

Germinación y Desarrollo de Plántulas de Tres Híbridos de Maíz bajo Soluciones Osmóticas. V. Polietilenglicol

J. Méndez Natera, F. Ybarra Pérez, J. Merazo Pinto
Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica
Universidad de Oriente
Avenida Universidad, *Campus* Los Guaritos, 6201, Maturín, estado Monagas, Venezuela
E-mail: jmendezn@cantv.net

Resumen

El objetivo fue evaluar el efecto del potencial osmótico (PO), creado con polietilenglicol 400 sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tres híbridos de maíz (Cargill-633, Himeca-2003 y Pioneer-3031). Se usó un diseño de bloques al azar en arreglo factorial con cuatro repeticiones. Los PO fueron: 0, -3, -6, -9 y -12 bares. No hubo germinación a -9 y -12 bares. Los porcentajes de reducción a -3 y -6 bares fueron: porcentaje de germinación (19,4 y 91,17%, respectivamente), altura de plántula (90,64 y 99,57%), longitud radicular (78,51 y 98,16%), hojas/plántula (54,56 y 92,33%), peso del vástago (78,75 y 98,27%) y peso de radícula (59,37 y 97,88%). El polietilenglicol 400 no diferenció la resistencia a la sequía entre los cultivares de maíz.

Palabras Claves: *maíz, Zea mays, estrés hídrico, resistencia a la sequía, polietilenglicol.*

Abstract

The objective was to evaluate the effect of five osmotic potentials (OP) created with polyethylene glycol 400 on seed germination and seedling growth of three corn hybrids (Cargill-633, Himeca-2003 and Pioneer-3031). A 3x5 factorial experiment in a randomized complete block design was used with four replications. OP were 0,-3,-6,-9 and -12 bars. There wasn't germination at -9 and -12 bars. Reduction percentages at -3 and -6 bars were: germination percentage (19.4 and 91.17%, respectively), seedling height (90.64 and 99.57%), radicle length (78.51 and 98.16%), leaves/seedling (54.56 and 92.33%), shoot weight (78.75 and 98.27%) and radicle weight (59.37 and 97.88%). The results indicated that polyethylene glycol 400 didn't differentiate resistance and/or tolerance to drought (water stress) among the three corn cultivars evaluated

Keywords: *corn, Zea mays, water stress, drought resistance, polyethylene glycol.*

1. Introducción

La sequía es un fenómeno natural que puede producirse en el ciclo de vida de cualquier cultivo. Entre las variables ambientales afectando el crecimiento y desarrollo de las plantas, el estrés hídrico es uno de los más importantes y que todas las plantas superiores están expuestas a la desecación al menos una vez durante su ciclo de vida a medida que la semilla madura y se seca y comúnmente, las plantas están expuestas otros periodos de sequía leves o severos durante sus fases de crecimiento vegetativo y reproductivo. Por lo tanto es necesario contar con métodos efectivos de evaluar la resistencia y/o tolerancia al estrés hídrico. Adicionalmente, el cultivo de plantas tolerantes a la sequía, es una alternativa de gran valor para la explotación en áreas propensas a la sequía. En Venezuela, existen pocos antecedentes sobre la temática en cuestión, aunque la literatura

internacional abarca el tema en profundidad, pero dada la gran diversidad de dispositivos experimentales, métodos de investigación, técnicas y criterios interpretativos, así como las diferencias debidas a la localización y cultivos y cultivares empleados, hacen a veces difícil su utilización.

La primera exigencia de un cultivo satisfactorio consiste en su establecimiento adecuado y el éxito de las fases de la germinación determina aquel de todo el periodo vegetativo. De hecho, cuando los niveles de establecimiento son bajos, se requiere de una mayor cantidad de semillas para la siembra, el rendimiento se reduce y la resiembra puede ser necesaria, todos los cuales reducen la rentabilidad financiera. Por otra parte, la respuesta de las semillas a la sequía también podría ser un indicador de la tolerancia de las plantas para las etapas posteriores del desarrollo. Por lo tanto, ha habido intentos de germinar bajo condiciones variables de estrés para identificar las poblaciones las

cuales se adapten a la sequía. Las pruebas de las plántulas bajo estrés osmótico variable pueden conducir a la selección de genotipos adaptados a diferentes regiones geográficas. La tolerancia de muchas especies a la sequía durante la etapa de germinación constituye una ventaja porque conlleva al establecimiento de estas especies en zonas donde otras, susceptibles a la sequía, no puede colonizar y permiten la ocupación rápida del espacio [1].

