

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. Nourzadeh 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., Nourzadeh 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 by 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.





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^{۲*}، 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 پرتوتابی گاما به منظور القای مکانیسم های دفاعی و ایجاد تحمل متقاطع است. پژوهش حاضر با هدف بررسی این فرضیه طراحی شد که پرتوتابی 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 پرتوتابی 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 پرتوتابی گاما در شش سطح دز (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 پرتوتابی، 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 پرتوتابی، اعمال تنش اسمزی منجر به افزایش سطح ROS (تا حدود ۱۷ برابر شاهد) و متعاقب آن کاهش فعالیت SOD و POD در دزهای بالای تنش اسمزی گردید. اما پرتوتابی پیش گیرانه با دزهای 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 دز ۱۰۰۰ گری، فعالیت SOD در شرایط وجود تنش از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ واحد افزایش یافت (افزایش حدود ۳ برابری) و فعالیت POD نیز از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ واحد رسید (افزایش حدود ۶ برابری). دزهای بالای پرتوتابی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به تنهایی اثرات مخربی داشتند، اما در ترکیب با تنش اسمزی، نمونه های پیش تیمار شده با دز ۱۰۰ گری بهترین عملکرد حفاظتی را نشان دادند.

نتیجه گیری: یافته های این پژوهش نشان می دهد که پرتوتابی گاما با دز ۵۰ و 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. پرتوتابی 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، پرتوتابی «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 پرتوتابی 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.*، پرتوتابی 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 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، اگزولی ساکاریدها 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; Lamizadeh et al., 2026).

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; ukse 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 دزهای 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 تنشی 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 تطابقی 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; Mohajel Kazemi et al., 2026) (and Vyas, 2021).

در یک مطالعه مشخص شد که ROS در 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) و 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 (Wang. et Saini et al., 2026; Mohajel Shaja et al., 2025; 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 (Rahman et al., 2025; Cui et al., 2026).

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

⁴ Polyethylene Glycol⁵ Peroxidase² Reactive Oxygen Species³ Superoxide Dismutase

آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر تنش های محیطی، نمونه ها در معرض تیمارهای یادشده قرار گرفتند. پس از اجرای تیمارها در زمان های از پیش تعیین شده، نمونه ها برای انجام آزمایش های بیوشیمیایی پس از ۱۴ روز در مرحله رشد لگاریتمی برداشت شده و بلافاصله جهت اندازه گیری شاخص های تنش اکسیداتیو به کار رفتند. برای ارزیابی وضعیت تنش اکسیداتیو، میزان گونه های فعال اکسیژن به عنوان شاخص اولیه القای تنش، و نیز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مراحل بعدی اندازه گیری شد.

گونه های فعال اکسیژن درون سلولی به عنوان شاخص اولیه پاسخ به استرس با استفاده از ۲،۷-دی کلروفلورسین دی استات (DCFH-DA) اندازه گیری شدند. سلول ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی با ۲۰ میکرومولار DCFH-DA انکوبه شدند و فلورسانس به ترتیب در طول موج های تحریک و انتشار ۴۸۵ و ۵۳۵ نانومتر اندازه گیری شد. سطوح ROS به صورت شدت فلورسانس نسبی بیان شدند (Wang and Joseph, 1999).

فعالیت SOD بر اساس روش مهار احیای نیتروبلو تترازولیوم (NBT^۶) اندازه گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات، متیونین، NBT، EDTA^۷ و ریبوفلاوین بود. پس از شروع واکنش، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند. جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت SOD به صورت مقدار آنزیمی که باعث ۵۰٪ مهار احیای NBT می شود تعریف گردید.

محلول کاری سوبسترا با رقیق کردن ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای SOD تا ۲۰ میلی لیتر با بافر 1X SOD تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به صورت جداگانه نگهداری شد. نمونه ها تحت شرایط مشخص شده توسط کیت تجزیه و تحلیل شدند و جذب در طول موج سنجش توصیه شده توسط سازنده اندازه گیری شد. نمونه های 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 سوبسترا در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار pH ۶ حاوی ۰/۵٪ (w/v) پیروگالول و ۰/۰۲۷٪ (v/v) H₂O₂ به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری 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 اندازه گیری ها

