

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Investigating the Antioxidant Response of the Cyanobacterium *Nostoc* sp. as a Biofertilizer under Polyethylene Glycol-Induced Osmotic Stress after Gamma Irradiation

E. Lamizadeh¹, A. Hassani¹ , M. Norzadeh Haddad² and H. Etesami³¹Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.²Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.³Department of Soil Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 03 Jun 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding Author:

Akbar Hassani

Email:

akbar.hassani@znu.ac.ir

Keywords:Biofertilizer, *Nostoc* sp., Gamma Irradiation, Reactive oxygen species, Superoxide dismutase, Peroxidase, Cross-tolerance.**Citation:**

Lamizadeh, E., Hassani, A., Norzadeh Haddad, M., & Etesami, H. (2026). Investigating the Antioxidant Response of the Cyanobacterium *Nostoc* sp. as a Biofertilizer under Polyethylene Glycol-Induced Osmotic Stress after Gamma Irradiation. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 57-67. Doi:10.22034/jrpsm.2026.584825.1117

Extended Abstract

Background and Objective: The cyanobacterium *Nostoc* sp. is recognized as a valuable biofertilizer in sustainable agriculture due to its capacity for nitrogen fixation, production of bioactive metabolites, and enhancement of soil fertility. However, soil osmotic stress is one of the most critical abiotic stresses that severely limits the growth and performance of these biofertilizers. A novel approach to improving stress tolerance involves the application of physical pre-treatments, such as gamma irradiation, to induce defense mechanisms and establish cross tolerance. The present study was designed to investigate the hypothesis that gamma irradiation can enhance the resistance of *Nostoc* sp. to osmotic stress through the proactive activation of its antioxidant system. To this end, changes in reactive oxygen species (ROS) levels and the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in response to the interaction between gamma irradiation and osmotic stress were evaluated.

Materials and Methods: The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications. The first factor consisted of gamma irradiation pretreatment at six dose levels (0, 20, 50, 100, 500, and 1000Gy), and the second factor was osmotic stress. ROS levels were quantified using fluorimetry and the DCFH-DA probe. SOD activity was determined based on the inhibition of nitro blue tetrazolium (NBT) reduction, while POD activity was assayed spectrophotometrically using pyrogallol as a substrate. Data were analyzed via two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at a significance level of $p \leq 0.01$.

Results: The results revealed that the main effects of gamma irradiation and osmotic stress, as well as their interaction, on all three biochemical parameters were significant at the $p \leq 0.01$ level. In nonirradiated samples, the application of osmotic stress led to a substantial increase in ROS levels (approximately 17-fold compared to the control) and a subsequent decline in SOD and POD activities at high osmotic stress levels. Conversely, prophylactic irradiation at moderate doses (50 and 100Gy) significantly prevented excessive ROS accumulation. The most notable finding was that in samples pre-treated with a 100Gy dose, SOD activity under stress conditions surged from 31.13 to 92.41 units (an approximate 3-fold increase), and POD activity escalated from 12.45 to 74.03 units (an approximate 6-fold increase). Although high irradiation doses (500 and 1000Gy) alone exhibited detrimental effects, when combined with osmotic stress, the samples pretreated with 100Gy demonstrated the optimal protective performance.

Conclusion: The findings of this study indicate that gamma irradiation at moderate doses (50 and 100Gy) can serve as an effective strategy to enhance osmotic stress resistance in the cyanobacterium *Nostoc* sp. This phenomenon is elucidated by the cross tolerance mechanism. Mild irradiation primes the cell to counteract the severe ROS accumulation induced by osmotic stress through the generation of a basal ROS level and the proactive activation of SOD and POD enzymes. In other words, irradiation triggers an "early warning system" and shifts the cellular tolerance threshold. These findings hold significant practical implications for the production of drought tolerant biofertilizers. Gamma pre-treatment can be implemented as a straightforward and cost effective industrial process to improve the efficacy of *Nostoc* sp. in saline soils, which comprise a substantial proportion of agricultural lands. Ultimately, this research provides a scientific foundation for the development of a new generation of irradiated biofertilizers capable of tolerating multiple environmental stresses.





دسترسی رایگان

مقاله پژوهشی

شماره شایا: ۳۰۴۱-۹۶۳۸

بررسی واکنش آنتی اکسیدانی سیانوباکتر *Nostoc sp.* به عنوان یک کود زیستی در تنش اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول پس از پر تودهی گاما

الهام لامی زاده^۱، اکبر حسنی^{۱*}، مهدی نورزاده حداد^۲، حسن اعتصامی^۳

^۱گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

^۲پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.

^۳گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۳

چکیده

مقدمه: سیانوباکتری *Nostoc sp.* به دلیل توانایی تثبیت نیتروژن، تولید متابولیت های زیست فعال و بهبود حاصلخیزی خاک، به عنوان یک کود زیستی ارزشمند در کشاورزی پایدار شناخته می شود. با این حال، تنش اسمزی خاک یکی از مهم ترین تنش های غیرزیستی است که رشد و عملکرد این کودهای زیستی را به شدت محدود می کند. یکی از رویکردهای نوین برای افزایش تحمل به تنش، استفاده از پیش تیمارهای فیزیکی نظیر پرتو تابی گاما به منظور القای مکانیسم های دفاعی و ایجاد تحمل متقاطع است. پژوهش حاضر با هدف بررسی این فرضیه طراحی شد که پرتو تابی گاما می تواند از طریق فعال سازی پیشگیرانه سیستم آنتی اکسیدانی، مقاومت *Nostoc sp.* را به تنش اسمزی افزایش دهد. بدین منظور، تغییرات سطح گونه های فعال اکسیژن (ROS) و فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) در پاسخ به اثر متقابل پرتو تابی گاما و تنش اسمزی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل پرتو تابی گاما در شش سطح دوز (۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به عنوان پیش تیمار و فاکتور دوم شامل تنش اسمزی بود. سطح ROS با روش فلوریمتری و پروب DCFH-DA اندازه گیری شد. فعالیت SOD بر اساس مهار احیای NBT و فعالیت POD با روش اسپکتروفتومتری و سوبسترای پیروگالول سنجیده شد. داده ها با آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون توکی در سطح معنی داری ۰/۰۱ تحلیل گردیدند.