La sequía puede definirse simplemente como un período de precipitación por debajo de lo normal el cual limita la productividad de las plantas en un sistema natural o agrícola. En el campo, la sequía puede causar una serie de estreses en la planta incluyendo estreses de temperatura, luz y nutrimentos. Sin embargo, el componente del estrés el cual define la sequía es una disminución en la disponibilidad de agua en el suelo. Esta menor disponibilidad de agua puede ser cuantificada como una disminución en el potencial hídrico. La disminución del potencial hídrico (disminución de la energía libre del agua) hace que sea más difícil para la planta para absorber agua y esto a su vez provoca una serie de respuestas que le permiten a la planta evitar la pérdida de agua, permiten la absorción de agua para continuar a potencial hídrico reducido o permitir que la planta tolere un contenido reducido de agua en los tejidos [2].

El polietilenglicol (PEG) es un polímero neutro disponible en un rango de pesos moleculares, altamente soluble en agua y con baja toxicidad a los mamíferos y debido a estas propiedades ha sido utilizado por diferentes investigadores para imponer un estrés hídrico en plantas, disminuyendo el potencial de agua del medio de las raíces y así el potencial de agua de la planta, aunque otras propiedades del PEG las cuales lo hacen menos apropiado para su uso como un osmótico incluyen la disminución de la tensión superficial y el incremento de la viscosidad de la solución [3].

El PEG ha sido empleado para imponer un estrés hídrico por muchos investigadores tanto en el pasado ([3] y referencias en su artículo) como en la actualidad ([4] y referencias en su artículo).

La finalidad del presente trabajo fue evaluar el efecto de cinco potenciales osmóticos creados con polietilenglicol 400 sobre la capacidad de germinación de las semillas y posterior crecimiento de las plántulas de tres híbridos de maíz.

2. Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Post-grado de Agricultura Tropical de la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, ubicado en la Urbanización Juanico, Maturín, Estado Monagas, Venezuela. Se usaron los híbridos comerciales de maíz Cargill 633, Himeca 2003 y Pioneer 3031. Las semillas tuvieron un contenido de humedad promedio de 12 %.

El ensayo se realizó en un diseño de bloques al azar en arreglo factorial con cuatro repeticiones, un factor estuvo constituido por cinco potenciales osmóticos y el otro factor correspondió a los tres híbridos de maíz.

Los potenciales osmóticos de 0, -3, -6, -9 y -12 bares utilizados en el ensayo, se crearon agregando 0,00; 38,90; 72,70; 102,90 y 130,30 g de PEG 400/1 de agua de acuerdo a un análisis de regresión realizado a los datos de Saint Clair [5] quien trabajo con diferentes potenciales osmóticos creados con PEG 400 en un rango de 3,22 a 10,88 bares. La ecuación de regresión calculada fue:

$$Y = - 0,852 + 0,961 X; F = 637,35^{**} (p < 0,01) \text{ y } R^2 = 99,53 \%$$

Donde Y = Potencial osmótico y X = gramos de PEG 400/100 ml.

Se usaron 500 semillas de cada híbrido, posteriormente se separaron en bolsitas de plástico de 25 semillas cada una, luego se desinfectaron con una solución de cloro comercial al 10 % (10 ml de cloro comercial/100 ml de agua) durante 3 minutos, enjuagándose luego con agua para eliminar el exceso de cloro. Luego se procedió a la siembra en el laboratorio de la siguiente manera: las semillas fueron distribuidas en hileras de 25 semillas de cada uno de los híbridos en hojas de papel absorbente colocadas sobre bandejas de metal y luego se cubrieron con dos hojas de dicho papel, y se humedecieron (riego) diariamente aplicando las soluciones osmóticas de PEG 400 dos veces al día durante 12 días.

