



Biochemical, Physiological Changes and Expression of Some Drought Tolerance Genes in Lentil (*Lens culinaris*)

Saeed Mohammadi¹ | MohammadReza Bihamta² | AliReza Abbasi³ | Sajad Rashidi-Monfared⁴ |
Abdolrahman Rasoulnia⁵ | Pouya Najibnejad⁶

1. Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

2. Corresponding Author, Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: mrghanad@ut.ac.ir

3. Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: rezabbasi@ut.ac.ir

4. Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: rashidims@modares.ac.ir

5. Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: arasoulnia@ut.ac.ir

6. Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: pouya.najibnejad@ut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: July 21, 2025

Revised: December 02, 2025

Accepted: December 03, 2025

Extended Abstract

Introduction. Drought stress represents one of the most formidable abiotic challenges to global agricultural productivity, particularly in arid and semi-arid regions where water scarcity is a pervasive issue. The escalating frequency, intensity, and duration of drought events, exacerbated by climate change, pose a significant threat to food security and sustainable agricultural practices worldwide. Lentil (*Lens culinaris*), a diploid legume, stands as a cornerstone of global food systems, ranking as the sixth most important pulse crop by production volume. Its nutritional density, providing substantial plant protein, complex carbohydrates, dietary fiber, and essential micronutrients, underscores its critical role in human diets. In Iran, where rainfed lentil cultivation is prevalent and water scarcity is a national concern, understanding and mitigating the adverse effects of drought on this vital crop is paramount. This study was designed to elucidate the multifaceted responses of lentil to varying degrees of drought stress, focusing on two distinct genotypes: One previously identified as drought-sensitive (FLIP2002-55) and another as drought-tolerant (FLIP2002-57).

Materials and Methods. The experimental design was employed a factorial arrangement based on a randomized complete block design with three replications, conducted under controlled greenhouse conditions. Drought stress was incrementally applied at three distinct levels: Control (90% field capacity), moderate stress (60% field capacity), and severe stress (30% field capacity). Subsequently, comprehensive measurements were taken on a wide array of morphological, physiological, and biochemical traits, alongside an investigation into the relative expression of key drought-responsive genes using quantitative real-time PCR (qRT-PCR).

Results and Discussion. Morphological assessments revealed significant reductions in plant height, shoot and root fresh and dry weights, and leaf area index across both genotypes as drought intensity increased. Physiological analyses demonstrated a significant decline in relative leaf water content (RWC) with escalating drought stress in both genotypes, although the tolerant genotype generally maintained higher RWC values, indicative of better osmotic adjustment and cell wall elasticity. Electrolyte leakage, a direct measure of membrane damage, significantly increased in both genotypes under drought, with a more pronounced increase observed in the sensitive genotype. This highlights the superior membrane stability of the tolerant genotype under stress. Biochemical investigations revealed a consistent pattern of stress-induced changes. Increasing drought intensity led to a significant decrease in chlorophyll and total leaf protein content, consistent with oxidative damage to photosynthetic machinery and protein degradation. Conversely, the concentrations of carotenoids, proline, total carbohydrates, malondialdehyde (MDA), and hydrogen peroxide (H₂O₂) significantly increased. Furthermore, the activities of key antioxidant enzymes, including catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and guaiacol peroxidase (GPX), were evaluated. While the overall trend showed increased antioxidant enzyme activity under moderate stress, particularly in the tolerant genotype, severe stress sometimes led to a decline, possibly due to enzyme denaturation or overwhelming oxidative load. The tolerant genotype consistently demonstrated a more robust and sustained antioxidant defense system compared to the sensitive genotype, which is critical for detoxifying ROS and mitigating oxidative damage. At the molecular level, qRT-PCR was employed to assess the relative expression of five key genes implicated in drought tolerance pathways: Beta Amylase (*BA*), Dehydration-Responsive Element-Binding protein (*DREB1C*), ABA-WDS induced protein (*ABAWDS*), High Chlorophyll Fluorescence 136 (*HCF136*), and myo-inositol monophosphatase (*MIMP*). In the tolerant genotype, severe drought stress significantly upregulated the expression of *ABAWDS* and *HCF136* genes by approximately 2.5-fold and 2-fold, respectively, compared to control conditions. *ABAWDS* is associated with abscisic acid (ABA) signaling, a crucial hormone in drought response, mediating stomatal closure and root growth adjustments. The increased expression of *HCF136*, a gene involved in photosystem II stability, suggests an adaptive mechanism to maintain photosynthetic efficiency under stress. Conversely, the expression of *Beta Amylase*, *DREB1C*, and *MIMP* genes significantly decreased in the tolerant genotype under severe drought. While *Beta Amylase* is involved in starch degradation for sugar accumulation, its downregulation might indicate a shift in carbohydrate metabolism or a genotype-specific response. Similarly, the reduced expression of *DREB1C*, a transcription factor typically associated with stress gene activation, and *MIMP*, involved in myo-inositol metabolism, in the tolerant genotype under severe stress warrants further investigation to fully understand their nuanced roles in this specific context. In the sensitive genotype, *HCF136* showed a modest increase (approximately 1.5-fold), while the other genes (*ABAWDS*, *DREB1C*, *BA*, and *MIMP*) exhibited a general downregulation or minimal change, indicating a less effective molecular response to drought compared to the tolerant genotype.

