

Role of Pre-Sowing Gamma-Irradiation of Seeds in the Salt-Resistance of *Phaseolus vulgaris* L.

E.S. Jafarov^{*1}, N.R. Guliyeva¹, H.G. Babayev²,
G.A. Gojaeva¹, G.A. Mamedova¹

¹ Institute of Radiation Problems of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan

² Institute of Molecular Biology and Biotechnology of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan

*E-Mail: elimkhan.jafarov@gmail.com

Received June 25, 2020

Studies of the effect of low-dose γ -radiation on the resistance of plants to abiotic stresses have recently attracted great attention of researchers due to the constant environmental degradation. In separate examples, it was shown that γ -radiation in low doses can improve the resistance of plants to various stressful conditions.

In the present work, we tried to find out the role of pre-sowing γ - irradiation of seeds in the salt tolerance of beans. The reaction of irradiated seeds to salt stress was evaluated both by the content of MDA and H₂O₂, and by the activity of the antioxidant enzyme catalase.

The results of our studies showed that pre-sowing γ -treatment of seeds at doses of 10 Gy helps to reduce the oxidative stress caused by NaCl at relatively low concentrations (from 1 to 10 mM) of salt, which is reflected both in a decrease in the content of H₂O₂ and MDA, as well as in an increase in catalase activity .

We assume that by preliminary γ -treatment of seeds before sowing at doses of 10 Gy, it is possible to increase the resistance of beans to salinization at NaCl concentrations from 1 to 10 mM.

Key words: catalase, H₂O₂, MDA, Phaseolus vulgaris L., presowing seed irradiation, salt stress

Известно, что в аэробных организмах в неблагоприятных для них условиях, как результат возбуждения или полного восстановления молекулярного кислорода, образуются вредные побочные продукты. Эти чрезвычайно реакционно-способные продукты, которые являются основными продуктами клеточного метаболизма, называют активными формами кислорода (АФК) (Miller *et al.*, 2010).

Многочисленными исследованиями установлено, что стимулирование выработки АФК в клетках в стрессовых условиях, несомненно, приводит к окислительному стрессу (Kougo *et al.*, 2012; Gill, Tuteja, 2010). Пероксид водорода (H_2O_2) и продукт перекисного окисления липидов – малоновый диальдегид (MDA) при этом являются основными продуктами окислительного стресса (Mittler, 2002).

Предполагают, что для предотвращения токсического действия АФК (в том числе, и H_2O_2) у растений формируется ряд физиологических и метаболических реакций. При этом для того, чтобы обеспечить устойчивость растений к воздействиям этих соединений через сложную сигнальную сеть синтезируются разнообразные функциональные белки. Предполагают, что синтез белков происходит путем активации множество генов, реагирующих на стресс (Hirayama and Shinozaki, 2010).

Исследование недавних лет позволили признать H_2O_2 ключевым «игроком» в сложной сигнальной сети у растений, реагирующих на стресс (You and Chan, 2015). Участие H_2O_2 в передаче сигнала означает, что эти молекулы способствуют сохранению баланса АФК на нетоксичном уровне путем скоординированного урегулирования их содержания. При этом баланс сохраняется между АФК, образовавшимися с участием ферментов и путями их очистки во время основного клеточного метаболизма.

Как известно, перекисное окисление липидов (ПОЛ), вызванное прямым участием АФК, является наиболее разрушительным процессом, происходящим в каждом живом организме. Повреждение мембран иногда принимается в качестве единственного параметра для определения

уровня разрушения липидов при различных стрессовых нагрузках. Показано, что при перекисном окислении липидов из полиненасыщенных предшественников образуются углеводородные фрагменты, такие как кетоны, МДА и др. (Gill, Tuteja, 2010). Показано, что у растений, подверженных к различным абиотическим стрессам, вследствие образования АФК увеличивается содержание МДА (Gill, Tuteja, 2010). Увеличение содержания МДА было продемонстрировано также в проростках солодки (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*) под воздействием соли и засухи (Pan *et al.*, 2006). Окислительное повреждение с увеличением содержания МДА и H_2O_2 имело место и у проростков *Cassia auriculata L.*, облученных ультрафиолетом В (Agarwal, 2007).

Предположено, что ПОЛ можно использовать как важный детерминант физиологического процесса при выборе томата, толерантного к водному стрессу (Agarwal, 2007).

