, 2020).

Resultados

Entre las mediciones tomadas la fluorescencia (Fv/Fm) sirve para conocer el rendimiento y eficiencia del fotosistema PSII, dando así una medida de la tolerancia de la planta al estrés (Jägerbrand & Kudo, 2016; Cerillo et al., 2004). La conductancia estomática nos habla de la apertura de las estomas. La planta necesita abrir sus estomas para asimilar CO₂ para crecer, pero al hacerlo pierde vapor de agua (Jeanguenin et al., 2017) por lo que el estrés hídrico generalmente resulta en una reducción en la conductancia estomática (Martínez-Vilalta & Garcia-Forner, 2017). Finalmente, el potencial hídrico de la planta cambia en respuesta a la disponibilidad de agua en el suelo y la demanda evaporativa del aire resultando en mayor tensión en el xilema (valores más negativos) en condiciones de más estrés hídrico (Bhaskar & Ackerly, 2006).

Fv/Fm

Las mediciones de fluorescencia demostraron que las plantas se fueron estresando a lo largo del ensayo puesto que los valores de Fv/Fm bajaron significativamente al ser comparados con las mediciones iniciales (Estadístico de Kruskal-Wallis= 12.6; df= 1; p= 0.0038; Figura 2) y este descenso fue más marcado en plantas bajo el estrés de sequía. Adicionalmente, al comparar los valores de fluorescencia entre los tratamientos al final del ensayo se pudo evidenciar que la bacteria no afectaba el nivel de estrés bajo ninguno de los tratamientos de irrigación. Sin embargo, los valores de Fv/Fm sí indican mayores niveles de estrés en el tratamiento de sequía que en las plantas irrigadas (F = 7.0646; df= 1; P= 0.009; Figura 3).

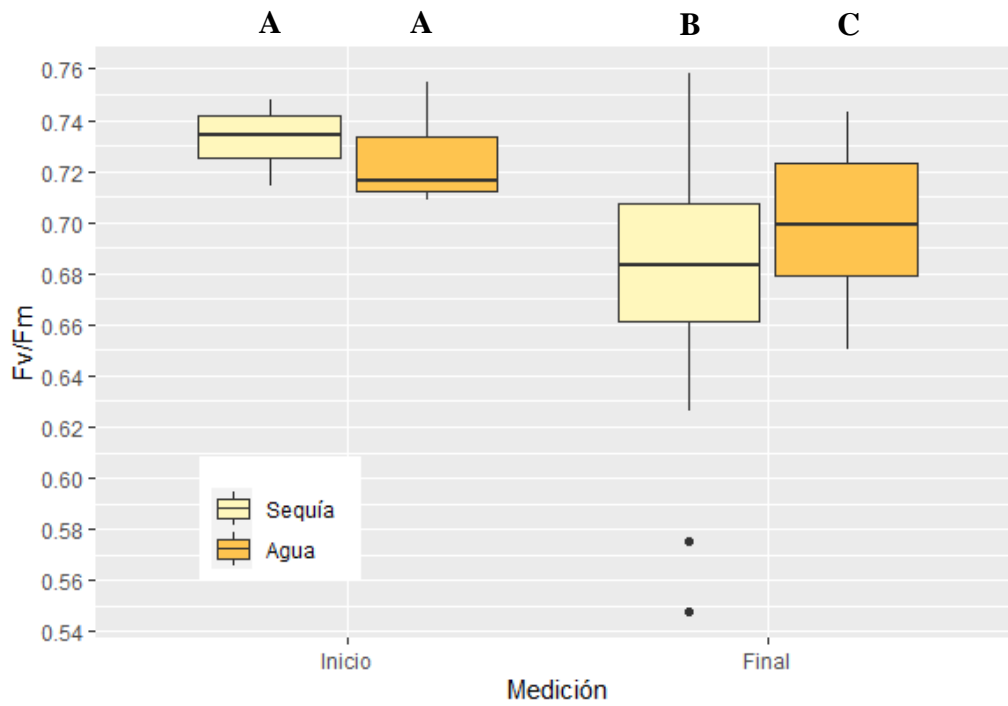


Figura 2. Medición de fluorescencia (Fv/Fm) al inicio y al final del experimento. Los colores de cajas representan los tratamientos de sequía y agua que corresponden a 0% capacidad de carga y 50% capacidad de carga respectivamente. Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes muestran las vallas superiores e inferiores.