Conclusion. These findings collectively underscore the intricate interplay of morphological, physiological, biochemical, and molecular mechanisms contributing to drought tolerance in lentil. The tolerant genotype's superior performance across multiple parameters – including better maintenance of water status, reduced membrane damage, enhanced antioxidant defense, and specific gene expression patterns – highlights its adaptive capacity. The differential gene expression profiles, particularly the upregulation of *ABAWDS* and *HCF136* in the tolerant genotype, provide valuable molecular markers for drought resilience. This comprehensive analysis not only deepens our understanding of drought tolerance mechanisms in *Lens culinaris* but also offers critical insights for future lentil breeding programs. By leveraging these identified traits and genetic markers, it is possible to develop and select new drought-tolerant lentil varieties, thereby enhancing crop productivity and ensuring food security in regions increasingly threatened by water scarcity. Further research should focus on validating these findings in field conditions and exploring the functional genomics of these candidate genes to accelerate the development of climate-resilient lentil cultivars.

Keywords:

Antioxidant Enzymes,
malondialdehyde,
proline,
real time PCR,
RNA sequencing.

Cite this article: Mohammadi, S., Bihamta, M.R., Abbasi, A.R., Rashidi-Monfared, S., Rasoulnia, A., & Najibnejad, P. (2026). Biochemical, physiological changes and expression of some drought tolerance genes in lentil (*Lens culinaris*). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 57(1), 97-118. DOI: [10.22059/ijfcs.2025.390766.655137](https://doi.org/10.22059/ijfcs.2025.390766.655137).



© The Authors.

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: [10.22059/ijfcs.2025.390766.655137](https://doi.org/10.22059/ijfcs.2025.390766.655137)



انتشارات دانشگاه تهران

علوم گیاهان زراعی ایران

Homepage: <https://ijfcs.ut.ac.ir/>

شاپا الکترونیکی: ۸۰۸۲-۲۴۲۳

تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و بیان برخی از ژن‌های تحمل به خشکی در عدس (*Lens culinaris*)

سعید محمدی^۱ | محمدرضا بی‌همتا^۲ | علیرضا عباسی^۳ | سجاد رشیدی منفرد^۴ | عبدالرحمن رسول‌نیا^۵ | پویا نجیب‌نژاد^۶