Las plantas se cosecharon a los 12 días después de la siembra y se determinaron los siguientes caracteres: porcentaje de germinación; altura de la plántula (cm); longitud de la raíz (cm); número de hojas/plántula; peso seco del vástago (g); peso seco de radícula (g); relación altura de plántula/longitud de radícula y relación peso seco vástago/peso seco de radícula. Se realizó el análisis de varianza convencional. Las diferencias entre los promedios de los cultivares se detectó mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan, mientras que se realizó un análisis de regresión para estudiar el efecto de los potenciales osmóticos. En todos los análisis estadísticos se utilizó un nivel de probabilidad de 0,05. Previamente al análisis de varianza, los porcentajes de germinación se transformaron mediante la fórmula $\text{Arc Seno } \sqrt{(x + 3/8)/(n + 3/4)}$, mientras que el resto de los caracteres se transformaron mediante la fórmula $\sqrt{(x + 0,5)}$.

3. Resultados

En la tabla 1 se muestra el análisis de varianza y de regresión para los caracteres evaluados. Todos los caracteres presentaron efectos significativos para el factor potencial osmótico, mientras que para los cultivares se encontraron diferencias significativas sólo

para el porcentaje de germinación y el peso del vástago. Ningún carácter presentó diferencias significativas para la interacción cultivares x potencial osmótico. Todas las ecuaciones de regresión presentaron un alto ajuste ($R^2 > 97,00\%$).

La figura 1 indica que todos los caracteres evaluados fueron afectados negativamente por el potencial osmótico. Para el porcentaje de germinación (Figura 1.A), altura de la plántula (Figura 1.B), longitud de la radícula (Figura 1.B), peso del vástago (Figura 1.D) y peso de la radícula (Figura 1.D) las respuestas fueron cuadráticas y para el número de hojas/plántula (Figura 1.C), relación altura de plántula/longitud de radícula (Figura 1.E) y relación peso de vástago/peso de radícula (Figura 1.E) las respuestas fueron lineales como promedio de los cultivares, es decir, la interacción fue no significativa en todos los caracteres. Los potenciales osmóticos de -9 y -12 bares inhibieron totalmente la germinación de las semillas.

Por otra parte, la Figura 1.F muestra la prueba de Duncan para el porcentaje de germinación y el peso del vástago. La mayor germinación ocurrió en las semillas del cv. Cargill 633, mientras que las semillas de Himeca 2003 y Pioneer 3031 germinaron de forma similar. El cv. Cargill 633 tuvo vástagos más pesados que aquellos de Pioneer 3031 pero similares a los de Himeca 2003.

4. Discusión

No hubo germinación a -9 y -12 bares. Resultados similares fueron reportados por Saint-Clair [5] quien señaló que la germinación de las semillas de 11 cultivares de sorgo fue completamente inhibida con concentraciones de PEG 400 mayores a 12% (potenciales osmóticos mayores a -10,88 bares).

En general, incrementos en los potenciales osmóticos causaron una disminución de los valores en todos los caracteres evaluados. Los porcentajes de reducción a -3 y -6 bares fueron respectivamente: 19,4 y 91,17 % para el porcentaje de germinación; 90,64 y 99,57 % para la altura de la plántula; 78,51 y 98,16 % para la longitud de la radícula; 54,56 y 92,33 % para el número de hojas/plántula; 78,75 y 98,27 % para el peso del vástago; 59,37 y 97,88 % para el peso de la radícula; 52,09 y 92,30% para la relación altura de plántula/longitud de radícula y 52,99 y 93,10 % para la relación peso del vástago/peso de la radícula. Como se puede observar incrementos en los potenciales osmóticos disminuyeron los valores de todos los caracteres, siendo el efecto más drástico a -6 bares.