Следует отметить, что исследование влияния низко-дозового γ -облучения на устойчивость растений к абиотическим стрессам в последнее время привлекло большое внимание исследователей из-за постоянного ухудшения окружающей среды. В отдельных примерах показано, что γ -облучение в низких дозах может улучшить устойчивость растений к различным стрессовым условиям (Mohammed *et al.*, 2012; Abo-Namad *et al.*, 2013; Qi *et al.* 2015; Moussa, 2011).

Учитывая вышеизложенное, в представленной работе мы попытались выяснить роль предпосевного γ - облучения семян на солеустойчивость фасоли. Реакцию облученных семян к солевому стрессу оценили как по содержанию МДА и H_2O_2 , так и по активности антиоксидантного фермента – каталазы.

MATERIALS AND METHODS

Объект исследования – фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris L.*) - однолетнее растение из семейства бобовых (Fabaceae).

Оборудование - установка "RUXUND" с источником γ -излучения ^{60}Co , спектрофотометр "JENWEY - 67 Series (Великобритания)", центрифуга

"HIMAC-CT 15 RE (Великобритания)", диэлектрический сепаратор "SDL - 1", измеритель влажности зерна (диэлектрический влагомер – диэлькометр) «Фауна - М», термостат, камера (фитотрон) для выращивания рассады.

Условия выращивания растений. Учитывая, что развитие растений в значительной степени зависит от влажности семян, для экспериментов отобрали семена, влажность которых составляла 16-17 %. Образцы семян отделяли электрическим сепаратором, а содержание влаги измеряли диэлькометром. С использованием источника облучения ^{60}Co семена растения подвергали предпосевному γ -облучению (мощность дозы во всех случаях составляла 0,048 Гр/сек). Для этого семена помещали в бумажные пакеты (по 30 семян в каждом пакете) с площадью поверхности $\sim 20 \text{ см}^2$ и провели γ -облучение семян. Дозы облучения при этом были 1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 Гр.

Как облученные, так и необлученные (контрольные) семена проросли в условиях идентичных природным в темноте (в термостате, в чашках Петри). Через 4 дня проростки растения вместе с ее контрольным образцом поместили в специальную посуду с раствором NaCl. Солевой стресс осуществляли при концентрациях соли 1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 мМ. Проростки росли в специальной камере (в фитотроне), в которой были созданы условия дня и ночи с перерывом в 12 часов. И в этом случае были созданы условия, идентичные природным. При этом температура днем составляла $23 \pm 1^\circ\text{C}$, а ночью $15 \pm 1^\circ\text{C}$. А с помощью люминесцентной лампы создавали необходимые условия освещения ($37,6 \text{ Вт/м}^2$). Относительная влажность в камере днем была 55%, а ночью 70 %.

Определение содержания перекиси водорода. Содержание H_2O_2 определяли по методике, разработанной Великовой и соавт. (Velikova et al., 2000). Для этого образцы листьев гомогенизировали в ступке с добавлением 0,1%-ной 3-хлоруксусной кислоты, полученный гомогенат центрифугировали при 12000 г в течение 15 минут. Далее после добавления 10 мМ –ного калий-фосфатного буфера (рН 7,0) и 1 М-ного хлорида калия на

спектрофотометре при длине волны 390 нм измеряли поглощение надосадочной жидкости. Содержание H_2O_2 рассчитывали по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных концентраций перекиси водорода. Для расчета содержания H_2O_2 использовали формулу

$$C_{\text{H}_2\text{O}_2} = ((K \cdot V \cdot X) / (m \cdot \Delta m)) / 880,$$

где, C - содержание H_2O_2 в мкмоль/г сухого веса, K – концентрация H_2O_2 в нг/мл (определяется по калибровочной кривой), V – общий объем экстракта в мл, m – масса сырой навески в г, Δm – отношение сухого веса к сырому, X – коэффициент разведения (отношение количества внесенного образца к общему объему реакционной смеси), 880 является коэффициентом перевода нг в мкмоль.