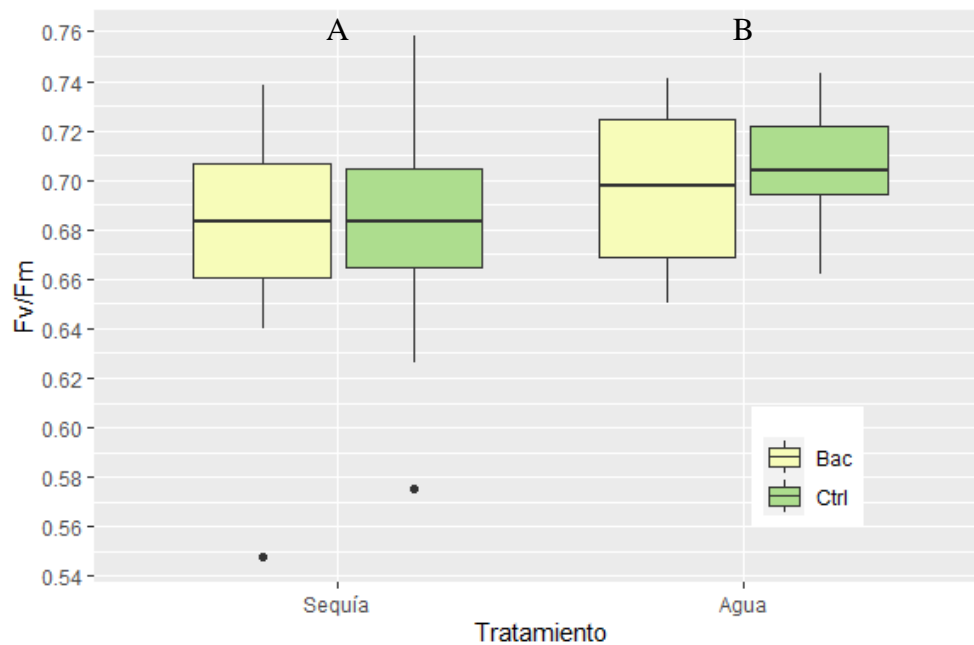


Figura 3. Fluorescencia (Fv/Fm) en plantas bajo los tratamientos de sequía e irrigación con y sin bacteria. Los colores de las cajas representan los tratamientos de bacteria y control. En el eje x se encuentran los tratamientos de sequía (0% capacidad de carga) y agua que corresponde a irrigación

(50% capacidad de carga). Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

Conductancia

Esta es una medida directa de la apertura de los estomas de las plantas, donde valores mayores indican mayor apertura de estomas. En los resultados las plantas irrigadas mostraron mayor conductancia estomática, y en particular las irrigadas con bacterias (Kruskal-Wallis = 10.57; $df = 3$; para la comparación entre bacteria irrigado-control sequía $P = 0.0187$; para la comparación entre bacteria irrigado-bacteria sequía $P = 0.0117$; Figura 4). Las sometidas a estrés hídrico presentaron los valores más bajos y fueron iguales en presencia o no de bacterias (Figura 4).

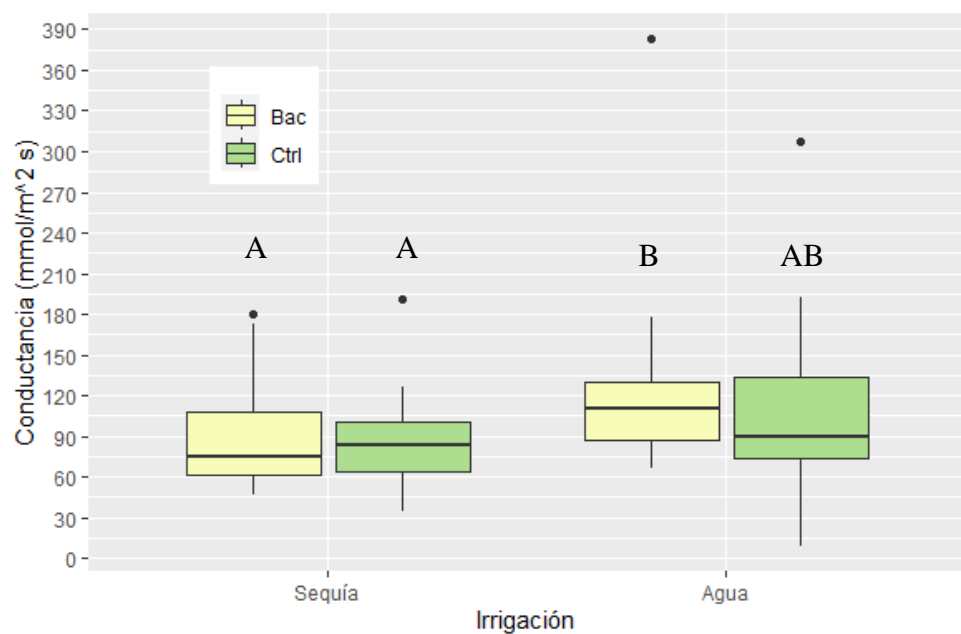


Figura 4. Conductancia estomática (gs) en plantas bajo los tratamientos de sequía e irrigación con y sin bacteria. Los colores de las cajas representan los tratamientos de bacteria y control. En el eje x se encuentran los tratamientos de sequía (0% capacidad de carga) y agua que corresponde a irrigación (50% capacidad de carga). Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

Potencial hídrico

La medición del potencial hídrico indica la presión necesaria para igualar la tensión de la columna de agua en el momento en que se cortó la muestra y plantas más estresadas tienen a más alta tensión la columna de agua y por lo tanto potenciales hídricos más negativos. Similar a lo observado con la conductancia estomática, las plantas con menor potencial hídrico fueron las no irrigadas y en

este caso las plantas con bacteria tuvieron valores ligeramente menores que las plantas con el tratamiento control (Kruskal-Wallis = 11.98 df= 3; para la comparación entre control irrigación-sequía bacteria $P = 0.0086$; para la comparación bacteria irrigación-bacteria sequía $P = 0.0166$; Figura 5). Además, las plantas sin irrigación mostraron valores significativamente más negativos y variables que las plantas que fueron regadas con regularidad. Lo cual indica que las plantas irrigadas se encontraban en un mejor estado hídrico según este índice.