Resultados análogos fueron reportados por Mohammadkhani y Heidari [6], quienes estudiaron la respuesta de la germinación al estrés inducido por PEG 6000 (-0,15; -0,49; -1,03 y -1,76 MPa) en dos cultivares de maíz (704 y 301) y encontraron que la germinación fue inversamente proporcional a las concentraciones de PEG, es decir, los cultivares 704 y 301 mostraron una reducción en la germinación con un aumento en las concentraciones inducidas por PEG para un mayor déficit hídrico, la germinación fue severamente afectada a -1,03 MPa y no hubo germinación a -1,76 MPa. En las plantas desarrolladas en el control, la variedad 301 presentó una menor germinación que 704. En la condición de estrés hídrico, la germinación se redujo en ambas variedades. En la variedad 704, la germinación fue 94,5% en las plantas control (0 MPa) y disminuyó a 24,75% a 30% de PEG (-1,03 MPa). En la variedad 301, la germinación fue 82,75% en las plantas control (0 MPa) y disminuyó a 9,75% a 30% de PEG (-1,03 MPa), pero la germinación disminuyó a cero a 40% de PEG (-1,76 MPa) en ambas variedades, siendo este último evento muy similar al encontrado en este ensayo. En otro

Tabla 1. Análisis de varianza y de regresión para el porcentaje de germinación (PG), altura de plántula (AP) (cm), longitud de la radícula (LR) (cm), número de hojas (NH), peso seco del vástago (PV) (g), peso seco de la radícula (PR) (g), relación AP/LR y relación PV/PR de tres cultivares de maíz (*Zea mays* L.) bajo diferentes potenciales osmóticos creados con polietilenglicol. Datos transformados-

Fuente de Variación	GL	Cuadrados medios								
		PG	AP	LR	NH	PV	PR	RAP/LR	RPV/PR	
Repeticiones	3	2,16 ns	0,29 ns	0,45 ns	0,046ns	0,00002 ns	0,00005ns	0,003 ns	0,047 ns	
Cultivares (C)	2	11,31 *	0,50 ns	0,59 ns	0,026ns	0,00005 *	0,00013ns	0,026 ns	0,014 ns	
Pot Osmótico (PO)	4	62,70 *	73,01 *	48,87 *	2,880*	0,00822 *	0,00496*	0,862 *	1,070 *	
Reg. Lineal	1	110,42*	131,86 *	95,04 *	5,680*	0,01441 *	0,00960*	1,705 *	2,082 *	
Reg. Cuadrática	1	14,97 *	14,15 *	2,70 *	0,079ns	0,00204 *	0,00031*	0,018 ns	0,057 ns	
C * PO	8	2,09 ns	0,33 ns	0,26 ns	0,007ns	0,00001 ns	0,00006ns	0,009 ns	0,021 ns	
Error Experimental	42	0,98	0,26	0,20	0,028	0,00001	0,00006	0,015	0,043	
Total	83									
C. V. (%)		9,81	18,82	16,25	12,52	0,52	1,06	11,87	19,41	
R ² total (%)		100,00	100,00	100,00	98,63	100,00	100,00	98,93	97,31	

GL: Grados de libertad; C. V.: Coeficiente de variación * : Significativo ($p \leq 0,05$) ns : No Significativo ($p > 0,05$)

estudio, Al-Taisan [4] determinó el efecto de diferentes potenciales osmóticos creados con PEG 8000 (0,0; 0,2; -0,4; -0,6 and -0,8 MPa) durante 14 días sobre la

germinación y crecimiento de plántulas bajo condiciones de laboratorio de *Pennisetum divisum* y encontró que el porcentaje de germinación disminuyó