Определение содержания малонового диальдегида (MDA). Для определения содержания MDA свежесобранные листья растений гомогенизировали с 5% -ной трихлоруксусной кислотой, а затем в течение 10 мин при 27°C центрифугировали (12000 g). Далее равные объемы супернатанта и 0,5% - ный тиобарбитуровой кислоты добавляли в 20% -ной трихлоруксусной кислоты и инкубировали при 96°C в течение 30 мин и быстро охлаждали на ледяной бане. Оптическую плотность надосадочной жидкости определяли при 532 и 600 нм. Концентрацию MDA рассчитывали по формуле

$$K_{\text{MDA}} = ((D_1 - D_2) \cdot V_2) / (\epsilon \cdot L \cdot V_1)$$

(где D_1 и D_2 -оптические плотности при длинах волны 532 нм и 600 нм, соответственно; ϵ – коэффициент поглощения ($\epsilon = 155 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$); V_1 – общий, V_2 – окончательный объем кювет в см^3 ; L - длина этого кювета в см).

В основе используемого нами метода (Ohkawa et al., 1979) лежит реакция между MDA и тиобарбитуровой кислотой, в результате которой при высокой температуре в кислой среде образуется окрашенный триметиновый комплекс. Максимум поглощения этого комплекса приходится на 532 нм. Величину неспецифического поглощения при 600 нм вычитали. Концентрацию MDA определяли в ммоль/л на 1 г сухого веса.

Определение активности каталазы. Активность каталазы (КАТ – КФ 1.11.1.6) определяли спектрофотометрическим методом, предложенным Rios - Gonzales *et al.* (2002).

Измерение оптической плотности при длине волны 240 нм проводили с использованием спектрофотометра Ultraspec 3300 Pro (Amersham USA). Ферментативную активность в единицах мкмол/мг * мин рассчитывали по формуле

$$A = \Delta OS \frac{V}{\epsilon \cdot b},$$

(где V – объем кюветы, ΔOS – оптическая плотность, ϵ – коэффициент экстинкции ($\epsilon = 39,4 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$), а b – объем экстракта фермента).

В контрольном варианте вместо ферментного экстракта использовали калий -фосфатный буферный раствор.

Всхожесть, т.е. количество семян, проросших в установленный срок, определяли для четырехдневных проростков, а некоторые биометрические параметры, уровень МДА и H_2O_2 и активность антиоксидантного фермента каталазы в листьях растения определяли для двухнедельных проростков.

Опыты проводили в трехкратной биологической и трехкратной аналитической повторности. Для оценки экспериментальных данных использовали параметрические методы статистики, а для оценки достоверности отличия экспериментальных данных от контроля применяли критерий Стьюдента (Lakin, 1990). Различия считали достоверными при $|t| > 2$ ($p < 0,05$).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Влияние предпосевной γ -обработки семян на биометрические показатели фасоли, произрастающей в условиях солевого стресса.

На рисунке 1 представлены двухнедельные проростки фасоли, произрастающие в 1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 мМ – ных растворах NaCl.

Для двухнедельных проростков фасоли по биометрическим показателям определены такие ростовые параметры, как высота растения, длина корней, площадь поверхности листьев, массы

зеленых проростков, корней и листьев. Результаты измерений представлены в таблице 1.

Сравнение показателей двух контрольных образцов показывает, что облучение семян перед посевом в стимулирующей развитие растения дозе (~10 Гр) не приводит к значительным изменениям биометрических показателей. При этом в случае облученных семян увеличение показателей в среднем составляет 20 – 30 % ($p < 0,05$).

Из результатов, представленных в таблице, видно, что NaCl, начиная с 10 мМ - ной концентрации, негативно влияет на ростовые параметры фасоли, произрастающей из необлученных семян. При этом высота растения, площадь поверхности листьев, зеленая масса заметно уменьшается. При больших концентрациях соли (больше 50 мМ) ингибирование роста было существенно, и по отдельным параметрам составляло примерно 80 %. А при концентрациях 200 и 300 мМ солевой раствор полностью подавляет развитие растений (поэтому в таблице отсутствуют данные при этих концентрациях).

Ростовые параметры растений, произрастающих в солевых условиях из предварительно обработанных γ -лучами семян в дозах 10 Гр, отличаются от тех, что для необлученных. При этом γ -облучение семян в дозе 10 Гр способствует развитию растений даже в таких неблагоприятных для развития условиях, когда концентрация NaCl составляет от 1 до 50 мМ. Увеличение высоты растений, длины корней, площади поверхности листьев, а также прибавка к весу зеленой массы по сравнению с необлученными были существенными при облучении семян в дозе 10 Гр. При дозе 10 Гр в солевых растворах с концентрациями NaCl 1, 5, 10 и 50 мМ увеличение высоты растения составляет примерно 55%. При этом вес зеленой массы и площадь поверхности листьев увеличивается на 37% и 13 %, соответственно.