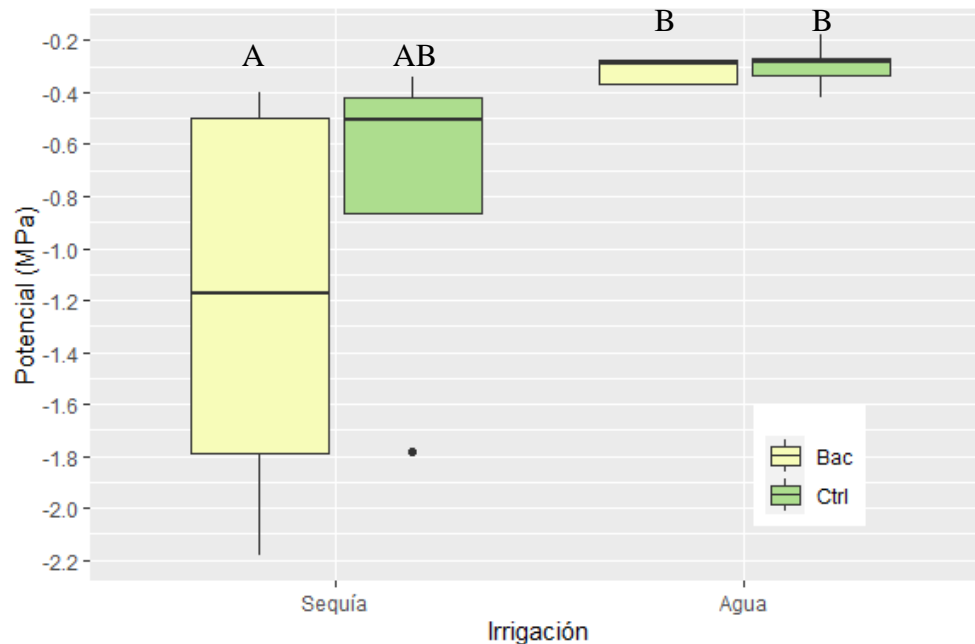


Figura 5. Potencial hídrico de las plantas al final del experimento bajo los tratamientos de sequía e irrigación con y sin bacteria. Los colores entre las cajas representan los tratamientos de bacteria y control. En el eje x se encuentran los tratamientos de sequía (0% capacidad de carga) y agua que corresponde a irrigación (50% capacidad de carga). Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

Crecimiento

Las plantas bajo los cuatro tratamientos mostraron la misma área foliar (Kruskal-Wallis=1.71; df = 3; $P = 0.636$; Figura 6), la misma biomasa aérea (Kruskal-Wallis=2.30, df = 3, $P = 0.513$), biomasa de raíz (Kruskal-Wallis =3.0222, df = 3, $P = 0.388$) y biomasa total (Kruskal-Wallis =0.615, df = 3, $p = 0.892$) (Figura 7).