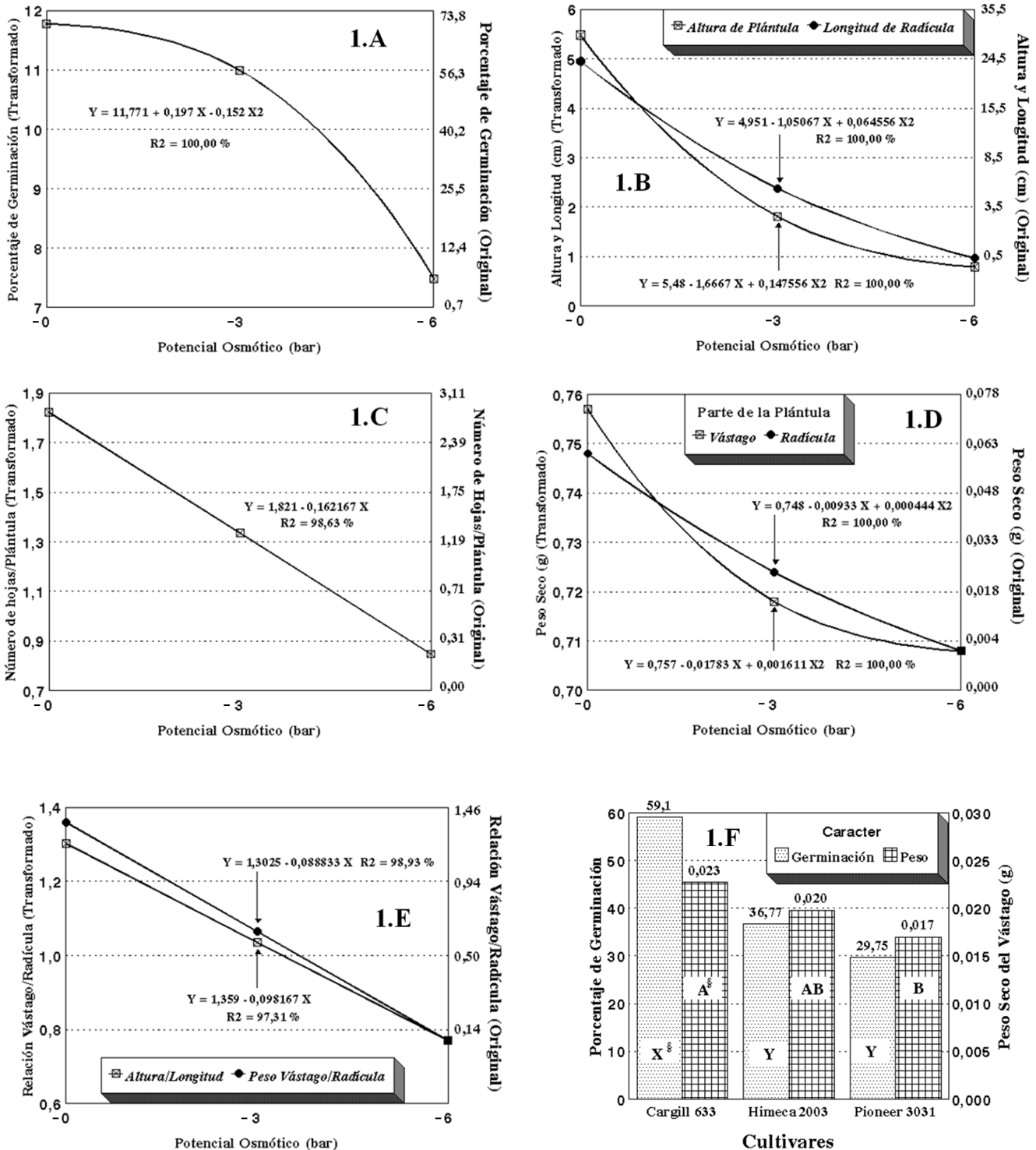


Figura 1. Análisis de regresión para el porcentaje de germinación de las semillas (1.A), altura de la plántula (cm) (1.B), longitud de la radícula (cm) (1.B), número de hojas/plántula (1.C), peso seco del vástago (g) (1.D), peso seco de la radícula (g) (1.D) y la relación altura de plántula/longitud de la radícula (1.E) y la relación peso del vástago/peso de la radícula (1.E) y prueba de rangos múltiples de Duncan (datos originales) para el porcentaje de germinación (1.F) y el peso seco del vástago (g) (1.F) a los 12 días después de la siembra de tres cultivares de maíz (*Zea mays* L.) bajo diferentes potenciales osmóticos creados con polietileno- glicol 400. El porcentaje de germinación se transformó mediante $\text{Arc Seno } \sqrt{(x+3/8)/(n+3/4)}$, mientras que el resto de los caracteres se transformaron mediante $\sqrt{(x + 0,5)}$.

significativamente con incrementos del potencial osmótico, especialmente a -0,6 y -0,8 MPa, en el control el porcentaje de germinación fue 85% y en relación al tratamiento con PEG, obtuvo su máximo en el tratamiento de -0,2 con 73%, la germinación fue severamente disminuida a -0,6 MPa y alcanzó el 35%, mientras que a -0,8 MPa, alcanzó 10%. Mut *et al* [6] evaluaron el efecto del estrés osmótico sobre la germinación de 55 genotipos de avena, las semillas fueron germinadas en soluciones de PEG 6000 con potenciales osmóticos de 0,00; 0,25; 0,50 y 0,75 MPa y encontraron que el porcentaje de germinación final difirió significativamente entre los tratamientos de estrés hídrico (PEG), el porcentaje de germinación fue 4,4; 18,1 y 69,4% menor a 0,25; 0,50 y 0,75 MPa que aquel del porcentaje de germinación final con ningún estrés hídrico (0 MPa).