یافته ها: نتایج نشان داد که اثر اصلی پرتو تابی، اثر اصلی تنش اسمزی و اثر متقابل آن ها بر هر سه شاخص بیوشیمیایی در سطح ۰/۰۱ معنی دار بودند. در نمونه های بدون پیش تیمار پرتو تابی، اعمال تنش اسمزی منجر به افزایش سطح ROS (تا حدود ۱۷ برابر شاهد) و متعاقب آن کاهش فعالیت SOD و POD در دوزهای بالای تنش اسمزی گردید. اما پرتو تابی پیش گیرانه با دوزهای متوسط (۵۰ و ۱۰۰ گری) به طور معنی داری از افزایش ROS جلوگیری کرد. قابل توجه ترین یافته آن بود که در نمونه های پیش تیمار شده با دوز ۱۰۰ گری، فعالیت SOD در شرایط وجود تنش از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ واحد افزایش یافت و فعالیت POD نیز از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ واحد رسید (افزایش حدود ۴/۹۴ برابری). دوزهای بالای پرتو تابی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به تنهایی اثرات مخربی داشتند، اما در ترکیب با تنش اسمزی، نمونه های پیش تیمار شده با دوز ۱۰۰ گری بهترین عملکرد حفاظتی را نشان دادند.

نتیجه گیری: یافته های این پژوهش نشان می دهد که پرتو تابی گاما با دوز (۵۰-۱۰۰ گری) می تواند به عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش مقاومت به تنش اسمزی در سیانوباکتری *Nostoc sp.* به کار رود. این پدیده از طریق مکانیسم تحمل متقاطع توجیه می شود. پرتو تابی خفیف با القای سطح پایه ROS و فعال سازی پیشگیرانه آنزیم های SOD و POD، سلول را برای مقابله با افزایش شدید ROS ناشی از تنش اسمزی آماده می کند. به عبارت دیگر، پرتو تابی «سیستم هشدار اولیه» را فعال کرده و آستانه تحمل سلول را جابه جا می سازد. این یافته پیامدهای عملی مهمی برای تولید کودهای زیستی مقاوم به خشکی دارد. پیش تیمار گاما می تواند به عنوان یک فرآیند صنعتی ساده و کم هزینه، کارایی *Nostoc sp.* را در خاک های شور که بخش قابل توجهی از اراضی کشاورزی را تشکیل می دهند، بهبود بخشد. این پژوهش پایه علمی برای توسعه نسل جدیدی از کودهای زیستی پرتو تابی شده با قابلیت تحمل به تنش های چندگانه محیطی فراهم می آورد.

نویسنده مسئول:

اکبر حسنی

ایمیل:

akbar.hassani@znu.ac.ir

واژه های کلیدی:

کود زیستی، *Nostoc sp.*، پرتو تابی گاما، گونه های فعال اکسیژن، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، تحمل متقاطع.

نحوه استناد:

لامی زاده، ا.، حسنی، ا.، نورزاده حداد، م.، اعتصامی، ح. (۱۴۰۵). بررسی واکنش آنتی اکسیدانی سیانوباکتر *Nostoc sp.* به عنوان یک کود زیستی در تنش اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول پس از پر تودهی گاما. مجله پژوهش در متابولیسم های گیاهی، دوره ۴، شماره ۱، صفحات: ۵۷-۶۷.
Doi:10.22034/jrpsm.2026.584825.1117

مقدمه

در سال‌های اخیر، کودهای زیستی مبتنی بر سیانوباکتری به‌عنوان راهکاری پایدار برای کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی نیتروژنه و ارتقای بهره‌وری کشاورزی مورد توجه فزاینده قرار گرفته‌اند (et al., 2023 Hassani and Nourzadeh Haddad, 2017; Rashid). در این میان، جنس *Nostoc sp.* به‌دلیل توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن، تولید متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال از جمله ترکیبات فنلی، اگزوپلی‌ساکاریدها و اسیدهای آمینه محافظ و نیز برخورداری از سازگاری فیزیولوژیک بالا، یکی از امیدبخش‌ترین گزینه‌ها برای توسعه کودهای زیستی مقاوم به تنش به شمار می‌رود. با وجود این، عملکرد این نوع کود زیستی در خاک‌های شور و رطوبت کم به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد؛ زیرا این تنش‌ها از طریق القای تنش اسمزی و افزایش بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^2)، موجب آسیب به غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA شده و در نهایت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول را مختل می‌سازد (Meeks and Elhai, 2002; Whitton and Potts, 2012).

تنش اسمزی، که به صورت تجربی از طریق پلی‌اتیلن گلیکول (PEG6000) شبیه‌سازی شده است، با به چالش کشیدن تورژسانس سلولی و هموستاز اسمزی، این چشم‌انداز را پیچیده‌تر می‌کند. با توجه به اینکه هر دو عامل استرس‌زا اغلب در مسیرهای سیگنالینگ مشابهی همگرا می‌شوند، مفهوم تحمل متقابل به عنوان یک حوزه کلیدی تحقیق پدیدار شده است. شواهد قانع‌کننده‌ای وجود دارد که پیش‌شرط بندی سیانوباکتری‌ها به عوامل استرس‌زای خاص می‌تواند آنها را برای تاب‌آوری بیشتر در برابر چالش‌های محیطی بعدی آماده کند. با وجود این بینش‌ها، اثرات تعاملی و هم‌افزایی تابش گاما و تنش اسمزی در نوستوک تا حد زیادی حل‌نشده باقی مانده است (Nadarajah, 2020; ukxel et al., 2025).

در همین راستا، یکی از رویکردهای نوین برای ارتقای تحمل موجودات زنده نسبت به تنش‌های محیطی، بهره‌گیری از پیش‌تیمارهای فیزیکی مانند پرتوتابی گاما است. پرتوتابی در دوزهای مناسب می‌تواند با ایجاد یک سطح پایه از ROS و فعال‌سازی پیش‌دستانه سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی، مکانیسم تحمل متقاطع (*cross-tolerance*) را القا کند (Gulcin, 2025). در این پدیده، مواجهه اولیه با یک تنش خفیف (پرتوتابی گاما) سلول را برای مقابله مؤثرتر با تنش‌های شدیدتر و از ماهیتی متفاوت مانند تنش اسمزی آماده می‌سازد (Mishra et al., 2023). به بیان دیگر، پرتوتابی می‌تواند همچون نوعی «واکسیناسیون متابولیک» عمل کند و از طریق تغییر در الگوی بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم ثانویه، آستانه تحمل سلولی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. این ویژگی، به‌ویژه در مورد کودهای زیستی که باید در شرایط

محیطی نامساعد عملکرد مؤثر خود را حفظ کنند، از اهمیت کاربردی ویژه‌ای برخوردار است (Kumar et al., 2024).