ROS، SOD و POD می تواند دیدگاه جامع تری نسبت به سازوکارهای تنظیمی سیانوباکتری ها در شرایط تنش ترکیبی فراهم آورد. پرسش اساسی این پژوهش آن است که آیا سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر دزهای افزایشی پرتو گاما پاسخی خطی دارد یا با آستانه های شکست ساختاری مواجه می شود؟ و مهم تر از آن، آیا القای تنش اسمزی پیشگیرانه با PEG6000 می تواند 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 آنزیم های 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 سیانوباکتری ها پرداخته 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 دز مشخص می تواند با تعدیل سطح ROS و بهبود فعالیت آنزیم های SOD و POD، کارایی این ریزموجود را در شرایط تنش اسمزی حفظ کرده یا حتی افزایش دهد؟

مواد و روش ها

گونه *Nostoc sp.* (IBRC-M 50056) از مرکز ذخایر زیستی ایران (IBRC، ایران، البرز) تهیه و تحت شرایط استریل در محیط کشت BG-11 نگهداری شد. محیط کشت حاوی ۱/۵ گرم NaNO₃، ۴۰ میلی گرم K₂HPO₄، ۷۵ میلی گرم MgSO₄·7H₂O، ۳۶ میلی گرم CaCl₂·2H₂O، ۶ میلی گرم اسید سیتریک، سیترات آمونیوم فریک، ۱ میلی گرم EDTA و محلول استاندارد عناصر کمیاب BG-11 در هر لیتر بود. pH قبل از استریل کردن روی ۷/۶-۷/۱ تنظیم شد. کشت ها در دمای ۳۰-۲۵ 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 دز (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 گونه های فعال اکسیژن و فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سیانوباکتری نوستوک بررسی گردید. به منظور مطالعه پاسخ سامانه

⁷ Ethylenediaminetetraacetic Acid

⁶ Nitro Blue Tetrazolium

اثرات اصلی پرتودهی گاما و تنش اسمزی ناشی از PEG6000 و 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 (۱/۸۵، ۲/۱۴ 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

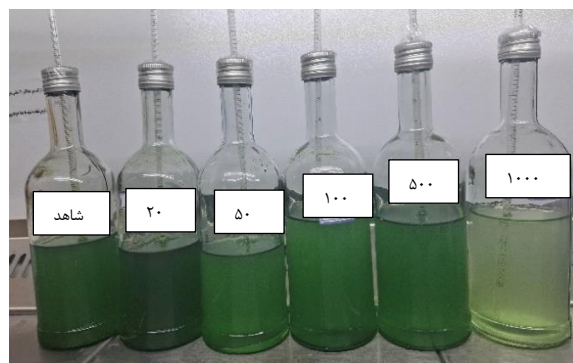
Table 1- Two-way analysis of variance to examine the effect of irradiation, PEG, and their interaction on biochemical indices

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

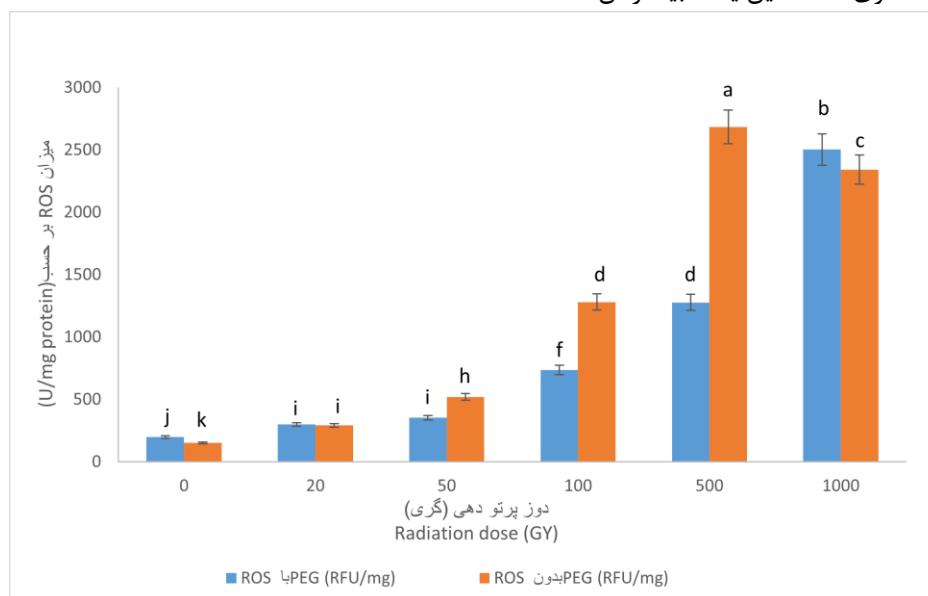
Figure 1- Growth of irradiated cyanobacterium Nostoc in BG11 culture medium after 14 days