Результаты наших исследований показали, что солевой стресс в зависимости от концентрации NaCl по-разному влияет на высоту растений, длину корней, площадь поверхности листьев и на зеленый вес фасоли. При этом гамма-облучение семян в дозе

10 Гр приводит к максимальному положительному эффекту на все анализируемые параметры роста.

2. Влияние предпосевного γ -излучения семян на параметры окислительного стресса в условиях солевого стресса.

Абиотические стрессовые условия, такие как засуха, жара или засоление негативно влияют на рост растений и снижают продуктивность сельскохозяйственных растений по всему миру (Mittler and Blumwald, 2010; Hu and Xiong, 2014). Чтобы удовлетворить требованию продовольственной безопасности перед лицом растущего населения мира и экологических проблем ученые предусматривают острую необходимость «второй зеленой революции» для повышения урожайности и стабильности урожая в неоптимальных и неблагоприятных условиях выращивания путем сочетания подходов, основанных на последние достижения в области геномных исследований (Zhang, 2007; Eckardt *et al.*, 2009).

Поэтому исследование молекулярного механизма стрессового воздействия, в частности изучение особенностей окислительного стресса, имеет как теоретическую, так и практическую значимость. Исходя из таких соображений, нами была сделана попытка исследовать влияние предпосевного γ -излучения семян на параметры окислительного стресса в условиях солевого стресса для фасоли.

Влияние предпосевного γ -излучения семян на содержание H_2O_2 в условиях солевого стресса. В последнее десятилетие H_2O_2 получил значительный интерес среди АФК и других свободных радикалов, полученных из кислорода. Показано, что образование H_2O_2 является результатом различных метаболических реакций, которые происходят в растительной клетке в нескольких компартментах (Hossain *et al.*, 2015). По всей вероятности, как образование, так и удаление H_2O_2 в клетках растений «запрограммированы» и несут ответственность за их «биологический эффект». При этом определенный интерес вызывает парадокс физиологии H_2O_2 , который заключается в ее противоположной

«деятельности», т.е. передача сигнала «тревоги» - при более низких концентрациях, и окислительное повреждение важных клеточных метаболитов - при более высоких концентрациях (Bhattacharjee, 2012).

Результаты по содержанию H_2O_2 в листьях фасоли, произрастающей в растворах соли при разных концентрациях NaCl, представлены на рисунке 2.

Как видно из результатов, в интервале концентрации соли 1 до 5 мМ не было существенной разницы между подверженными к солевому стрессу и контрольными растениями. Однако, начиная с 10 до 100 мМ, с увеличением концентрации соли уровень H_2O_2 заметно увеличивался. Отметим, что в этом случае растения произрастали из необлученных семян.

В случае произрастания облученных семян в растворе соли при разных концентрациях NaCl содержание H_2O_2 отличается как от его содержания для водных, так и для необлученных проростков.

В этом случае при малых концентрациях соли (1, 5 и 10 мМ) облучение семян при дозе 10 Гр приводит к заметному (~ 25 %) снижению уровня H_2O_2 ($p < 0,05$) по сравнению с необлученными образцами. Однако при концентрациях соли 50 и 100 мМ наблюдалось отчетливое увеличение уровней H_2O_2 на 44 и 75 %, соответственно в растениях, произрастающих из облученных семян при 10 Гр.

Эти результаты позволяют предположить, что облучение семян в дозе 10 Гр, в какой-то мере облегчает воздействие солевого стресса при относительно низких концентрациях NaCl.

Влияние предпосевного γ -излучения семян на содержание МДА в условиях солевого стресса. Результаты наших исследований показывают, что в контрольных группах не было значительных различий между необлученными и облученными при 10 Гр проростками в уровне МДА (Рис. 3).

Солевой стресс в проростках необлученных семян при всех концентрациях NaCl (от 1 до 100 мМ) приводит к увеличению уровня МДА, подобно увеличению содержания H_2O_2 . При этом с увеличением концентрации соли содержание МДА увеличивается значительно. Для проростков

необлученных семян увеличение содержания МДА составляет примерно 136, 166, 145, 127 и 147% ($p < 0,05$) для растений, растущих в 1, 5, 10, 50 100 мМ – ных солевых растворах, соответственно.

В случае предпосевного γ -облучения семян наблюдается иная картина. Облучение семян при дозе 10 Гр в слабоконцентрированных (1 и 5 мМ) растворах соли приводит к заметному уменьшению содержания МДА. Однако в высококонцентрированных (больше 10 мМ) солевых растворах сохраняется высокий уровень перекисного окисления липидов (т.е. высокий уровень МДА).