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mrghanad@ut.ac.ir
۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: rezabasi@ut.ac.ir
۴. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: rashidims@modares.ac.ir
۵. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: arasoulnia@ut.ac.ir
۶. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: pouya.najibnejad@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۳۰</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۱۱</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۲</p> <p>کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، تعیین توالی RNA، ریل‌تایم پی‌سی‌آر، مالون‌دی‌آلدهید.</p>	<p>تنش خشکی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مطرح است. با توجه به اهمیت گیاه عدس (<i>Lens culinaris</i>) و کشت دیم آن در ایران، این پژوهش با هدف بررسی پاسخ دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس به تنش خشکی در سطوح مختلف (شاهد، تنش متوسط، و تنش شدید معادل ۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) انجام شد. در این مطالعه، تغییرات صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، و همچنین بیان نسبی ژن‌های کلیدی در مسیر تحمل به خشکی شامل <i>HCF136</i>, <i>Beta Amylase</i>, <i>DREB1C</i>, <i>ABA/WDS</i> و <i>MIMP</i> با استفاده از روش qRT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار در صفاتی مانند ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب برگ، شاخص سطح برگ، کلروفیل و پروتئین کل برگ شد. در مقابل، صفات تراکم کرک برگ، میزان نشت الکترولیتی، تجمع پرولین و کربوهیدرات‌ها، و غلظت مالون‌دی‌آلدهید و هیدروژن‌پراکسید افزایش یافتند. تحلیل بیان ژن‌ها در ژنوتیپ متحمل نشان داد که با تشدید تنش، بیان ژن‌های <i>ABA/WDS</i> و <i>HCF136</i> به‌طور معنی‌داری افزایش و بیان ژن‌های <i>Beta Amylase</i>, <i>DREB1C</i> و <i>MIMP</i> کاهش یافت. این یافته‌ها بر نقش این صفات و ژن‌ها در سازوکار تحمل به خشکی در عدس تأکید دارند و می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی برای توسعه ارقام متحمل به خشکی مورد استفاده قرار گیرند.</p>

استناد: محمدی، س.، بی‌همتا، م.ر.، عباسی، ع.ر.، رشیدی منفرد، س.، رسول‌نیا، ع.، و نجیب‌نژاد، پویا. (۱۴۰۵). تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و بیان برخی از ژن‌های تحمل به خشکی در عدس (*Lens culinaris*). *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۷(۱)، ۹۷-۱۱۸. DOI: 10.22059/ijfcs.2025.390766.655137



© نویسندگان

ناشر: موسسه انتشارات دانشگاه تهران.

۱. مقدمه

عدس (*Lens culinaris*)، یکی از حبوبات دیلیوئیدی و به عنوان یکی از قدیمی‌ترین محصولات اهلی‌شده بشر است (Montejano-Ramírez & Valencia-Cantero, 2024). از نظر کشاورزی، این گیاه از اهمیت قابل‌توجهی برخوردار است و بر اساس حجم تولید، ششمین محصول عمده حبوبات در سراسر جهان محسوب می‌شود (Erskine, 2009). تنش خشکی یکی از فراگیرترین تنش‌های غیرزیستی است که بهره‌وری کشاورزی را در سراسر جهان محدود می‌کند (Feng et al., 2021). پیش‌بینی می‌شود که فراوانی، شدت و مدت آن در بسیاری از مناطق به دلیل تغییرات اقلیمی افزایش یابد (Ye et al., 2018). برای کشت عدس، به‌ویژه در محیط‌های نیمه‌خشک و دیم که اغلب در آنها کشت می‌شود، خشکی یک محدودیت اصلی تولید است. در ایران، جایی که کشاورزی با چالش‌های قابل‌توجهی از کمبود آب و افزایش خشکی مواجه است، درک و کاهش اثرات خشکسالی یک اولویت ملی است (Ghochanian Haghverdi et al., 2025).