در یک پژوهش مشخص شد که پرتودهی UV-B باعث افزایش معنی‌دار تولید ROS در *Nostoc sphaeroides* شده و هم‌زمان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD^3) را به‌عنوان یک مکانیسم تطبیقی افزایش می‌دهد (Kaur et al., 2021)، همچنین تنش اسمزی القاشده توسط پلی‌اتیلن گلیکول (PEG^4) نیز اثر مشابهی بر فعالیت SOD داشت. نوستوک به‌دلیل انعطاف‌پذیری متابولیکی بالا، مدلی مناسب برای مطالعه مکانیسم‌های تحمل تنش اکسیداتیو در ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده است (Gupta Chatterjee et al. 2022; and Vyas, 2021). در یک مطالعه مشخص شد که ROS سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر تنش‌های فیزیکی و شیمیایی، یکی از شاخص‌های اولیه بروز تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Wang et al., 2023) در همین راستا، آنزیم پراکسیداز (POD^5) به عنوان یکی از اجزای کلیدی سیستم آنتی‌اکسیدانی در ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده شناخته می‌شود.

(Zhang et al., 2021). افزایش فعالیت آن پاسخی مستقیم به تجمع پراکسید هیدروژن محسوب می‌شود فعال‌سازی POD نقش مهمی در تحمل تنش‌های چندگانه در سیانوباکتری‌ها ایفا می‌کند (Pandy et al., 2022). همچنین در تحقیقی دیگر تنش اسمزی ناشی از PEG باعث افزایش هم‌زمان فعالیت SOD و POD در سیانوباکتری‌ها شده و این افزایش با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو همراه بوده است (Zhuang et al., 2024; Rahman et al., 2025). نتایج تحقیقات سایر محققان نشان داد که ترکیب تنش اسمزی با سایر تنش‌ها معمولاً اثرات تشدیدکننده‌ای بر شدت آسیب اکسیداتیو دارد (Saini Wang. et al., 2026; et al., 2026). علاوه بر این، تأیید شده است که ترکیب تنش‌های فیزیکی و اسمزی می‌تواند منجر به افزایش شدیدتر ROS نسبت به تنش‌های منفرد شود و این افزایش با تحریک هم‌زمان فعالیت SOD و POD همراه است (Cui et al., 2026; Rahman et al., 2025).

با وجود مطالعات انجام‌شده، بیشتر پژوهش‌های پیشین اثر پرتودهی و تنش اسمزی را به‌صورت جداگانه بررسی کرده‌اند و اطلاعات محدودی درخصوص اثرات هم‌زمان پرتوهای یون‌ساز (گاما) و تنش اسمزی القاشده توسط PEG6000 بر سیستم آنتی‌اکسیدانی نوستوک وجود دارد. علاوه بر این، بسیاری از یافته‌های موجود از مطالعات گیاهی اقتباس شده‌اند و نقش مسیرهای تنفسی و پاسخ‌های اختصاصی به انواع مختلف ROS در سیانوباکتری‌ها به‌طور کامل روشن نشده است. همچنین گزارش شده است که بررسی هم‌زمان ROS، SOD و POD می‌تواند دیدگاه جامع‌تری نسبت به سازوکارهای تنظیمی سیانوباکتری‌ها در شرایط تنش ترکیبی فراهم

⁴ Polyethylene Glycol⁵ Peroxidase² Reactive Oxygen Species³ Superoxide Dismutase

پس از اجرای تیمارها در زمان‌های از پیش تعیین شده، نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی پس از ۱۴ روز در مرحله رشد لگاریتمی برداشت شده و بلافاصله جهت اندازه‌گیری شاخص‌های تنش اکسیداتیو به کار رفتند. برای ارزیابی وضعیت تنش اکسیداتیو، میزان گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان شاخص اولیه القای تنش، و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مراحل بعدی اندازه‌گیری شد. گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی به عنوان شاخص اولیه پاسخ به استرس با استفاده از $2',7'$ -دی کلروفلورسین دی استات (DCFH-DA) اندازه‌گیری شدند. سلول‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی با ۲۰ میکرومولار DCFH-DA انکوبه شدند و فلورسانس به ترتیب در طول موج‌های تحریک و انتشار ۴۸۵ و ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سطوح ROS به صورت شدت فلورسانس نسبی بیان شدند (Wang H, and Joseph JA. 1999).

فعالیت SOD بر اساس روش مهار احیای نیتروبلو تترازولیوم (NBT^{6}) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات، متیونین، NBT، $EDTA^{7}$ و ریبوفلاوین بود. پس از شروع واکنش، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت SOD به صورت مقدار آنزیمی که باعث ۵۰٪ مهار احیای NBT می‌شود تعریف گردید.

محلول کاری سوپسترا با رقیق کردن ۱۰۰ میکرولیتر سوپسترای SOD تا ۲۰ میلی‌لیتر با بافر SOD 1X تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به صورت جداگانه نگهداری شد. نمونه‌ها تحت شرایط مشخص شده توسط کیت تجزیه و تحلیل شدند و جذب در طول موج سنجش توصیه شده توسط سازنده اندازه‌گیری شد. نمونه‌های شاهد و کنترل مناسب نیز اضافه شدند و فعالیت SOD از درجه مهار سیگنال محاسبه و پس از نرمال سازی به کل پروتئین محلول، به صورت U میلی گرم^{-۱} پروتئین بیان شد (Dhindsa et al., 1981).

فعالیت POD با استفاده از پیروگالول به عنوان سوپسترا در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار pH ۶ حاوی ۰/۵٪ (w/v) پیروگالول و ۰/۲۷٪ H_2O_2 (v/v) به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد ثبت شد. یک واحد فعالیت POD به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تولید ۱ میلی گرم پورپوروگالین در ۲۰ ثانیه تحت شرایط سنجش تعریف شد. غلظت پروتئین با روش برادفورد با استفاده از آلبومین به عنوان استاندارد تعیین شد.

(Chance and Maehly, 1955; Shannon et al., 1966) این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بیولوژیکی مستقل برای هر تیمار طراحی و اجرا شد. به منظور حصول اطمینان از دقت و تکرارپذیری نتایج، تمامی اندازه‌گیری‌ها تحت شرایط رشد کاملاً یکسان صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گردید.

آورد پرسش اساسی این پژوهش آن است که آیا سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر دوزهای افزایشی پرتو گاما پاسخی خطی دارد یا با آستانه‌های شکست ساختاری مواجه می‌شود؟ و مهم‌تر از آن، آیا القای تنش اسمزی پیشگیرانه با PEG6000 می‌تواند از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، مقاومت رادیولوژیک این سویه را پس از پرتو دهی ارتقا دهد؟ بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف کمی سازی میزان تولید ROS، ارزیابی پویایی فعالیت آنزیم‌های SOD و POD، و بررسی اثرات متقابل پرتو دهی گاما و تنش اسمزی در نوستوک طراحی و اجرا گردید.