Исходя из этих результатов по содержанию H_2O_2 и MDA, можно прийти к выводу о том, что необлученные семена фасоли, произрастающие в условиях солевого раствора, подвергаются сильному окислительному стрессу, о чем свидетельствует заметное повышение уровня H_2O_2 и MDA по сравнению с семенами, произрастающими в водной среде. Однако γ -облучение семян в дозе 10 Гр способствует снижению окислительного стресса, вызванного низкоконцентрированным солевым стрессом. Ослабление солевого стресса подтверждается более низким уровнем как H_2O_2 , так и MDA в проростках облученных семян, по сравнению с необлученными.

Влияние предпосевного γ -излучения семян на активность каталазы в условиях солевого стресса. АФК включают в себя перекись водорода (H_2O_2), супероксид анионный радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), синглетный кислород (1O_2) и т. д. Как правило, содержание АФК находится под контролем системы антиоксидантной защиты, состоящей из ферментативных и неферментативных компонентов (You and Chan, 2015). В условиях абиотического и биотического стресса содержание АФК значительно увеличивается, что вызывает окислительное повреждение клеток. Иногда этот процесс, в конечном итоге, приводит к гибели клеток (Anjum *et al.*, 2015).

Каталаза (КАТ) является тетрамерным гемсодержащим ферментом со способностью превращать H_2O_2 на H_2O и O_2 и незаменим для детоксикации АФК в стрессовых условиях (Garg,

Manchanda, 2009). КАТ среди ферментов имеет самую высокую скорость превращения: одна молекула КАТ может конвертировать ~ 6 миллионов молекул H_2O_2 на H_2O и O_2 в минуту (Gill, Tuteja, 2010).

Изменение активности КАТ наблюдалось для разных растений при различных стрессовых воздействиях (Mobin, Khan, 2007; Khan *et al.*, 2007; Hasan *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2008). Показано, что при солевом стрессе, как в листьях, так и в корнях *C. arietinum* активность КАТ значительно увеличивается (Eyidogan, Oz, 2005; Kukreja *et al.*, 2005). Установлено, что в стрессовых условиях свинца/кадмия при определенных дозах γ -облучения активность каталазы в сеянцах значительно выше, чем у необлученных (Wang *et al.*, 2017).

Для того, чтобы понять роль γ -облучения в ослаблении окислительного стресса, индуцированного NaCl, нами была исследована также активность одного из основных антиоксидантных ферментов – каталазы.

Результаты по активности каталазы, представленные на рисунке 4, показывают, что нет существенной разницы между активностями этого фермента для контрольных растений, произрастающих как из необлученных, так и из облученных при дозе 10 Гр семян. Кроме того, для проростков необлученных семян увеличение концентрации соли с 1 мМ до 10 мМ не приводит к существенным изменениям активности каталазы. Увеличение ферментной активности наблюдается только при высоких концентрациях NaCl. Активность каталазы в 50 и 100 мМ –ных солевых растворах по сравнению с контрольным увеличивается примерно в 2 и 2,3 раза, соответственно.

Динамика концентрационно - зависимого изменения активности КАТ для проростков облученных семян отличается от динамики для проростков необлученных семян. Так как в случае облучения семян при дозе 10 Гр активность каталазы в листьях фасоли, произрастающей в слабоконцентрированных (1, 5, 10 мМ) солевых растворах, по сравнению с контролем увеличивается существенно (~ в 1.7 раза). Напомним, что в случае

необлученных семян при этих концентрациях соли активность каталазы почти не отличалась от активности контрольных образцов. Однако при высоких концентрациях соли (50 и 100 мМ) фермент,

как и в случае необлученных семян, проявляет наибольшую активность. При этом в 100 мМ –ном растворе NaCl активность каталазы примерно в 2.7 раза больше, чем в контрольном.