به‌طوری که در دُز 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 دُز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG) سطح ROS اندکی کاهش یافت (۲۳۴۰/۱۷)، 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 طیف دُز،

شکل ۱ و ۲ به ترتیب رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده (در دُزهای مختلف پرتوتابی) در محیط کشت BG-11 و محیط کشت BG-11 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 ۱۵۰/۸۶ واحد بود. با افزایش دُز پرتودهی، سطح ROS روند افزایشی معنی‌داری نشان داد،

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 دُز-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 sp.* PCC6803 باعث اختلال در تعادل اکسایش-احیا سلولی و افزایش تولید سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود (Jantaro *et al.*, 2014).

در شکل ۳ به وضوح قابل مشاهده است. حضور PEG6000 در تمامی سطوح پرتودهی موجب کاهش معنی‌دار سطح ROS گردید. این اثر در دُزهای بالا بارزتر بود؛ در دُز ۵۰۰ گری، حضور PEG سطح ROS را از ۲۶۸۳/۶۸ به ۱۲۷۷/۱۰ کاهش داد (کاهش ۵۲/۴٪)، و در دُز ۱۰۰۰ گری از ۲۳۴۰/۱۷ به ۲۵۰۲/۵۲ افزایش یافت که نشان می‌دهد در بالاترین دُز، 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 دُز ۱۰۰۰ گری، تنش ترکیبی منجر به افزایش ROS نسبت به پرتودهی منفرد شد (۲۵۰۲/۵۲ در مقابل ۲۳۴۰/۱۷ RFU/mg protein)، که نشان‌دهنده فروپاشی سیستم‌های دفاعی در دُزهای بسیار بالای پرتودهی همراه با تنش اسمزی است. این یافته بیانگر آن است که



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.

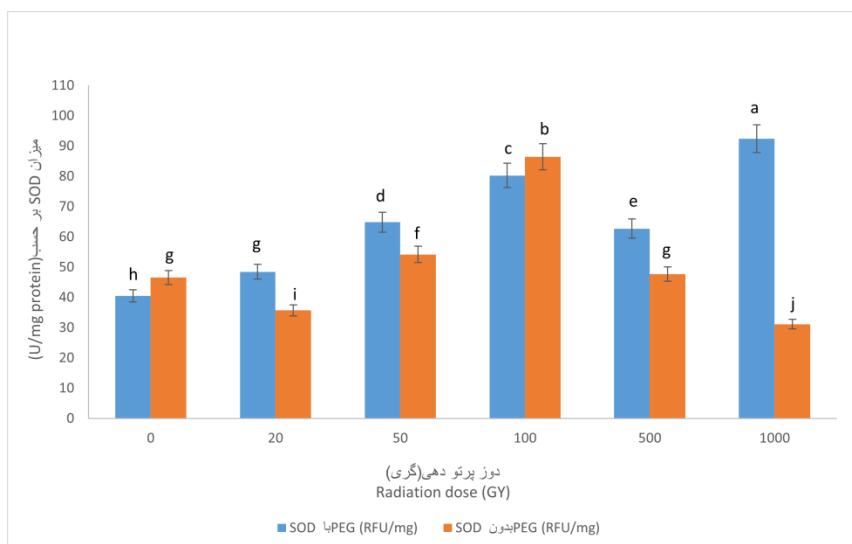
Figure 3 - Graph of the effect of irradiation on ROS levels (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

فعالیت SOD به ۳۱/۱۳ کاهش یافت که نشان‌دهنده تخریب پروتئین‌های آنزیمی در اثر پرتودهی حاد است. حضور PEG6000 تأثیر قابل توجهی بر فعالیت SOD داشت. در دُز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت SOD را از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ RFU/mg 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 دُز ۱۰۰ گری نیز حضور PEG فعالیت