با وجود پتانسیل بالای این رویکرد، تاکنون مطالعات محدودی به بررسی اثر پیش تیمار پرتوتابی گاما بر افزایش مقاومت سیانوباکتری‌ها پرداخته شده است و اطلاعات کمی در مورد اثرات هم زمان و مکانیسم تحمل متقاطع در *Nostoc sp.* وجود دارد. بنابراین پرسش اساسی مطرح در این تحقیق این است که آیا پرتوتابی با دوز مشخص می‌تواند با تعدیل سطح ROS و بهبود فعالیت آنزیم‌های SOD و POD، کارایی این ریز موجود را در شرایط تنش اسمزی حفظ کرده یا حتی افزایش دهد؟

مواد و روش‌ها

گونه *Nostoc sp.* (IBRC-M 50056) از مرکز ذخایر زیستی ایران (IBRC، ایران، البرز) تهیه و تحت شرایط استریل در محیط کشت BG11 نگهداری شد. محیط کشت حاوی ۱/۵ گرم $NaNO_3$ ، ۴۰ میلی گرم K_2HPO_4 ، ۷۵ میلی گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۳۶ میلی گرم $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ، ۶ میلی گرم اسید سیتریک، سیترات آمونیوم فریک، ۱ میلی گرم EDTA و محلول استاندارد عناصر کمیاب BG11 در هر لیتر بود. pH قبل از استریل کردن روی ۷/۶-۷/۱ تنظیم شد. کشت‌ها در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد تحت دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۵۰ تا ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه کشت داده شدند. هوادهی مداوم با استفاده از پمپ هوای آکواریوم برای حفظ شرایط کشت همگن انجام شد. محیط کشت قبل از استفاده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد اتوکلاو شد. هر فلاسک نشان دهنده یک تکرار بیولوژیکی بود و تمام تیمارها در سه تکرار انجام شد. در این پژوهش، اثر پرتو دهی گاما در شش سطح دوز (صفر، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) پس از اعمال تنش اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با غلظت ۱۰ درصد، بر میزان گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سیانوباکتری نوستوک بررسی گردید. به منظور مطالعه پاسخ سامانه آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر تنش‌های محیطی، نمونه‌ها در معرض تیمارهای یاد شده قرار گرفتند.

⁷ Ethylenediaminetetraacetic Acid

⁶ Nitro Blue Tetrazolium

همچنین اثر متقابل این دو عامل بر هر سه شاخص بیوشیمیایی شامل میزان گونه‌های فعال اکسیژن، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بوده است. مقادیر میانگین مربعات برای اثر متقابل پرتودهی و تنش اسمزی در هر سه شاخص به ترتیب ۸۸/۷۵ برای ROS، ۶۵/۲۲ برای SOD و ۴۸/۹۱ برای POD نسبت به اثرات اصلی، حاکی از آن است که پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی نوستوک به پرتودهی به شدت تحت تأثیر سطح تنش اسمزی قرار دارد و بالعکس. همچنین مقادیر میانگین مربعات خطا برای هر سه شاخص (۲/۱۴، ۱/۸۵ و ۱/۱۲) در مقایسه با میانگین مربعات تیمارها بسیار پایین‌تر است که بیانگر دقت و تکرارپذیری آزمایش بود.

جدول ۱- آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی اثر پرتودهی، PEG و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های بیوشیمیایی

Table 1- Two-way analysis of variance to examine the effect of irradiation, PEG, and their interaction on biochemical indices

منبع تغییرات (CV)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات ROS (MS)	میانگین مربعات SOD (MS)	میانگین مربعات POD (MS)
پرتودهی (Irradiation)	5	145.62**	85.41**	62.33**
تنش اسمزی (Osmotic stress)	1	210.34**	120.15**	95.80**
پرتودهی * تنش اسمزی (Irradiation * Osmotic stress)	5	88.75**	65.22**	48.91**
خطا (Error)	24	2.14	1.85	1.12



شکل ۲- رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده در محیط کشت BG11 و پلی‌اتیلن گلیکول پس از ۱۴ روز

Figure 2- Growth of irradiated cyanobacterium Nostoc in BG11 and polyethylene glycol culture medium after 14 days



شکل ۱- رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده در محیط کشت BG11 پس از ۱۴ روز

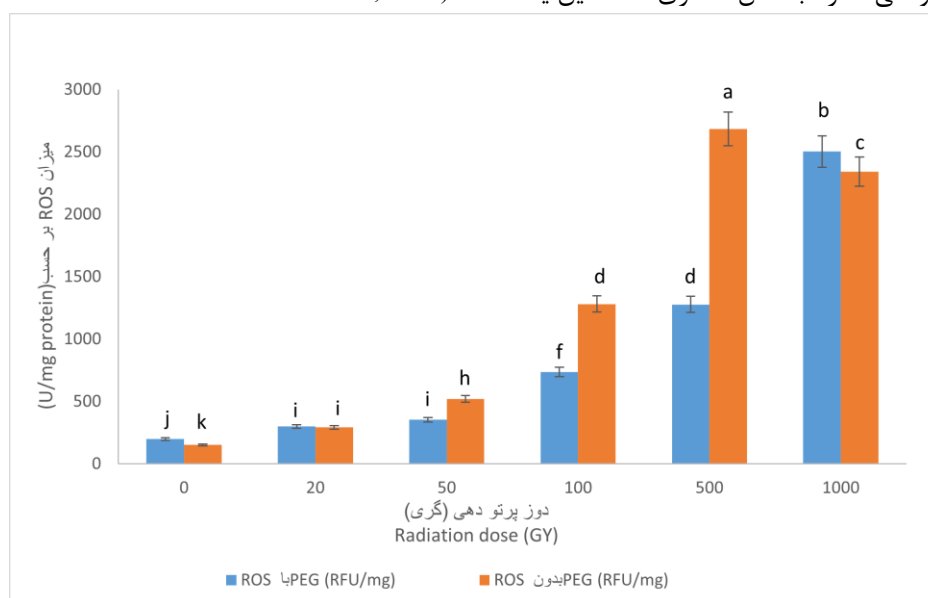
Figure 1- Growth of irradiated cyanobacterium Nostoc in BG11 culture medium after 14 days

نشان داد، به طوری که در دوز ۵۰۰ گری (بدون PEG) به بالاترین مقدار خود یعنی ۲۶۸۳/۶۸ رسید که نسبت به شاهد افزایشی حدود ۱۷/۸ برابری را نشان می‌دهد. در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG) سطح ROS اندکی کاهش یافت (۲۳۴۰/۱۸)، که احتمالاً بازتاب آسیب شدید به دستگاه فتوسنتزی و کاهش ظرفیت تولید ROS در اثر تخریب سلولی گسترده است. این الگوی افزایش-کاهش در انتهای