برای توسعه گونه‌های عدس که برای محیط‌های کم‌آب مناسب‌تر باشند، درک کامل سازوکارهای پاسخ گیاه ضروری است. تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی در ویژگی‌های سیستم ریشه، از جمله طول ریشه، مساحت سطح، حجم و قطر مشاهده شده است، و صفاتی که جذب آب را از عمق بیشتر موجب می‌شوند با عملکرد بهتر در شرایط تنش خشکی مرتبط هستند (Noor et al., 2024). تنش خشکی به طور مداوم منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای، میزان ترقق و جذب کربن فتوسنتزی می‌شود (Zeroual et al., 2022). مطالعات مقایسه‌ای اغلب نشان می‌دهند که ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش خشکی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر و سطوح پایین‌تری از نشانگرهای آسیب اکسیداتیو نسبت به ژنوتیپ‌های حساس هستند (Öktem et al., 2008). خشکی آبشارهای سیگنالینگ پیچیده‌ای را ایجاد می‌کند که منجر به تغییر در بیان ژن می‌شود. تجزیه و تحلیل‌های رونویسی، ژن‌های متعدد پاسخ‌دهنده به خشکسالی را شناسایی کرده‌اند که فاکتورهای رونویسی (مانند *bZIP*)، آنزیم‌های دخیل در سنتز اسمولیت و دفاع آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های کانال (آکوپورین‌ها) و پروتئین‌های محافظ (مانند دهیدرین‌ها، پروتئین‌های شوک حرارتی) را رمزگذاری می‌کنند (Noor et al., 2024). مطالعات مقایسه‌ای توالی‌بایی RNA بین ژنوتیپ‌های عدس مقاوم و حساس در شرایط خشکی، الگوهای بیان ژن متفاوت مربوط به فتوسنتز، محافظت اسمزی، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، مسیرهای انتقال سیگنال و متابولیسم ثانویه را برجسته کرده‌اند (Biju et al., 2023). برای درک چگونگی ترکیب مؤثر مکانیسم‌های مختلف توسط ژنوتیپ‌های متحمل، به‌ویژه پیوند تاب‌آوری فیزیولوژیکی با مسیرهای بیوشیمیایی خاص و الگوهای بیان ژن‌های مربوطه، بررسی عمیق‌تری مورد نیاز است. در ایران به دلیل تنش خشکی انتهای فصل رشد که بر کشت عدس به‌صورت دیم تاثیر دارد، مطالعه تغییرات صفات بیوشیمیایی و بیان ژن‌های شناسایی‌شده مؤثر در تحمل به تنش خشکی در این گیاه دارای اهمیت بوده که سرانجام می‌تواند به منظور غربالگری، اصلاح و انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در عدس مورد استفاده قرار گیرد. هدف این تحقیق، بررسی تغییرات بیوشیمیایی بیان و نیز نقش برخی ژن‌های شناسایی‌شده مؤثر در تحمل به تنش خشکی در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس، می‌باشد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. مواد گیاهی و صفات ریخت‌شناسی

در این مطالعه دو لاین FLIP2002-57L (متحمل به خشکی) و FLIP2002-55L (حساس به خشکی)، با توجه به مطالعات گذشته و عملکرد آن‌ها در شرایط مزرعه‌ای برای کشت در گلخانه انتخاب شدند (مکاتبه شخصی با دکتر چگینی، مرکز تحقیقاتی کوهین دانشگاه تهران). این دو لاین در حال خالص‌سازی و انجام تحقیقات تکمیلی بوده و از جمله لاین‌های امیدبخش عدس می‌باشند. لاین‌هایی که مقاومت آنها به سرما به‌خوبی شناسایی شده بود و جهت بررسی‌های بیشتر جهت آماده‌سازی آن‌ها به عنوان رقم در مرکز تحقیقاتی کوهین دانشگاه تهران مورد بررسی بودند؛ به همین جهت در این بررسی از این دو ژنوتیپ استفاده شد. بذر آن‌ها از بانک ژن دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه شد. در هر گلدان پلاستیکی به ارتفاع ۱۰ و قطر ۱۲ سانتی‌متر، تعداد شش عدد بذر کشت