شکل ۴ روند تغییرات فعالیت SOD در پاسخ به دُزهای مختلف پرتودهی را به صورت الگوی دوفازی و غیرخطی نشان می‌دهد. بر این اساس فعالیت SOD در تیمار شاهد (بدون PEG) برابر با ۴۶/۵۶ RFU/mg protein بود. با افزایش دُز پرتودهی، فعالیت این آنزیم ابتدا کاهش (دُز ۲۰ گری: ۳۵/۶۸ RFU/mg protein) و سپس افزایش تدریجی نشان داد و در دُز ۱۰۰ گری به اوج خود رسید (۸۶/۳۹ $\pm$ ۰/۳۳). این الگوی دوفازی نشان‌دهنده یک پاسخ تطابقی است که در آن سلول در دُزهای متوسط قادر به فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی است. با این حال، در دُز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)،

Anabaena sp. روی (Fedurayev *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای بر روی نشان داده شد 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 دُزها بجز دُز 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 مرتبط دانست که بیان ژن‌های دفاعی را تقویت می‌کند (Wurzinger *et al.*, 2011).

SOD را از ۸۶/۳۹ به ۸۰/۲۳ RFU/mg protein کاهش داد، که احتمالاً بازتاب تقسیم منابع سلولی در 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، همچنین افزایش در سطح ۱۰۰ گری نشان‌دهنده فعال‌سازی کامل سیستم دفاعی می‌باشد.



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.

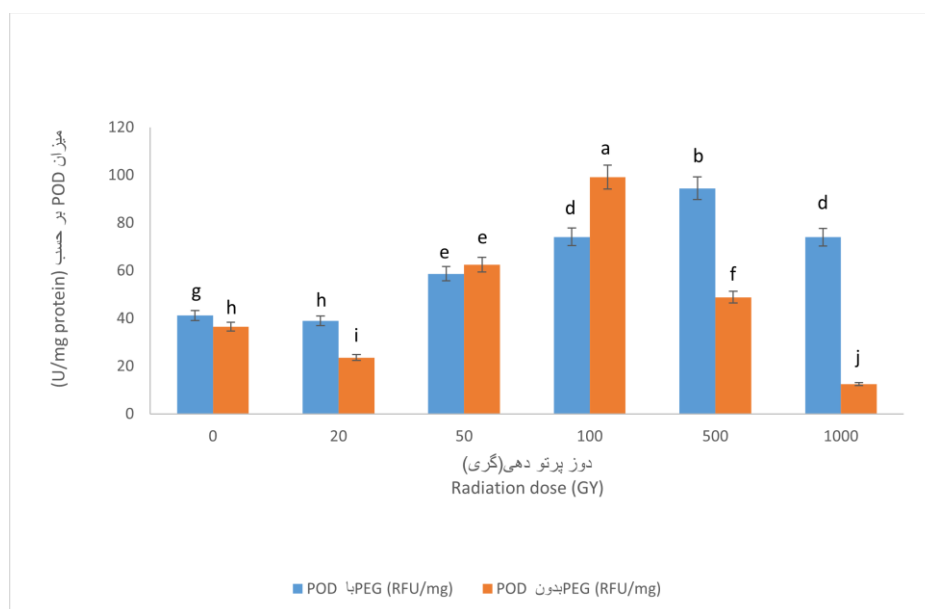
به تجمع ROS در دُزهای متوسط است. در دُز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)، فعالیت POD به شدت کاهش یافت (RFU/mg protein ۱۲/۴۵) که پایین‌ترین مقدار در کل آزمایش است و نشان‌دهنده فروپاشی سیستم آنتی‌اکسیدانی در دُزهای حاد پرتودهی است. حضور PEG6000 در دُزهای بالا اثر محافظتی بارزی بر فعالیت POD داشت. در دُز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت POD را از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ RFU/mg protein افزایش داد (افزایش ۵/۹۴ برابری)، و در دُز ۵۰۰ گری از ۴۸/۸۳ به ۹۴/۴۴ RFU/mg protein رسید. این

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 ۳۶/۵۳ RFU/mg protein بود. روند تغییرات POD در غیاب PEG مشابه SOD بود؛ با افزایش دُز پرتودهی، فعالیت POD ابتدا کاهش (دُز ۲۰ گری: ۲۳/۵۸ RFU/mg protein) و سپس افزایش یافت و در دُز ۱۰۰ گری به حداکثر مقدار خود رسید (۹۹/۱۶ RFU/mg protein). این مقدار بیانگر فعال‌سازی شدید سیستم تجزیه پراکسید هیدروژن در پاسخ