شکل ۱ و ۲ به ترتیب رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده (در دوزهای مختلف پرتوتابی) در محیط کشت BG11 و محیط کشت BG11 و پلی‌اتیلن گلیکول پس از ۱۴ روز را نشان می‌دهد. همان‌طور که در (شکل ۳) مشاهده می‌شود، سطح ROS در تیمار شاهد (بدون پرتودهی، بدون PEG) برابر با برابر با ۱۵۰/۸۶ واحد بود. با افزایش دوز پرتودهی، سطح ROS روند افزایشی معنی‌داری

بیانگر آن است که ظرفیت سازگاری نوستوک در برابر تنش‌های چندگانه محدود بوده و در شرایط تنش شدید، مکانیسم‌های دفاعی سلولی دچار ناکارآمدی می‌شوند (Shang *et al.*, 2025). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پرتودهی گامای نوستوک منجر به افزایش دوز-وابسته سطح ROS می‌شود. این یافته با مطالعات پیشین بر روی سیانوباکتری‌ها همخوانی دارد. به طوری که محققان گزارش کردند که پرتودهی UV-B باعث افزایش معنی‌دار ROS در گونه‌ای از نوستوک می‌شود که با مکانیسم آسیب به زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم‌ها مرتبط است (Singh, S *et al.*, 2024). همچنین در پژوهشی دیگر مشخص شد که پرتودهی گاما بر روی *Synechocystis* PCC6803 باعث اختلال در تعادل اکسایش-احیا سلولی و افزایش تولید سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود (Jantaro *et al.*, 2014).

طیف دوز، در شکل ۳ به‌وضوح قابل مشاهده است. حضور PEG6000 در تمامی سطوح پرتودهی موجب کاهش معنی‌دار سطح ROS گردید. این اثر در دوزهای بالا بارزتر بود؛ در دوز ۵۰۰ گری، حضور PEG سطح ROS را از ۲۶۸۳/۶۸ به ۱۲۷۷/۱۰ کاهش داد (کاهش ۵۲/۴٪)، و در دوز ۱۰۰۰ گری از ۲۳۴۰/۱۸ به ۲۵۰۲/۵۲ افزایش یافت که نشان می‌دهد در بالاترین دوز، PEG قادر به مهار کامل تولید ROS نبوده است. این الگو بیانگر آن است که پیش‌تیمار اسمزی با PEG تا آستانه‌ای مشخص می‌تواند از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، شدت تنش اکسیداتیو ناشی از پرتودهی را تعدیل کند. بطوریکه در دوز ۱۰۰۰ گری، تنش ترکیبی منجر به افزایش ROS نسبت به پرتودهی منفرد شد (۲۵۰۲/۵۲ در مقابل ۲۳۴۰/۱۸ RFU/mg protein)، که نشان‌دهنده فروپاشی سیستم‌های دفاعی در دوزهای بسیار بالای پرتودهی همراه با تنش اسمزی است. این یافته



شکل ۳- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح ROS (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

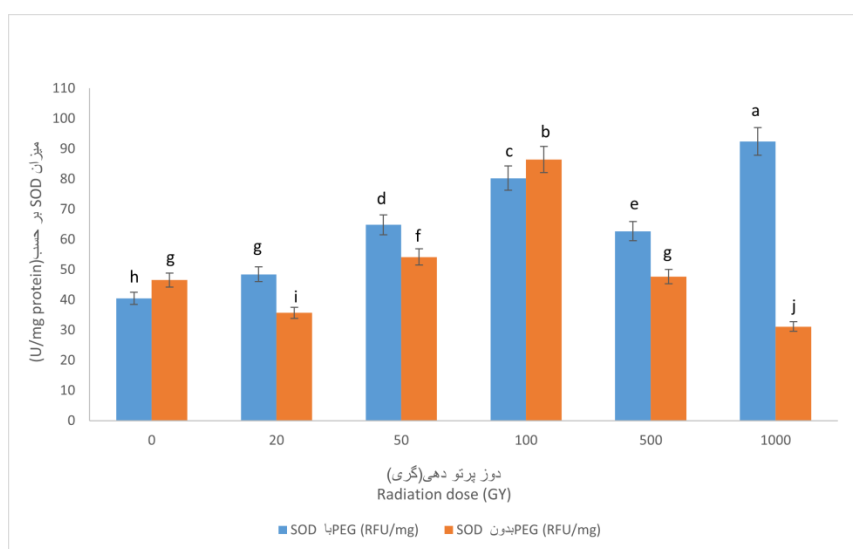
Figure 3 - Graph of the effect of irradiation on ROS levels (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

۳۱/۱۳ کاهش یافت که نشان‌دهنده تخریب پروتئین‌های آنزیمی در اثر پرتودهی حاد است. حضور PEG6000 تأثیر قابل توجهی بر فعالیت SOD داشت. در دوز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت SOD را از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ Umg^{-1} protein افزایش داد که بالاترین مقدار ثبت‌شده در کل آزمایش است. این یافته نشان می‌دهد که پیش‌تیمار اسمزی می‌تواند از طریق القای بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت SOD را حتی در شرایط پرتودهی حاد حفظ کند و با نتایج دیگر تحقیقات مرتبط همخوانی دارد (Mishra *et al.*, 2023). در دوز ۱۰۰ گری نیز حضور PEG فعالیت SOD را از ۸۶/۳۹

شکل ۴ روند تغییرات فعالیت SOD در پاسخ به دوزهای مختلف پرتودهی را به صورت الگویی دوفازی و غیرخطی نشان می‌دهد. بر این اساس فعالیت SOD در تیمار شاهد (بدون PEG) برابر با برابر با $46/56 \text{ Umg}^{-1}$ protein بود. با افزایش دوز پرتودهی، فعالیت این آنزیم ابتدا کاهش (دوز ۲۰ گری: ۳۵/۶۸) و سپس افزایش تدریجی نشان داد و در دوز ۱۰۰ گری به اوج خود رسید ($86/39 \pm 0/33$). این الگوی دوفازی نشان‌دهنده یک پاسخ تطابقی است که در آن سلول در دوزهای متوسط قادر به فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی است. با این حال، در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)، فعالیت SOD به

که تنش اسمزی با القای بیان ژن‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو، سلول را برای مقابله با تنش‌های ثانویه آماده می‌کند (Hossain *et al.*, 2013). همچنین گزارش شده است که در *Nostoc commune*، تنش اسمزی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌شود (Ehling *et al.*, 2002). در تمام دوزها بجز دوز ۱۰۰ گری، تنش ترکیبی منجر به افزایش SOD شده است که این را می‌توان به مکانیسم‌های احتمالی شامل فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی متقاطع (مسیرهای وابسته به کلسیم یا MAPK)، تثبیت پروتئین توسط PEG به‌عنوان اسموپروتکتانت، و تغییرات اپی‌ژنتیک است که بیان ژن‌های دفاعی را تقویت می‌کند مرتبط دانست (Wurzing *et al.*, 2011).