Table 1. Биометрические показатели двухнедельных проростков фасоли

Варианты		L _{раст.} (mm)	M _{раст.} (g)	L _{корен} (mm)	M _{корен} (g)	M _{лист.} (g)	S _{лист.} (mm ²)
C1	Необлученные	422	3,19	38	0,25	0,36	35 x 11
C2	Облученные в дозе 10 Гр	491	3,45	47	0,32	0,46	37 x 13
1 мМ	Необлученные	421	3,11	37	0,25	0,34	35 x 10
	Облученные в дозе 10Гр	551	3,64	73	0,37	0,47	35 x 11
5 мМ	Необлученные	411	2,52	35	0,21	0,34	34 x 10
	Облученные в дозе 10Гр	618	3,51	128	0,42	0,43	35 x 11
10 мМ	Необлученные	305	2,11	33	0,21	0,26	21 x 8
	Облученные в дозе 10Гр	531	3,37	134	0,43	0,46	22 x 8
50 мМ	Необлученные	242	1,85	29	0,17	0,21	12 x 6
	Облученные в дозе 10Гр	384	3,08	112	0,51	0,46	14 x 6
100 мМ	Необлученные	155	1,55	22	0,15	0,15	9 x 5
	Облученные в дозе 10Гр	151	2,0	31	0,31	0,04	9 x 6

C1 (контрольный образец 1) – соответствует проросткам, выращенным в обычной воде из необлученных семян, C2 (контрольный образец 2) – соответствует проросткам, выращенным в обычной воде из облученных при дозе 10 Гр семян.

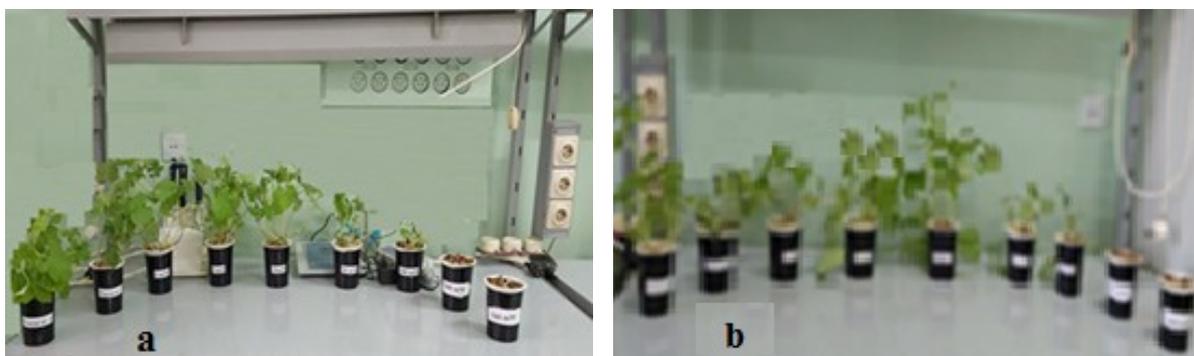


Figure 1. Двухнедельные проростки фасоли, произрастающие в 1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 мМ –ных растворах NaCl (а – необлученные семена, б – семена, облученные при дозе 10 Гр).

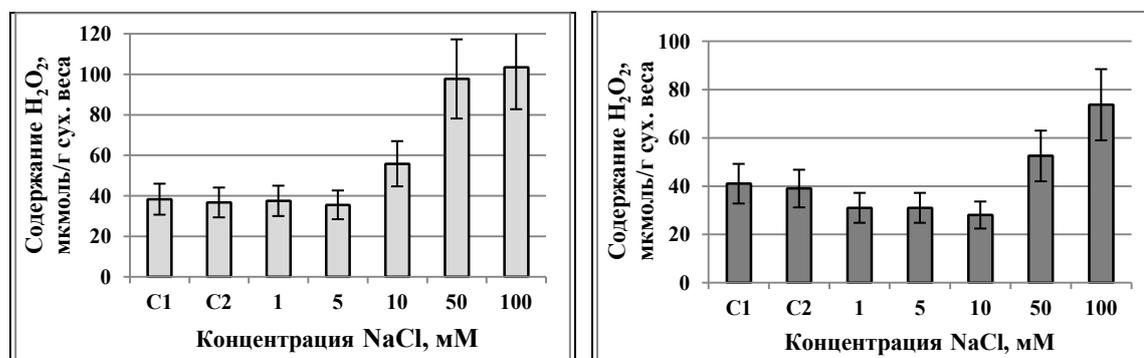


Figure 2. Содержанию H₂O₂ в листьях фасоли, произрастающей в растворах соли при разных концентрациях NaCl (серый фон – необлученные семена, черный фон –облученные семена при дозе 10 Гр).