شد. خاک مورد استفاده در هر گلدان دارای ترکیب ۲:۱:۱ خاک مزرعه، ماسه و خاک برگ بود. آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار بود که در گلخانه دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، اجرا شد. ۱۲ گلدان برای هر واحد آزمایشی تعیین شد. در دوره رشد رویشی گیاهان، محلول ریزمغذی (کود ریزمغذی میکروموند) (دو گرم در لیتر آب) در دو نوبت به صورت محلول پاشی و همچنین کود NPK (کود ۲۰-۲۰-۲۰ هاروانا) (در سه گرم در لیتر آب همراه با آبیاری) در دو نوبت به گلدان‌ها داده شد. با رشد گیاهان به مرحله ۴۰ برگچه‌ای تنش خشکی آغاز شده و به صورت آبیاری براساس ۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان، اعمال شد. ظرفیت زراعی خاک براساس روش وزنی تعیین شد. پس از اعمال تنش با مشاهده تشدید علائم تنش از جمله پیچیدگی، زرد شدن، خشکیدگی و ریزش برگچه‌ها، اعمال تنش خشکی پس از دو هفته پایان یافته و بعد از آن نمونه‌برداری از بافت هوایی و ریشه گیاهان انجام شد. ارتفاع بوته، وجود یا فقدان کرک، شدت سبزیگی بوته قبل از نمونه‌برداری و در طول اعمال تنش، اندازه‌گیری شد (Lentil discriptors, IBPGR, 1985). همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه (با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم، ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد.

۲-۲. محتوای نسبی آب برگ^۱

وزن تر آخرین برگ‌های توسعه‌یافته بلافاصله پس از نمونه‌گیری، توسط ترازوی (۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در داخل لوله‌های فالتون ۱۵ میلی‌لیتری قرار گرفته و به همه آنها میزان یکسانی آب مقطر اضافه شد تا برگ‌ها در آب شناور شوند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، سپس وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شد. بعد از آن نمونه‌ها ۲۴ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد؛ سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. در نهایت، محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد (Kumar & Elston, 1992).

۳-۲. میزان نشت الکترولیتی^۲

آخرین برگ توسعه‌یافته از بوته‌ها جدا و در یک لوله فالتون قرار گرفته، سپس به آن آب مقطر اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور قرار داده شدند. بعد از آن با EC متر (ساخت WTW آلمان)، EC نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC1). سپس نمونه‌ها در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شده و به حمام آب یخ منتقل شدند و دوباره EC آنها اندازه‌گیری شد (EC2). در نهایت میزان نشت الکترولیتی برای هر نمونه محاسبه شد (Valentovic et al., 2006).

۴-۲. شاخص سطح برگ^۳

برگ‌های سبز گیاه جدا و مساحت سطح آنها با Leaf Area Meter (ساخت CID آلمان) اندازه‌گیری شد. سپس در آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته و وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت شاخص سطح برگ، برحسب سانتی‌متر مربع بر گرم (cm² g⁻¹) محاسبه شد (Feng et al., 2013).

۵-۲. سنجش محتوای پرولین^۴

نیم گرم (۰/۵ گرم) بافت اندام هوایی با استفاده از ازت مایع پودر شده، و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک سه درصد اضافه و در حمام یخ قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ (Hettich آلمان) شد. دو میلی‌لیتر از عصاره حاصل برداشته و به لوله فالتون جدید منتقل شد. دو میلی‌لیتر نین‌هیدرین^۴ و دو میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال به عصاره نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار گرفته و سپس در حمام یخ سرد شدند. پس از افزودن چهار میلی‌لیتر تولوئن و انجام ورتکس، جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر از روی منحنی استاندارد محاسبه و سپس به میکروگرم بر گرم وزن خشک بافت تبدیل شد (Bates et al., 1973).