کاهش ۸۳/۱۸٪ را نسبت به محیط بدون PEG در همان دُزها نشان داده است. این الگو با نقش POD در حذف H_2O_2 و سایر پراکسیدها سازگار است. در مطالعه‌ای بر روی *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، الگویی وابسته به شدت و ترکیب تنش نشان داد (Farooqui et al., 2017). در شرایط پرتودهی منفرد با دُز حاد، کاهش معنی‌داری در فعالیت POD مشاهده شد که بیانگر فروپاشی ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول است، در مقابل، پیش‌تیمار با PEG6000 موجب حفظ و حتی افزایش فعالیت این آنزیم در همان سطح پرتودهی گردید؛ پدیده‌ای که از آن به عنوان تحمل متقاطع یاد می‌شود (Farooqui et al., 2017). این یافته با نتایج مربوط به نقش پیش‌تیمار اسمزی در فعال‌سازی 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).

یافته‌ها به روشنی نشان می‌دهند که تنش اسمزی پیش‌گیرانه می‌تواند از تخریب آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برابر پرتودهی حاد جلوگیری کرده و ظرفیت دفاعی سلول را حفظ نماید (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 دُزهای متوسط (۵۰ و ۱۰۰ گری)، سلول قادر به فعال‌سازی مؤثر SOD و POD در پاسخ به افزایش ROS است، در حالی که در دُزهای حاد (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری)، تجمع بیش از حد ROS منجر به تخریب آنزیم‌های دفاعی و فروپاشی سیستم آنتی اکسیدانی می‌شود. حضور PEG6000 به عنوان پیش‌تیمار اسمزی، این آستانه شکست را به سمت دُزهای بالاتر جابه‌جا کرد و از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، مقاومت رادیولوژیک نوستوک را به طور معنی‌داری ارتقاء داد.

از مقایسه نتایج می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت POD الگوی دوفازی مشابه SOD داشته است، به نحوی که در حضور PEG، فعالیت POD در دز ۲۰ گری به ۳۸/۹۵ U/mg protein رسید که نسبت به محیط بدون PEG در همان دز، ۳۹/۴٪ کاهش نشان داد. در ۱۰۰ گری نیز در حضور PEG به ۷۴/۱۳ U/mg protein رسید که افزایش ۳۳/۷۶ درصدی و در ۱۰۰۰ گری به ۷۴/۰۳ U/mg protein



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.

نتیجه گیری

می‌تواند سلول را برای مقابله مؤثرتر با تنش بیشتر (پرتودهی) آماده سازد. به طور کلی، دُز ۱۰۰ گری در ترکیب با پیش‌تیمار اسمزی، 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 دُز کنترل شده 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 مبنای علمی برای توسعه نسل جدیدی از کودهای زیستی پرتوتابی شده با قابلیت تحمل به تنش‌های چندگانه قلمداد گردد. البته علیرغم اثبات پدیده تحمل متقاطع القاشده با پرتوتابی گاما، تفسیر و تعمیم یافته‌ها در محیط خاک مستلزم بررسی دقیق اثرات ماتریس پیچیده خاک، برهم‌کنش‌های ریزوسفری، تنوع بافت خاک و نوسانات میکروکلیمایی مزرعه می‌باشد.

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 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., Zulfikar, 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., Sodsuay, 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.
- Lamizadeh, E., Hassani, A., Nourzadeh Hadad, M., and Etesami, H. (2026).** Increase in Chlorophyll Concentration and Growth of the Cyanobacterium *Nostoc* sp. under Gamma Irradiation. (e1815). *Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology (JONSAT)*, e1815 [doi: 10.24200/nst.2026.2026.2188](https://doi.org/10.24200/nst.2026.2026.2188)
- 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.
- 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.
- Mohajel Kazemi, E., Hamekhar, N., Mohajel Shaja, H., Lamizadeh, E. and Nourzadeh Hadad, M. (2026).** The Effects of Zinc Oxide on Growth Characteristics and Biochemical Responses of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) at the Reproductive Growth Stage. *Journal of Soil Fertility*, 2(2): e735671. doi: 10.30470/jsp.2026.735671. (In Persian)
- Mohajjel-Shoja H., Ajir V., Mohajel Kazemi E., Lamizadeh E. and Nourzadeh Hadad M. (2025).** Growth, anatomical and biochemical responses of spinach plants to zinc oxide nanoparticles treatment," *Soil Fertility*, 1 2 : e735507, doi: 10.30470/jsp.2025.735507
- 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.

Wurzing, 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.