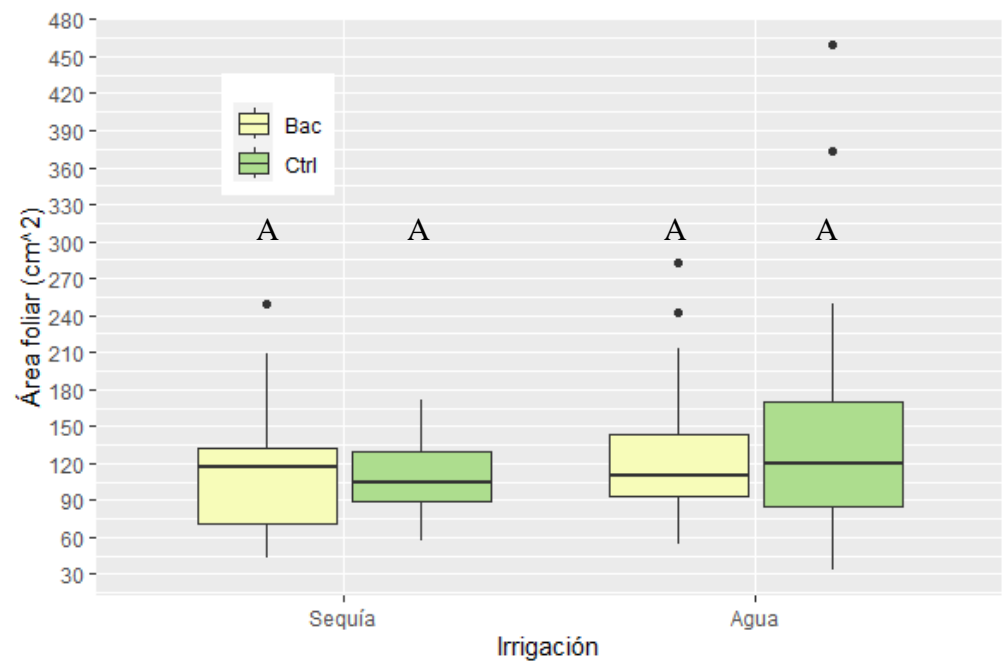


Figura 6. Área foliar (cm²) en plantas bajo los tratamientos de sequía e irrigación con y sin bacteria. Los colores entre las cajas representan los tratamientos de bacteria y control. En el eje x se encuentran los tratamientos de sequía (0% capacidad de carga) y agua que corresponde a irrigación (50% capacidad de carga). Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

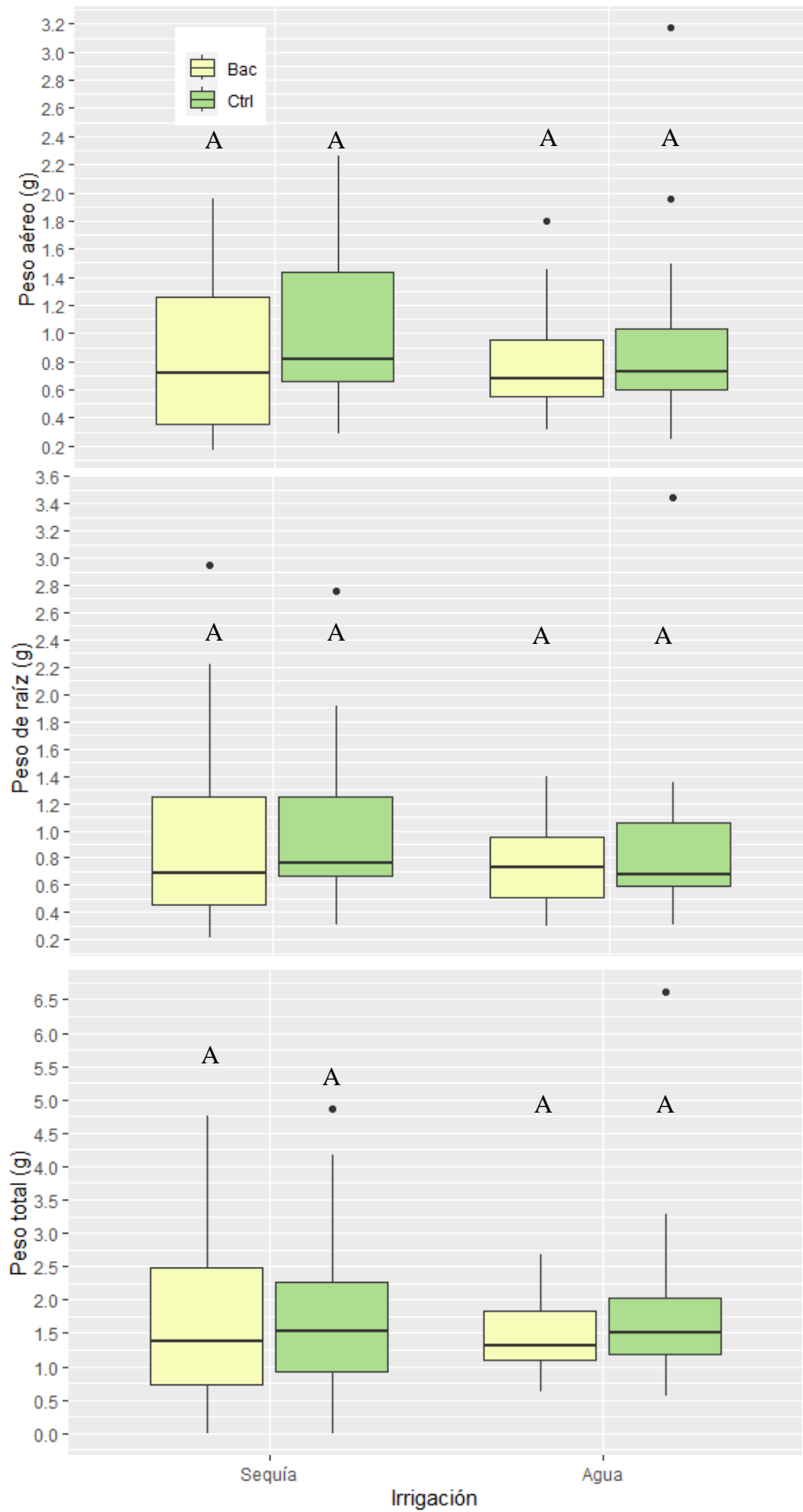


Figura 7. Peso seco de la parte aérea que incluye hojas y tallo (panel superior), de la raíz (panel medio) y peso total (panel inferior) en plantas que crecieron bajo los tratamientos de sequía e irrigación con y sin bacteria. Los colores entre las cajas representan los tratamientos de bacteria y control. En el eje x se encuentran los tratamientos de sequía (0% capacidad de carga) y agua que corresponde a irrigación (50% capacidad de carga). Diferentes letras representan las mediciones que son significativamente diferentes con base a una $p < 0.05$. En el diagrama de cajas y bigotes se pueden observar la región inter-cuartil representada por la caja de color, la mediana que se encuentra en la mitad de esta caja y los bigotes que representan las vallas superiores e inferiores.