Similarmente, Gholami *et al* [7] evaluaron el efecto del estrés hídrico inducido por diferentes concentraciones de PEG (0,0; -0,05; -0,1 y -0,5 MPa) sobre la germinación de cuatro especies de almendro (*Prunus scoparia* Spach, *P. eleagnifolia* Spach, *P. lycioides* Spach y *P. dulcis* Mill (No. 24 Zarghan) y encontraron que los caracteres de la germinación fueron severamente afectados por la sequía debido a que en todas las especies, las semillas en medio control (0 potencial osmótico), tuvo la más alta capacidad de germinación, pero disminuyó significativamente al disminuir el potencial hídrico (más negativo), la capacidad de germinación de las semillas en el tratamiento control de *P. scoparia* y *P. dulcis* (No. 24 Zarghan) fue 100%, mientras que aquella de *P. eleagnifolia* y *P. lycioides* fue 71,11 y 74,56%, respectivamente, el tiempo medio de germinación de todas las especies se incrementó con el aumento en la concentración de PEG.

Según Bradford [8], el PEG no sólo retrasa la germinación, sino también afecta los porcentajes de germinación final, el PEG el cual es un osmótica no penetrante previene la absorción de agua por las células vegetales, en semillas que se remojan en agua pura, su contenido de agua alcanza un máximo justo antes de que emerja la radícula cambia muy poco, cuando el potencial de agua se reduce fuera del medio de las semillas, la tasa de absorción de agua disminuye y el inicio de la germinación se retrasa, la principal razón del retraso en la germinación es el aumento en la duración de la fase de latencia entre la imbibición y el crecimiento radicular, puesto que el aumento en el contenido de agua de las semillas procede lentamente durante este período. En el agua pura, las semillas son saturadas (100%) con agua y como consecuencia el crecimiento de la radícula ocurre rápidamente, pero a un mayor potencial osmótico (más negativo), el contenido de agua de las semillas se incrementa gradualmente.

En este experimento no se encontró una interacción significativa cultivar x potencial osmótico,

probablemente a que no hubo germinación con potenciales de -9 y -12 bares, resultados diferentes indicó Saint-Clair [5] quien evaluó 11 cultivares de sorgo y no obteniendo germinación a -10,88 bares pero si una interacción significativa, en su estudio trabajando con los potenciales osmóticos de 0,86; 3,22; 4,80; 6,58; 8,70 y 10,88 bares reportó que los efectos depresivos de Carbowax 400 (PEG) en la germinación de los cultivares de sorgo llegó a ser más severa con un incremento de la concentración del desecante y la magnitud de la depresión varió con los cultivares, la germinación del cultivar CE-90 no fue afectada por las concentraciones de 4 y 6% de Carbowax (0,86 y 3,22 bares, respectivamente) y en general, estos dos tratamientos no fueron significativamente diferentes con respecto a las reacciones individuales de los cultivares. M35-1 y Meloland parecieron, sin embargo, ser más afectados por un aumento de la concentración de 4 a 6% de PEG4 y el nivel de 4% fue demasiado débil para influenciar la germinación de 69-4, este cultivar y G393 no mostraron diferencias significativas entre los efectos de Carbowax a 6 y 8%, el efecto depresor de la concentración de 12% vs 10% (8,70 bares vs 10,88 bares) sobre los cultivares se observó generalmente excepto para C-42Y y concluyeron que comparando el comportamiento de los cultivares en la concentración más alta de Carbowax podría permitir la división de los cultivares en grupos entre los cuales se observaría una depresión cuasiregular de la germinación.