به ۸۰/۲۳ کاهش داد، که احتمالاً بازتاب تقسیم منابع سلولی بین پاسخ به دو تنش هم‌زمان است. این الگو با نتایج مطالعات انجام‌شده بر روی *Anabaena* و همچنین گونه‌های مختلف سیانوباکتری‌ها همخوانی دارد (Srivastava *et al.*, 2005; Latifi *et al.*, 2009). در تحقیقات مشابه نیز این نتایج تأیید شده است که بیان ژن‌های sodB (Mn-SOD) و sodC (Cu/Zn-SOD) به‌طور متفاوتی به تنش اکسیداتیو پاسخ می‌دهند که تغییرات پیچیده فعالیت کل SOD را توجیه می‌کند (Saed-Moucheshi *et al.*, 2021). کاهش اولیه SOD در ۲۰ گری احتمالاً ناشی از تأخیر در پاسخ سلولی، آسیب مستقیم به آنزیم، و اختلال در سنتز پروتئین است. افزایش در ۱۰۰ گری نشان‌دهنده فعال‌سازی کامل سیستم دفاعی است (Fedurayev *et al.*, 2018) در مطالعه‌ای بر روی *Anabaena sp.* نشان داده شد.



شکل ۴- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح SOD (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG.

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

Figure 4- Graph of the effect of irradiation on SOD levels (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

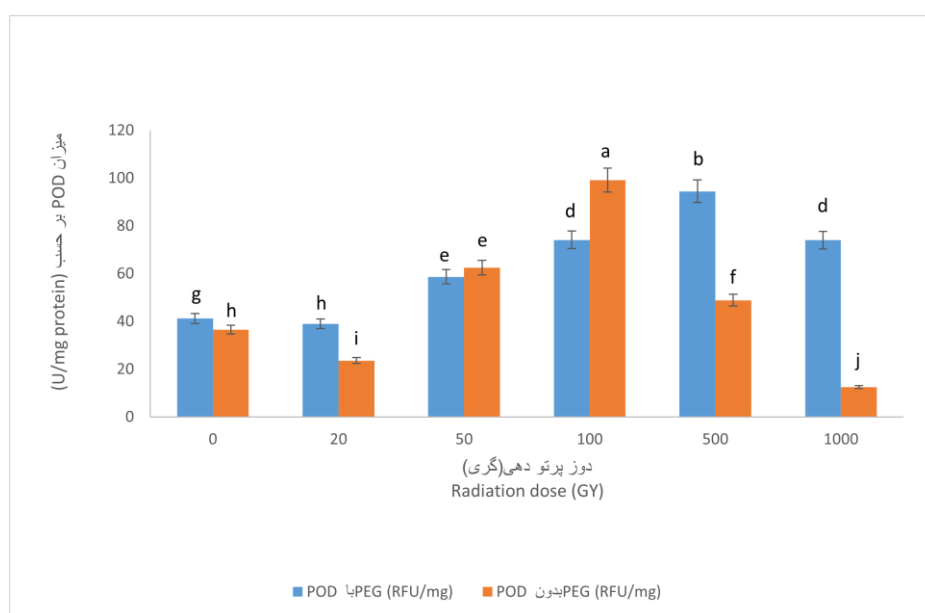
POD به شدت کاهش یافت (۱۲/۴۵) که پایین‌ترین مقدار در کل آزمایش است و نشان‌دهنده فروپاشی سیستم آنتی‌اکسیدانی در دوزهای حاد پرتودهی است. حضور PEG6000 در دوزهای بالا اثر محافظتی بارزی بر فعالیت POD داشت. در دوز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت POD را از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ Umg^{-1} افزایش داد (افزایش ۴/۹۴ برابری)، و در دوز ۵۰۰ گری از ۴۸/۸۳ به ۹۴/۴۴ رسید. این یافته‌ها به‌روشنی نشان می‌دهند که تنش اسمزی پیش‌گیرانه می‌تواند از تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر پرتودهی حاد جلوگیری کرده و ظرفیت دفاعی سلول را حفظ نماید.

روند تغییرات فعالیت POD در غیاب PEG، همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده، الگویی مشابه SOD اما با دامنه تغییرات متفاوت داشت. فعالیت POD در تیمار شاهد (بدون PEG) برابر با $36/53 \text{ Umg}^{-1}$ بود. روند تغییرات POD در غیاب PEG مشابه SOD بود؛ با افزایش دوز پرتودهی، فعالیت POD ابتدا کاهش (دوز ۲۰ گری: ۲۳/۵۸) و سپس افزایش یافت و در دوز ۱۰۰ گری به حداکثر مقدار خود رسید (۹۹/۱۶). این مقدار بیانگر فعال‌سازی شدید سیستم تجزیه پراکسید هیدروژن در پاسخ به تجمع ROS در دوزهای متوسط است. در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)، فعالیت

Nostoc muscorum نشان داده شد که فعالیت پراکسیداز در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف، از جمله تنش اکسیداتیو و اسمزی، افزایش می‌یابد و نقش کلیدی در حفظ تعادل اکسایش-احیا سلولی و محافظت از غشاهای سلولی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی دارد و فعالیت پراکسیداز (POD) در پاسخ به تنش‌های محیطی، الگوی وابسته به شدت و ترکیب تنش نشان داد (Farooqui et al., 2017). در شرایط پرتودهی منفرد با دوز حاد، کاهش معنی‌داری در فعالیت POD مشاهده شد که بیانگر فروپاشی ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول است، در مقابل، پیش تیمار با PEG6000 موجب حفظ و حتی افزایش فعالیت این آنزیم در همان دوز پرتودهی گردید؛ پدیده‌ای که از آن به عنوان تحمل متقاطع یاد می‌شود (Farooqui et al., 2017). این یافته با نتایج مربوط به نقش پیش تیمار اسمزی در فعال سازی پیشگیرانه مسیرهای دفاعی همخوانی دارد (Chieb and Gachomo, 2023) و شواهد تجربی مستقیمی برای فرضیه مربوط به برتری فیزیولوژیک سیانوباکتری‌ها در شرایط تنش چندگانه فراهم می‌آورد (Paerl and Paul, 2012).