Discusión

En el estudio se pudo observar afectaciones al nivel fisiológico que indican un estrés en respuesta a la falta de agua, entre las mediciones que indicaron esta afectación se encontraron: la disminución en los valores de Fv/Fm, disminución de la conductancia estomática y del potencial hídrico bajo el tratamiento de sequía con respecto a los valores de las plantas irrigadas, que además no fueron aliviados por la presencia de bacterias. Otro resultado importante fue que no se logró detectar algún efecto por parte de la PGPB utilizada. Sin embargo, al final del experimento las medidas de crecimiento como peso seco y área foliar no fueron significativamente diferente bajo ninguno de los tratamientos indicando que esta variedad de maíz tolera bien una sequía de 21 días sin reducción en su crecimiento.

En este trabajo no observamos un efecto de la bacteria ensayada sobre el crecimiento o alivio de estrés hídrico en la variedad de maíz 'porva'. Esto puede deberse a muchos factores como especificidad de hospedero, competencia o afectaciones medioambientales. Por ejemplo, una de las grandes limitantes del mecanismo de acción de las PGPB es la especificidad taxonómica que estas pueden tener con un grupo de plantas, causando que tengan la capacidad de promover crecimiento en algunas especies mientras que en otras no, principalmente por eventos de coevolución (Tabassum et al., 2017). Esto puede causar que su espectro de acción sea limitado a grupos cercanos taxonómicamente, por lo cual puede esperarse que estas bacterias aisladas de una planta que pertenece a la familia Euphorbiaceae, no tengan la capacidad de formar una asociación con una gramínea. En parte esto puede ser debido a que la capacidad de colonizar la raíz de la planta no es la misma para todas las bacterias, lo que causa que sean incapaces de formar una relación con algunas plantas. Algunas PGPB no funcionan en otras especies diferentes a aquellas de donde fueron aisladas, pero otras sí; por esta razón, esta especificidad de hospedero debe evaluarse caso por caso. Adicionalmente, la competencia contra otros organismos juega un papel importante en la supervivencia de la bacteria en el suelo (Shah et al., 2021). En resumen, muchas variables pueden causar el hecho de que la bacteria promueva crecimiento en *Arabidopsis*, pero no en maíz y estos factores deben ser estudiados a mayor profundidad.

Se observó que las variables fisiológicas Fv/Fm, conductancia estomática y potencial hídrico fueron afectadas por el tratamiento de sequía. La primera de estas es una de las medidas más utilizadas para determinar el estrés en distintos cultivares y se ha reportado previamente como un predictor de disminución en la productividad del maíz (Sommer et al., 2023). Por otro lado, no

esperábamos ver una reducción en la conductancia estomática dado que el maíz es una planta C4 con una mayor eficiencia en el uso del agua por lo que puede mantener los estomas abiertos por un mayor tiempo en condiciones de estrés hídrico (Sobejano-Paz et al., 2020). Sin embargo, otros estudios han reportado que la conductancia estomática, junto con la asimilación de CO₂ y la profundidad de las raíces funcionan como predictores de la productividad en el maíz en condiciones de estrés hídrico (Gleason et al., 2019). Nuestros resultados concuerdan lo reportado de Gleason et al., (2019) donde se encontró que condiciones de estrés hídrico afectan fuertemente la conductancia estomática.

Por otro lado, no se observaron cambios significativos en ninguna de las medidas de crecimiento, tales como el área foliar, biomasa de raíz o biomasa aérea en ninguno de los tratamientos. Esto es inesperado ya que se ha reportado que el estrés hídrico suele causar una disminución en el tamaño de plantas y en su follaje en otras variedades de maíz (Sobejano-Paz et al., 2020). En específicos se ha encontrado que plantas de maíz bajo este tipo de estrés sufren diferentes cambios morfológicos como disminución en el tamaño de las hojas o fenómenos de enrollamiento para evitar perder agua por los estomas (Aslam et al., 2015). Adicionalmente, se ha visto que bajo condiciones de estrés leve las plantas pueden aumentar sus raíces para maximizar la obtención de agua. Si bien en nuestro estudio las diferencias en peso de raíces no son estadísticamente significativa si se ve una tendencia a que las plantas estresadas tengan más biomasa de raíces. Es posible que el estrés causado en este estudio no hubiera sido suficientemente prolongado en el tiempo para resultar en estos cambios que pueden ser a mediano o más largo plazo.