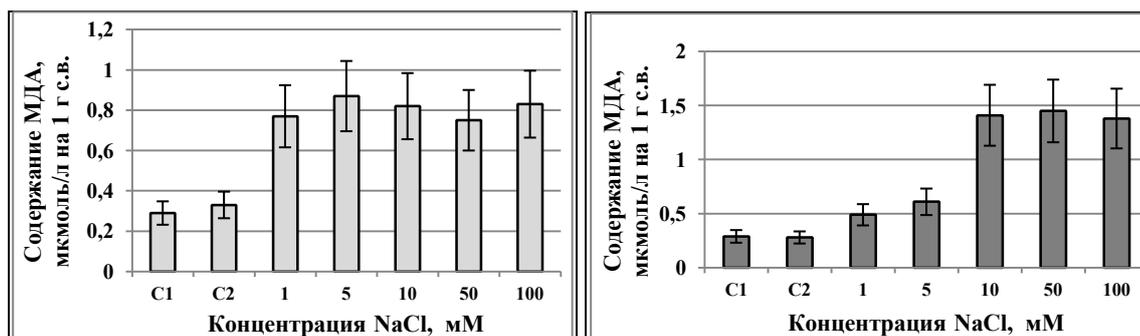


Figure 3. Содержание МДА в листьях фасоли, произрастающей в растворах соли при разных концентрациях NaCl (серый фон – необлученные семена, черный фон –облученные семена при дозе 10 Гр).

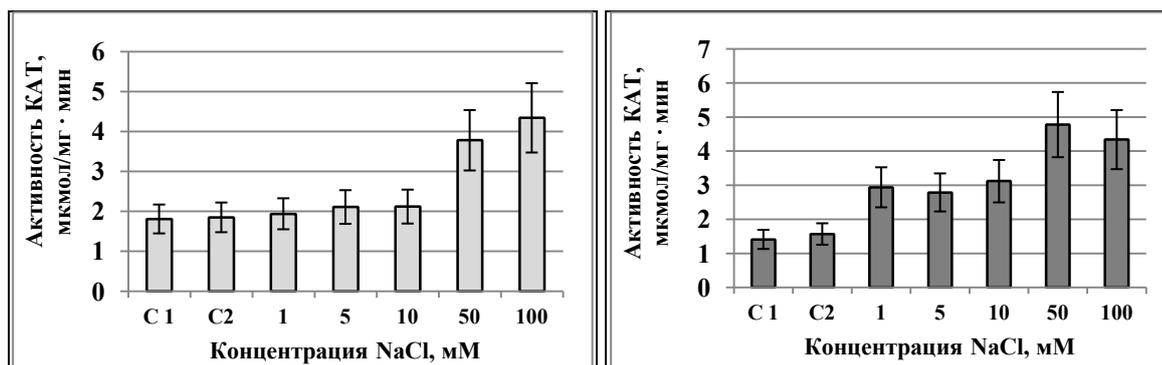


Figure 4. Активность КАТ в листьях фасоли, произрастающей в растворах соли при разных концентрациях NaCl (серый фон – необлученные семена, черный фон –облученные семена при дозе 10 Гр).

Результаты наших исследований показали, что предпосевное γ -облучение семян при дозе 10 Гр значительно увеличивает активность КАТ для фасоли, произрастающей в растворе соли с концентрациями от 1 до 10 мМ. При этом предварительная обработка семян никак не влияет на активность каталазы в сильно-концентрированных солевых растворах.

CONCLUSION

Подводя итог, можно прийти к выводу о том, что предпосевная γ -обработка семян в дозах 10 Гр способствует ослаблению окислительного стресса, вызванного NaCl при относительно небольших концентрациях соли, что отражается как в уменьшении содержания H_2O_2 и MDA, так в увеличении активности каталазы.

Итак, путем предварительной γ -обработки семян перед посевом в дозах 10 Гр можно повысить устойчивость фасоли к засолению при относительно небольших концентрациях (от 1 до 10 мМ) NaCl.

CONFLICTS OF INTEREST

All authors have declared that they do not have any conflict of interest for publishing this research.