(Lai et al., 2007). در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ سیستم آنتی اکسیدانی نوستوک به پرتودهی گاما خطی نیست و دارای آستانه‌های مشخص است. در دوزهای متوسط (۵۰-۱۰۰ گری)، سلول قادر به فعال سازی مؤثر SOD و POD در پاسخ به افزایش ROS است، در حالی که در دوزهای حاد (۵۰۰-۱۰۰۰ گری)، تجمع بیش از حد ROS منجر به تخریب آنزیم‌های دفاعی و فروپاشی سیستم آنتی اکسیدانی می‌شود. حضور PEG6000 به عنوان پیش تیمار اسمزی، این آستانه شکست را به سمت دوزهای بالاتر جابه‌جا کرد و از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، مقاومت رادیولوژیک نوستوک را به طور معنی‌داری ارتقا داد.

از مقایسه نتایج می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت POD الگوی دوفازی مشابه SOD داشته است به نحوی که کاهش در ۲۰ گری (۲۳/۵۸ U/mg protein)، کاهش ۳۵/۴٪، اوج در ۱۰۰ گری (۹۹/۱۶ protein)، افزایش ۱۷۱/۵٪، و کاهش شدید در ۱۰۰۰ گری (۱۲/۴۵ U/mg protein)، کاهش ۶۵/۹٪. این الگو با نقش POD در حذف H_2O_2 و سایر پراکسیدها سازگار است. در مطالعه‌ای بر روی



شکل ۵- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح POD (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

Figure 5 - Graph of the effect of irradiation on POD level (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

نشان داد که پاسخ این ریزجانداز به پرتودهی گاما غیرخطی و وابسته به دوز است. در دوزهای پایین تا متوسط (۲۰ تا ۱۰۰ گری)، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با فعال سازی مؤثر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) همراه بود که

نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، اثرات مستقل و متقابل پرتودهی گاما و تنش اسمزی ناشی از PEG6000 بر سیستم آنتی اکسیدانی سیانوباکتری *Nostoc sp.* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به وضوح

بهترین عملکرد محافظتی را نشان داد و به عنوان آستانه بهینه برای القای پاسخ‌های دفاعی بدون ایجاد آسیب غیرقابل جبران شناسایی شد. این یافته‌ها پیامدهای عملی مهمی در زمینه تولید کودهای زیستی مقاوم به تنش دارند. پیش‌تیمار گاما با دوز کنترل‌شده می‌تواند به عنوان یک راهکار کم‌هزینه و قابل اجرا در مقیاس صنعتی، کارایی *Nostoc sp.* را در شرایط تنش‌زای محیطی مانند خشکی بهبود بخشد. این پژوهش می‌تواند به عنوان یک مبانی علمی برای توسعه نسل جدیدی از کودهای زیستی پرتوانی‌شده با قابلیت تحمل به تنش‌های چندگانه قلمداد گردد.

منابع

- Arslan Yuksel, E., Yagci Ergul, S., Yuce, M., Aydin, M., Taspinar, M. S., & Agar, G. (2025). Naringenin Alleviates Drought Stress on Wheat by Regulating Physiological and Biochemical Systems and the Expression of Drought-Related Genes. *Journal of Crop Health*, 77(5), 143.
- Chance, B., and Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Chatterjee, P., Schafran, P., Li, F. W., and Meeks, J. C. (2022). Nostoc talks back: Temporal patterns of differential gene expression during establishment of anthoceros-nostoc symbiosis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(10), 917-932.
- Chieb, M., and Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC plant biology*, 23(1), 407.
- Cui, H., Sun, J., Tang, Y., and Wang, Y. (2026). Physiological Evaluation of Drought Resistance in Five Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Cultivars using PEG-induced Stress. *Legume Research-An International Journal*, 49(4), 593-598.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., and Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>
- Ehling-Schulz, M., Schulz, S., Wait, R., Görg, A., and Scherer, S. (2002). The UV-B stimulon of the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* comprises early shock proteins and late acclimation proteins. *Molecular Microbiology*, 46(3), 827-843.
- Farooqui, A., Suhail, S., and Zeeshan, M. (2017). Cadmium induced oxidative stress and biochemical responses in cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(1), 124-132.
- Fedoreyeva, L. I. (2024). ROS as signaling molecules to initiate the process of plant acclimatization to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 11820.
- Fedurayev, P. V., Mironov, K. S., Gabrielyan, D. A., Bedbenov, V. S., Zorina, A. A., Shumskaya, M., & Los, D. A. (2018). Hydrogen peroxide participates in perception and بیانگر توانایی سلول در حفظ تعادل اکسایش-احیا و القای پاسخ تطابقی است. در مقابل، دوزهای بالای پرتودهی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به دلیل تولید بیش از حد ROS و ناتوانی سیستم دفاعی در مهار تنش اکسیداتیو، منجر به فروپاشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش معنی‌دار رشد گردید. از مهم‌ترین یافته‌های این تحقیق، اثبات پدیده تحمل متقاطع در *Nostoc sp.* است. اعمال پیش‌تیمار اسمزی PEG6000، نه تنها سطح ROS را در دوزهای بالای پرتودهی به‌طور معنی‌داری کاهش داد، بلکه توانست فعالیت آنزیم‌های SOD و POD را تا سطحی بالاتر از نمونه‌های بدون پیش‌تیمار حفظ و حتی افزایش دهد. این امر نشان می‌دهد که القای یک تنش خفیف (اسمزی) می‌تواند سلول را برای مقابله مؤثرتر با تنش بیشتر (پرتودهی) آماده سازد. به طور کلی، دوز ۱۰۰ گری در ترکیب با پیش‌تیمار اسمزی، transduction of cold stress signal in *Synechocystis*. *Plant and Cell Physiology*, 59(6), 1255-1264.
- Gupta, V., and Vyas, D. (2021). Antimicrobial effect of a cyclic peptide Nostophycin isolated from wastewater cyanobacteria, *Nostoc calcicola*. *Curr. Bot*, 12, 94-101.
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of toxicology*, 99(5), 1893-1997.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... and Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasani, A., & Nouzadeh Haddad, M. (2017). Effect of ammonium nitrate and free amino acids on the nitrate accumulation in radish. *Water and Soil Science*, 26(4.1), 67-78.
- Hossain, M. A., Bhattacharjee, S., Armin, S. M., Qian, P., Xin, W., Li, H. Y., Burritt, D. J., Fujita, M., and Tran, L. S. P. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: Insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in Plant Science*, 6, 420. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00420>
- Hossain, M. S., and Okino, T. (2024). Cyanoremediation of heavy metals (As (v), Cd (ii), Cr (vi), Pb (ii)) by live cyanobacteria (*Anabaena variabilis*, and *Synechocystis* sp.): an eco-sustainable technology. *RSC advances*, 14(15), 10452-10463.
- Jain, S., Prajapat, G., Abrar, M., Ledwani, L., Singh, A., and Agrawal, A. (2017). Cyanobacteria as efficient producers of mycosporine-like amino acids. *Journal of Basic Microbiology*, 57(9), 715-727.
- Jantaro, S., Baebprasert, W., Piyamawadee, C., Sodsua, O., and Incharoensakdi, A. (2014). Exogenous spermidine alleviates UV-induced growth inhibition of *Synechocystis* sp. PCC 6803 via reduction of hydrogen peroxide and malonaldehyde levels. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(5), 1145-1156.
- Kaur, H., Chakraborty, N., Juglan, K. C., and Kumar, H. (2021). Volumetric and acoustic behavior of PEG-200 and PEG-600 in aqueous d-mannitol solutions at different temperatures. *Journal of Solution Chemistry*, 50(8), 1079-1102.
- Kumar, T., Wang, J. G., Xu, C. H., Lu, X., Mao, J., Lin, X.