1. Relative Water Content (RWC)
2. Electrolyte Leakage Index (ELI)
3. Leaf Area Index (LAI)
4. Ninhydrin

۲-۶. مالون‌دی‌آلدهید^۵

مقداری برگ پودر شده با پنج میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۰/۱ مولار مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره رویی، یک میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک‌اسید حاوی تری‌کلرواستیک‌اسید اضافه شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس در حمام آب یخ، سرد شد. نمونه مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب مایع رویی در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت، مقدار MDA بر اساس نانومول بر گرم وزن تر با استفاده از رابطه مربوطه محاسبه شد (Hodges et al., 1999).

۲-۷. پراکسید هیدروژن^۶

نیم گرم (۰/۵ گرم) نمونه برگ پودر شده با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TCA یک درصد مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره رویی با ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۵۰۰ میکرولیتر محلول پتاسیم‌یدید یک مولار ترکیب شد. پس از انجام واکنش، میزان جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. غلظت H₂O₂ در نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده از محلول‌های پراکسید هیدروژن با غلظت دو تا ۱۰ میلی‌مولار محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

۲-۸. کربوهیدرات

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات، ابتدا نیم گرم (۰/۵ گرم) بافت خشک‌شده کوبیده شده با ۵/۷ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد داغ مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای عصاره‌گیری قندهای محلول نگهداری شد؛ سپس مخلوط ورتکس و به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. عصاره رویی حاوی قندهای محلول جدا شد، درحالی‌که بافت باقی‌مانده پس از خشک‌شدن، با افزودن مقدار مشخصی آب مقطر و جوشاندن در بن‌ماری، جهت استخراج نشاسته آماده شد. سپس، حجمی مشخص از عصاره برای واکنش رنگی استفاده شد؛ به این صورت که به یک میلی‌لیتر از نمونه آماده‌شده، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول فنل پنج درصد و ۵/۲ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد و پس از ۴۵ دقیقه برای تثبیت رنگ، میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. در نهایت، غلظت کربوهیدرات بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و به میکروگرم بر گرم وزن خشک نمونه تبدیل شد (Sturgeon, 1990).

۲-۹. کلروفیل a، b و کاروتنوئید

نیم گرم بافت پودر و سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون ۷۰ درصد به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ (Hettich آلمان) شد. عصاره بخش بالایی جدا و به پلیت منتقل و جذب نمونه در طول موج ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و نیز ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید خوانده شد. میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید محاسبه شد (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

۲-۱۰. پروتئین کل

برای سنجش پروتئین کل، ۱۰ میکرولیتر از عصاره نمونه‌ها به ۲۰۰ میکرولیتر بافر بردفورد آماده‌شده (Bradford, 1976) در هر خانه پلیت اضافه شد. پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون، جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه پلیت‌ریدر قرائت شد.

5. Malondialdehyde (MDA)

6. Hydrogen peroxide (H₂O₂)

۲-۱۱. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

به ۰/۲ گرم بافت برگ، یک میلی‌لیتر از بافر استخراج Tris-HCl یک مولار حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدون دو درصد اضافه و سپس هموژنیزه شد، نمونه‌ها سانتریفیوژ (در چهار درجه سانتی‌گراد، به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰) شد. پس از سانتریفیوژ، عصاره بالایی برداشته و به تیوب جدید ریخته شد که به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز و همچنین غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گاباکول‌پراکسیداز به ترتیب از روش‌های Aebi (1974)، Nakano & Asada (1987) و Chance Maehly (1995) استفاده شد.