Lo anteriormente mencionado se puede deber a un resultado importante del estudio, pues las mediciones sugieren que la variedad de maíz 'porva' parece tener una buena tolerancia al estrés hídrico. Después de 21 días sin agua no observamos una reducción en el crecimiento de las plantas, aunque sus medidas fisiológicas indicaban que en efecto las plantas sí se encontraban bajo estrés. Esta capacidad de resistir la sequía es más evidente cuando se comparan los resultados obtenidos con los que se han reportado en otros estudios donde se estudiaron variedades susceptibles (Badr & Brüggemann, 2020; Chen et al., 2016; Min et al., 2016; Efeoğlu et al., 2009; Aslam et al., 2015), donde tratamiento de estrés con la misma o menor duración resultaban en valores menores de Fv/Fm, conductancia estomática y tamaño de plantas. Este aspecto es entonces congruente con la idea que esta variedad de maíz presenta tolerante ante el estrés hídrico.

Direcciones futuras

Para continuar entendiendo sobre la tolerancia de esta variedad antes el estrés hídrico se debe incluir mediciones de otras variables fisiológicas como: asimilación de CO₂ y producción de RuBisCo (Imadi et al., 2016). Adicionalmente, se deben hacer ensayos de recuperación (Chen et al., 2016), en los cuales las variedades estresadas se vuelvan a irrigar, de forma que las condiciones del ensayo se parezcan más a situaciones reales donde no necesariamente existe una sequía permanente. Por último, es importante evaluar otras cepas de PGPB aisladas de maíz u otras gramíneas o a las cuales se les evalúe su competencia en el suelo, así como su capacidad de colonizar raíz.

Conclusión

Si bien detectamos indicios de estrés hídricos en las plantas no irrigadas por 21 días no se pudo observar ningún efecto significativo de la PGPB en el crecimiento o en alivio de estrés hídrico en maíz 'porva'. Sin embargo, el que pudieran mantener su crecimiento y valores de biomasa similares aun después de un periodo de 21 días de sequía, sugieren que esta variedad de maíz 'porva' puede presentar algún tipo de tolerancia ante el estrés hídrico que vale la pena continuar evaluando para poder ver su aplicabilidad en escenarios de cambio climático.

Referencias

- Ahmed, I., Ullah, A., Rahman, M. M., Ahmad, B., Wajid, S., Ahmad, A., & Ahmed, S. (2019). Climate Change Impacts and Adaptation Strategies for Agronomic Crops. En *IntechOpen eBooks*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82697>
- Aslam, M., Maqbool, M. A., & Cengiz, R. (2015). Drought Stress in Maize (*Zea mays* L.): Effects, Resistance Mechanisms, Global Achievements and Biological Strategies for Improvement. *Springer*.
- Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*, 32(11), 1559-1570. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0347-0>
- Badr, A. N., & Brüggemann, W. (2020). Special issue in honour of Prof. Reto J. Strasser - Comparative analysis of drought stress response of maize genotypes using chlorophyll fluorescence measurements and leaf relative water content. *Photosynthetica*, 58, 638-645. <https://doi.org/10.32615/ps.2020.014>
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S. & El Enshasy, H. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bevivino, A. (1998). Characterization of a free-living maize-rhizosphere population of *Burkholderia cepacia*: effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize. *FEMS Microbiology Ecology*, 27(3), 225-237. [https://doi.org/10.1016/s0168-6496\(98\)00069-5](https://doi.org/10.1016/s0168-6496(98)00069-5)
- Bhaskar, R., & Ackerly, D. D. (2006). Ecological relevance of minimum seasonal water potentials. *Physiologia Plantarum*, 127(3), 353-359. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00718.x>
- Boyes, D., Zayed, A., Ascenzi, R., McCaskill, A. J., Hoffman, N. R., Davis, K. L., & Görlach, J. (2001). Growth Stage-Based Phenotypic Analysis of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 13(7), 1499-1510. <https://doi.org/10.1105/tpc.010011>

- Breedt, G., Labuschagne, N., & Coutinho, T. A. (2017). Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. *Annals of Applied Biology*, 171(2), 229-236. <https://doi.org/10.1111/aab.12366>
- Calvo, P., Nelson, L. M., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383(1-2), 3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
- Chen, D., Wang, S., Beibei, C., Cao, D., Leng, G., Li, H., Yin, L., Shan, L., & Deng, X. (2016). Genotypic Variation in Growth and Physiological Response to Drought Stress and Re-Watering Reveals the Critical Role of Recovery in Drought Adaptation in Maize Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01241>
- Chitara, M. K., Chauhan, S., & Singh, R. (2021). Bioremediation of Polluted Soil by Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Microorganisms for sustainability*, 203-226. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7447-4_8
- CIMMYT & CIAT. (2019). Maize for Colombia 2030 vision. <https://repository.cimmyt.org/handle/10883/20382>
- Dane, J. H., & Topp, C. G. (2020). *Methods of Soil Analysis, Part 4: Physical Methods: 20*. Access.
- Dasgupta, D., Kumar, K., Miglani, R., Mishra, R., Panda, A. K., & Bisht, S. S. (2021). Microbial biofertilizers: Recent trends and future outlook. *Elsevier eBooks*, 1-26. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822098-6.00001-x>
- Davoudpour, Y., Schmidt, M., Calabrese, F., Richnow, H. H., & Musat, N. (2020). High resolution microscopy to evaluate the efficiency of surface sterilization of *Zea Mays* seeds. *PLOS ONE*, 15(11), e0242247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242247>
- De Araujo, V. A., De Andrade Lira, M., De Souza Júnior, V. S., De Araújo Filho, J. C., Fracetto, F. J. C., Andreote, F. D., De Araujo Pereira, A. P., Júnior, J. O. C. A., Barros, F. M. D. R., & Fracetto, G. G. M. (2020). Bacteria from tropical semiarid temporary ponds promote maize growth under hydric stress. *Microbiological Research*, 240, 126564. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126564>
- De Redactores Legis, E. (2022). Importaciones de maíz en Colombia. Legis blog. <https://blog.legis.com.co/comercio-exterior/importaciones-de-maiz-en-colombia>
- Desbrosses, G., Contesto, C., Varoquaux, F., Galland, M., & Touraine, B. (2009). PGPR-Arabidopsis interactions is a useful system to study signaling pathways involved in plant developmental control. *Plant Signaling & Behavior*, 4(4), 319-321. <https://doi.org/10.4161/psb.4.4.8106>
- Djaman, K., Allen, S. M., Djaman, D. F., Koudahe, K., Irmak, S., Puppala, N., Darapuneni, M. K., & Angadi, S. V. (2021). Planting date and plant density effects on maize growth, yield and water use efficiency. *Environmental challenges*, 6, 100417. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100417>