- Q., ... & Liu, H. B. (2024). Genetic engineering for enhancing sugarcane tolerance to biotic and abiotic stresses. *Plants*, 13(13), 1739.
- Lai, Q. X., Bao, Z. Y., Zhu, Z. J., Qian, Q. Q., & Mao, B. Z. (2007). Effects of osmotic stress on antioxidant enzymes activities in leaf discs of PSAG12-IPT modified gerbera. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8(7), 458-464.
- Latifi, A., Ruiz, M., and Zhang, C. C. (2009). Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 33(2), 258-278.
- Meeks, J. C., and Elhai, J. (2002). Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(1), 94-121.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
- Nadarajah, K. K. (2020). ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5208.
- Pandey, N., Patel, A., Tiwari, S., and Prasad, S. M. (2022). Differential response of copper nanoparticles and ionic copper on growth, chlorophyll fluorescence, oxidative stress, and antioxidant machinery of two paddy field cyanobacteria. *Ecotoxicology*, 31(6), 933-947.
- Paerl, H. W., and Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research*, 46(5), 1349-1363.
- Potts, M. (1994). Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological reviews*, 58(4), 755-805.
- Rahman, M. A., Khatun, M. T., Mim, A. K., Khandocar, M. P., Rahman, A., Hasan, M. H., ... and Islam, M. S. (2025). Oxidative stress in DNA damage and neurodegenerative diseases: unveiling the mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-20.
- Rashid, A., Schutte, B. J., Ulery, A., Deyholos, M. K., Sanogo, S., Lehnhoff, E. A., & Beck, L. (2023). Heavy metal contamination in agricultural soil: environmental pollutants affecting crop health. *Agronomy*, 13(6), 1521.
- Rao, M. J., Duan, M., Zhou, C., Jiao, J., Cheng, P., Yang, L., ... & Zheng, B. (2025). Antioxidant defense system in plants: reactive oxygen species production, signaling, and scavenging during abiotic stress-induced oxidative damage. *Horticulturae*, 11(5), 477.
- Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., Fasihfar, E., Baniasadi, F., Riasat, M., & Mozafari, A. A. (2021). Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. *BMC plant biology*, 21(1), 148.
- Saini, S., Sharma, P., Pooja, P., Thakur, R., and Sharma, A. (2026). Unveiling the effective role of nitric oxide on seed germination and early seedling growth of lentil (*Vicia lens* (L.) Coss. and Germ.) under PEG-induced drought stress. *Biologia*, 81(3), 73.
- Sha, W., Cai, F., Li, Y., Wang, Y., Liu, C., Wang, R., and Gao, P. (2021). Biomarker responses and histological damage in the gill, liver, and gonad of *Cyprinus carpio* with benzo (a) pyrene exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(43), 61290-61301.
- Shang, J. L., Xie, Y. X., Shi, L. Y., Diao, S. R., & Guan, J. Y. (2025). Molecular mechanisms of *Nostoc* flagelliforme environmental adaptation: A comprehensive review. *Plants*, 14(11), 1582.
- Shannon, L. M., Kay, E., and Lew, J. Y. (1966). Peroxidase isozymes from horseradish roots. *Journal of Biological Chemistry*, 241(9), 2166-2172. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96680-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96680-3)
- Singh, A. P., Gupta, A., Singh, P. R., Jaiswal, J., and Sinha, R. P. (2024). Synergistic effects of salt and ultraviolet radiation on the rice-field cyanobacterium *Nostochopsis lobatus* HKAR-21. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 23(2), 285-302.
- Singh, S. P., Häder, D. P., and Sinha, R. P. (2010). Cyanobacteria and ultraviolet radiation (UVR) stress: Mitigation strategies. *Ageing Research Reviews*, 9(2), 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.05.004>
- Srivastava, A. K., Bhargava, P., and Rai, L. C. (2005). Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. *World journal of microbiology and biotechnology*, 21(6), 1291-1298.
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., and Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), 523-539.
- Wang, H., and Joseph, J. A. (1999). Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(5-6), 612-616. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00107-0)
- Wang, L., Yang, T., Pan, Y., Shi, L., Jin, Y., and Huang, X. (2023). The metabolism of reactive oxygen species and their effects on lipid biosynthesis of microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 11041.
- Wang, S., Pan, Z., He, S., Cheng, C., Wu, L., She, Y., ... and Xie, L. (2026). Adaptation strategies of cyanobacteria under trace tetracycline stress: a comparative study of toxigenic and non-toxigenic strains. Available at SSRN 6758165.
- Whitton, B. A., and Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time* (pp. 1-13). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Wright, D. J., Smith, S. C., Joardar, V., Scherer, S., Jervis, J., Warren, A., ... and Potts, M. (2005). UV irradiation and desiccation modulate the three-dimensional extracellular matrix of *Nostoc commune* (Cyanobacteria). *Journal of Biological Chemistry*, 280(48), 40271-40281.
- Wurzinger, B., Mair, A., Pfister, B., & Teige, M. (2011). Cross-talk of calcium-dependent protein kinase and MAP kinase signaling. *Plant signaling & behavior*, 6(1), 8-12.
- Zhang, K., Zhang, Y., Sun, J., Meng, J., and Tao, J. (2021). Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 475-485.
- Zhuang, Z., Li, J., Shen, P., Zhao, Z., and Tang, B. Z. (2024). Exploring and leveraging aggregation effects on

reactive oxygen species generation in photodynamic therapy. *Aggregate*, 5(4), e540.