En este experimento hubo una disminución en el crecimiento de las plántulas (vástago y radícula). Similares resultados reportó Hamayun *et al* [9] quienes investigaron los efectos adversos del estrés hídrico inducido por soluciones de PEG a 8 y 16% sobre el crecimiento de soya y encontraron que los caracteres del crecimiento disminuyeron notablemente debido a la estrés de sequía inducido por el PEG, el crecimiento de la soya fue afectado por la concentración de PEG, el peso seco y fresco de la planta se redujo significativamente con 16% de PEG y la longitud del vástago de las plántulas disminuyó significativamente con incrementos de la concentración de PEG y concluyeron que la altura de la planta es un índice de tolerancia a la sequía y que los cultivares altos de soya tienen un mayor peso seco y el estrés hídrico afecta adversamente todos los parámetros de crecimiento. Lawlor [3] indicó que los pesos secos de hojas, tallos y raíces a los 14 días de plántulas de maíz fueron significativamente reducidos en crecimiento en soluciones de PEG 4000 comparados con el control.

Gholami *et al* [7] también reportaron que el crecimiento de cuatro especies de almendro cultivadas en diferentes concentraciones de PEG fue fuertemente afectado por el estrés hídrico puesto que las longitudes de las radículas y de los hipocotilos disminuyeron con los bajos potenciales hídricos e indicaron que la reducción en el contenido de agua de las semillas

debido al bajo potencia hídrico del medio disminuirá la actividad de las enzimas hidrolíticas tales como la α -amilasa, proteasas y lipasas responsables de hidrolizar las reservas de los cotiledones requeridas para proveer energía en las primeras etapas del crecimiento de las semillas mediante la respiración, así, parece que la expansión celular bajo estrés osmótico se inhibe principalmente por factores metabólicos más que por un potencial de presión insuficiente.

La disminución en los porcentajes de germinación y crecimiento de las plántulas pudo deberse a que el estrés por sequía influencia la germinación mediante la limitación en la absorción de agua por las semillas, por el efecto sobre el movimiento y transferencia de las reservas de las semillas y la síntesis de proteínas en el embrión. Por otra parte, el PEG causa una disminución en la hidrólisis de los materiales de reservas de las semillas y finalmente un decrecimiento del porcentaje de germinación [10].

5. Conclusión

El PEG 400 no diferenció la resistencia y/o tolerancia a la sequía (estrés hídrico) entre los tres cultivares de maíz. Una disminución en el potencial osmótico causó una disminución de la germinación y del crecimiento de las plántulas.

6. Agradecimientos

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, Venezuela.

7. Referencias

- [1] Radhouane, L. 2007. Response of Tunisian autochthonous pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. African Journal of Biotechnology 6 (9): 1102-1105.
- [2] Mohammadkhani, N. and R. Heidari, 2008. Water stress induced by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Science 11 (1): 1: 92-97.
- [3] Lawlor, D. W. 1970. Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth. New Phytol. 69: 501-513.
- [4] Al-Taisan, W. A. 2010. Comparative effects of drought and salt stress on germination and seedling growth of *Pennisetum divisum* (Gmel.) Henr. American Journal of Applied Sciences 7 (5): 640-646.
- [5] Saint-Clair, P. M. 1976. Germination of sorghum bicolor under polyethylene glycol-induced stress. Canadian Journal of Plant Science 56: 21-24.
- [6] Mut, Z.; H. Akay and N. Aydin. 2010. Effects of seed size and drought stress on germination and seedling growth of some oat genotypes (*Avena sativa* L.). African Journal of Agricultural Research 5 (10): 1101-1107.
- [7] Gholami, M.; M. Rahemi and B. Kholdebarin. 2010. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4 (5): 785-791.
- [8] Bradford, K. J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. HortScience, 21: 1105-1112.
- [9] Hamayun, M.; S. Afzal Khan, Z. Khan Shinwari, A. Latif Khan, N. Ahmad and In-Jung Lee. 2010. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physio-hormonal attributes of soybean. Pakistan Journal of Botany 42 (2): 977-986.
- [10] Imanparast L. and D. Hassanpanah. 2009. Response of *Onobrychis* genotypes to PEG 10000 induced osmotic stress. Biotechnology 8 (3): 365-369.