Edreira, J. I. R., Çarpici, E. B., Sammarro, D., & Otegui, M. E. (2011). Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Research*, 123(2), 62-73. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.04.015>

Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y., & Çiçek, N. (2009). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, 75(1), 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.06.005>

EPA (2023). *Causes of Climate Change* / US EPA. (2023, April 24). US EPA. <https://www.epa.gov/climatechange-science/causes-climate-change>

Gao, J., Yang, M., Wei, Y., Huang, Y., Zhang, H., He, W., Sheng, H., & An, L. (2019). Screening of plant growth promoting bacteria (PGPB) from rhizosphere and bulk soil of Caragana microphylla in different habitats and their effects on the growth of Arabidopsis seedlings. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1629841>

Gezahegn, A. M. (2021). Role of Integrated Nutrient Management for Sustainable Maize Production. *International Journal of Agronomy*, 2021, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2021/9982884>

Gleason, S. M., Cooper, M. A., Wiggans, D. R., Bliss, C. A., Romay, M. C., Gore, M. A., Mickelbart, M. V., Topp, C. N., Zhang, H., Hansen, N. C., & Comas, L. H. (2019). Stomatal conductance, xylem water transport, and root traits underpin improved performance under drought and well-watered conditions across a diverse panel of maize inbred lines. *Field Crops Research*, 234, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.02.001>

Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 1-15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

Gupta, S., & Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506>

Hatfield, J. L., Boote, K. J., Kimball, B. A., Ziska, L. H., Izaurralde, R. C., Ort, D. R., Thomson, A. M., & Wolfe, D. A. (2011). Climate Impacts on Agriculture: Implications for Crop Production. *Agronomy Journal*, 103(2), 351-370. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0303>

Imadi, S. R., Gul, A., Dikilitas, M., Karakas, S., Sharma, I., & Ahmad, P. (2016). Water stress. *John Wiley & Sons, Ltd eBooks*, 343–355. <https://doi.org/10.1002/9781119054450.ch21>

IPCC, 2023: Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report*. A Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, (in press).

Jägerbrand, A. K., & Kudo, G. (2016). Short-Term Responses in Maximum Quantum Yield of PSII (Fv/Fm) to ex situ Temperature Treatment of Populations of Bryophytes Originating from Different Sites in Hokkaido, Northern Japan. *Plants*, 5(2), 22. <https://doi.org/10.3390/plants5020022>

Jeanguenin, L., Mir, A. P., & Chaumont, F. (2017). Uptake, Loss and Control. En *Elsevier eBooks* (pp. 135-140). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394807-6.00087-3>

Kang, Y., Khan, S. & Ma, X. (2009). Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security – A review. *Progress in Natural Science*, 19(12), 1665-1674. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2009.08.001>

Kar, M. M., & Raichaudhuri, A. (2021). Overview of Arabidopsis as a Genetics Model System and Its Limitation, Leading to the Development of Emerging Plant Model Systems. *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99818>

Maazou, A. S., Tu, J., Qiu, J., & Liu, Z. (2016). Breeding for Drought Tolerance in Maize (<i>Zea mays</i> L.). *American Journal of Plant Sciences*, 07(14), 1858-1870. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.714172>

Martínez-Vilalta, J., & Garcia-Forner, N. (2017). Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant Cell and Environment*, 40(6), 962-976. <https://doi.org/10.1111/pce.12846>

Min, H., Chen, C., Wei, S., Shang, X., Sun, M., Xia, R., Liu, X., Hao, D., Chen, H., & Xie, Q. (2016). Identification of Drought Tolerant Mechanisms in Maize Seedlings Based on Transcriptome Analysis of Recombination Inbred Lines. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01080>

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M., & Khan, N. (2018). Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. *Journal of Basic Microbiology*, 58(12), 1009-1022. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800309>

Navarro Cerrillo, Rafael & Ariza, David & Maldonado Rodriguez, Ronald. (2004). Chlorophyll Fluorescence Response in Five Provenances of Pinus Pinus halepensis Mill. to Drought Stress. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales. 17. 69-74.