REFERENCES

- Abo-Hamad S. A. E. H., Allah K. M. G. S. & Abo-Kassem E. E. D. M. (2013). Effect of gamma irradiation or potassium on some primary and secondary metabolites of *Brassica rapa* (L.) root under cadmium stress. *Int. Res. J. Agr. Sci. Soil Sci.* **3**, 408–415.
- Agarwal S. (2007). Increased antioxidant activity in Cassia seedlings under UV-B radiation, *Biol. Plant.* **51**, 157-160.
- Anjum, N.A., Sofo A., Scopa A. et al. (2015). Lipid sand proteins – major target s of oxidative modifications in abiotic stressed plants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 4099–4121.
- Bhattacharjee S. (2012). An inductive pulse of hydrogen peroxide pretreatment restores redox-homeostasis and mitigates oxidative membrane damage under extremes of temperature in two

- rice cultivars (*Oryzasativa* L., *Cultivars Ratna* and *SR26B*). *Plant Growth Regul.* **68**,395–410.
- Eckardt N.A., Cominelli E., Galbiati M., and Tonelli,C. (2009). The future of science: food and water for life. *Plant Cell.* **21**, 368–372. doi: 10.1105/tpc.109.066209.
- Eyidogan F., Oz M.T. (2005). Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiol. Plant.* **29**, 485-493.
- Garg N., Manchanda G. (2009). ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosys.* **143**, 81-96.
- Gill S. S., Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* **48**, 909-930.
- Hasan S.A., Hayat S., Ali B., Ahmad A. (2008). 28 - Homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants. *Environ. Pollut.* **151**, 60-66.
- Hirayama T. and Shinozaki K. (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J.* **61**, 1041–1052.
- Hossain M.A., Bhattacharjee S., Armin S.-M. et al. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in Plant Science.* **6**, 420.
- Hu H. and Xiong L. (2014). Genetic engineering and breeding of drought- resistant crops. *Annu. Rev.Plant Biol.* **65**, 715–741.
- Khan N.A., Samiullah Singh S., Nazar R. (2007). Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *J. Agro. Crop Sci.* **193**. 435-444.
- Koyro H.-W., Ahmad P., and Geissler N. (2012). Abiotic Stress Responses in Plants: An Overview. Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change (P. Ahmad and M.N.V. Prasad - eds.). Springer Science+Business Media, LLC. pp. 1-28.
- Kukreja S., Nandval A.S., Kumar N., Sharma S.K., Sharma S.K., Unvi V., Sharma P.K. (2005). Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biol. Plant.* **49**, 305-308.
- Lakin G.F. Biometry. M.: Nauka, 1990. 352 p.
- Miller G., Suzuki N., Ciftci - Yilmaz S. and Mittler R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* **33**, 453–467.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* **7**, 405–410.
- Mittler R. and Blumwald E. (2010). Genetic engineering for modern agriculture: challenge sand perspectives. *Annu. Rev.Plant Biol.* **61**, 443–462.
- Mobin M., Khan N.A. (2007). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* **164**, 601-610.
- Mohammed A. H., Mohamed H. I., Zaki L. M. & Mogazy A. M. (2012). Pre-exposure to gamma rays alleviates the harmful effect of salinity on cowpea plants. *J. Stress Physiol. Biochem.* **8**, 199–217.
- Moussa H.R. (2011). Low Dose of Gamma irradiation enhanced drought tolerance in soybean. *Acta Agronomica Hungarica.* **59(1)**, 1–12.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.* **95(2)**, 351-358.
- Pan Y., Wu L.J., Yu Z.L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regul.* **49**, 157-165.
- Qi W., Zhang L., Wang L., Xu H., Jin Q., Jiao Z. (2015). Pretreatment with low-dose gamma irradiation enhances tolerance to the stress of cadmium and lead in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Ecotoxicol. Envir. Saf.* **115**, 243–249.
- Rios-Gonzales K., Erdei L., Lips S.H. (2002). The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and

- different nitrogen sources. *Plant sci.* **162**, 923-930.
- Singh S., Khan N.A., Nazar R., Anjum N.A. (2008). Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress, *Am. J. Plant Physiol.* **3**, 25-32.
- Velikova V., Yordanov I. and Edreva A. (2000) Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Science*, **151**, 59-66.
- Wang X., Ma R., Cui D., Cao Q., Shan Zh. & Jiao Zh. (2017). Physio-biochemical and molecular mechanism underlying the enhanced heavy metal tolerance in highland barley seedlings pretreated with low-dose gamma irradiation. *Scientific REPORTS.* **7(14233)**, 1-14.
- You J. and Chan Z. (2015). ROS Regulation During Abiotic Stress Responses in Crop Plants. *Frontiers in Plant Science* | www.frontiersin.org. **6**, 1-16 (Article1092).
- Zhang Q. (2007). Strategies for developing Green Super Rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 16402–16409. doi: 10.1073/pnas. 0708013104.