Notununu, I., Moleleki, L. N., Roopnarain, A., & Adeleke, R. (2022). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the molecular responses of maize under drought and heat stresses: A review. *Pedosphere*, 32(1), 90-106. [https://doi.org/10.1016/s1002-0160\(21\)60051-6](https://doi.org/10.1016/s1002-0160(21)60051-6)

O'Callaghan, K. J., Dixon, R. A., & Cocking, E. C. (2001). Arabidopsis thaliana: a model for studies of colonization by non-pathogenic and plant-growth-promoting rhizobacteria. *Functional Plant Biology*, 28(9), 975. <https://doi.org/10.1071/pp01048>

Pereira, S. A., Abreu, D., Ditroilo, M., Vega, A., & Castro, P. M. L. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Heliyon*, 6(10), e05106. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05106>

Prasad, M., Srinivasan, R., Chaudhary, M. K., Choudhary, M., & Jat, L. K. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture. *Elsevier eBooks*, 129-157. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815879-1.00007-0>

Ren, X., Sun, D., & Wang, Q. (2016). Modeling the effects of plant density on maize productivity and water balance in the Loess Plateau of China. *Agricultural Water Management*, 171, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.03.014>

Riaz, U., Murtaza, G., Anum, W., Samreen, T., Sarfraz, M., & Nazir, M. (2021). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Biofertilizers and Biopesticides. *Springer eBooks*, 181-196. https://doi.org/10.1007/978-3-030-48771-3_11

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Ryu, C., Hu, C., Locy, R. D., & Kloepper, J. W. (2005). Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil*, 268(1), 285-292. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0301-9>

Santos, R. A. D., Díaz, P., Lobo, L. L. B., & Rigobelo, E. C. (2020). Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Maize and Sugarcane: Characteristics and Applications. *Frontiers in sustainable food systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00136>

Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W. "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis". *Nature Methods* 9, 671-675, 2012

Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., Rabileh, M. A., Zajonc, J., & Smith, D. L. (2021). PGPR in Agriculture: A Sustainable Approach to Increasing Climate Change Resilience. *Frontiers in sustainable food systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667546>

Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., & Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3(3), 307-327. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0140-5>

Skoufogianni, E., Solomou, A. D., Charvalas, G., & Danalatos, N. (2020). Maize as Energy Crop. *En Maize as Energy Crop*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88969>

Sobejano-Paz, V., Mikkelsen, T. N., Baum, A., Mo, X., Liu, S., Köppl, C. J., Johnson, M. H., Gulyas, L., & García, M. C. (2020). Hyperspectral and Thermal Sensing of Stomatal Conductance, Transpiration, and Photosynthesis for Soybean and Maize under Drought. *Remote Sensing*, 12(19), 3182. <https://doi.org/10.3390/rs12193182>

Sommer, S. G., Han, E., Li, X., Rosenqvist, E., & Liu, F. (2023). The Chlorophyll Fluorescence Parameter Fv/Fm Correlates with Loss of Grain Yield after Severe Drought in Three Wheat Genotypes Grown at Two CO₂ Concentrations. *Plants*, 12(3), 436. <https://doi.org/10.3390/plants12030436>

Strable, J., & Scanlon, M. J. (2009). Maize (*Zea mays*): A Model Organism for Basic and Applied Research in Plant Biology. *CSH Protocols*, 2009(10), pdb.emo132. <https://doi.org/10.1101/pdb.emo132>

Tabassum, B., Khan, A. U., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M. S., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102-117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>

Tesfaye, K., Zaidi, P. H., Gbegbelegbe, S., Boeber, C., Rahut, D. B., Getaneh, F., Seetharam, K., Erenstein, O., & Stirling, C. M. (2017). Climate change impacts and potential benefits of heat-tolerant maize in South Asia. *Theoretical and Applied Climatology*, 130(3-4), 959-970. <https://doi.org/10.1007/s00704-016-1931-6>

Wheeler, T., & Von Braun, J. (2013). Climate Change Impacts on Global Food Security. *Science*, 341(6145), 508-513. <https://doi.org/10.1126/science.1239402>

Wu, J., Zhang, J., Ge, Z., Liwei, X., Shuqing, H., Shen, C., & Kong, F. (2021). Impact of climate change on maize yield in China from 1979 to 2016. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(1), 289-299. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(20\)63244-0](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(20)63244-0)

Yadav, O. P., Hossain, F., Karjagi, C. G., Kumar, B. V. K. V., Zaidi, P. H., Jat, S. L., Chawla, J. S., Kaul, J., Hooda, K. S., Kumar, P. S., Yadava, P. C., & Dhillon, B. S. (2015). Genetic Improvement of Maize in India: Retrospect and Prospects. *Agricultural research*. <https://doi.org/10.1007/s40003-015-0180-8>