۲-۱۲. بیان برخی ژن‌های دخیل در تحمل به تنش خشکی

با بررسی منابع علمی، تعدادی ژن دخیل در تحمل به خشکی در برخی گیاهان خانواده بقولات، انتخاب و با مراجعه به پایگاه داده NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)، شماره دسترسی آن‌ها مشخص شد. سپس تعدادی از این ژن‌ها با کمک هم‌ردیفی^۷ در گیاه عدس مشخص شدند. برای شناسایی توالی توافقی^۹ ناحیه رمزکننده^۸ ژن‌های انتخابی عدس، در آغاز توالی‌های قطعات بیانی^۱ و خوانش^۲ ژن‌های انتخابی (حاصل از پروژه‌های توالی‌یابی RNA عدس در پایگاه NCBI SRA (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra) با کمک توالی‌های ارتولوگ مشابه در سایر گیاهان با کمک BLAST Offline (v.2.7.0) شناسایی و مجموع این قطعات، با استفاده از نرم‌افزار Codon Code aligner (Ver. 5.0.1) با یکدیگر سرهم شد. در ادامه چارچوب قرائت ژن‌های مذکور با بررسی توالی حاصل در ORF Finder (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html) شناسایی و به منظور تأیید این چارچوب و ORF مورد نظر آن‌ها، از نرم‌افزار BLASTp استفاده شد. بیان ژن‌ها در تنش خشکی در دو ژنوتیپ متحمل و حساس در سطوح شاهد و تنش شدید، با استفاده از تکنیک qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. به منظور طراحی آغازگرهای مناسب برای تکثیر ژن‌های مورد نظر از نرم‌افزارهای Oligo7 و PerlPrimer استفاده شد. بعد از آن آغازگرها از نظر تشکیل Self-dimer (بیش از ۶- kcal mol⁻¹)، Hetero primer (بیش از ۶- kcal mol⁻¹) و Hairpin (بیش از ۶- kcal mol⁻¹)، دمای ذوب و درصد GC، در نرم‌افزار آنلاین OligoAnalyzer3.1 مورد بررسی قرار گرفتند. جدول ۱ آغازگرهای طراحی شده را نشان می‌دهد. بعد از این کارایی آغازگرهای مختص هر ژن با آزمایش qRT-PCR چند نمونه بررسی شد و دمای مناسب برای اتصال هر جفت آغازگر بررسی شد.

۲-۱۳. استخراج cDNA، سنتز RNA و واکنش Real Time

RNA نمونه‌ها به وسیله کیت شرکت دنازیست استخراج شد. با استفاده از نانودراپ (ساخت Thermo scientific آمریکا) و الکتروفورز (آگارز یک درصد) بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده انجام شد. بعد از آن به وسیله کیت شرکت پارس‌توس، تیمار DNase اعمال و سنتز cDNA انجام شد. با استفاده از نانودراپ و الکتروفورز (دناژن ایران) (آگارز دو درصد) بررسی کمیت cDNA سنتز شده انجام و همچنین برای کنترل داخلی از آغازگر ژن 18srRNA استفاده شد. واکنش‌های ریل‌تایم (ساخت Qiagen آلمان) در ۴۰ چرخه (۲۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در دمای اتصال آغازگر و ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. در نهایت به منظور محاسبه میزان بیان هر ژن در نمونه‌های تحت تنش نسبت به نمونه‌های شاهد، از رابطه Livak استفاده شد (Livak & Schmittgen, 2001). تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با نرم‌افزارهای SPSS 26 و SAS 9.4 انجام شد. از نرم‌افزار 2013 Excel به منظور رسم نمودارهای مقایسه میانگین دانکن استفاده شد. از آزمون Kolmogorov-Smirnov در Minitab17 استفاده شد تا اطمینان حاصل شود که خطای داده‌ها توزیع نرمال دارند.

7. Accession number

8. Alignment

9. Consensus

10. Coding DNA Sequence

11. Expressed Sequence Tag

12. Reads

جدول ۱. اسامی و توالی آغازگرهای طراحی شده.

Table 1. Names and sequences of designed primers.

حدود طول قطعه تکثیر شده	توالی ۵' به ۳'	نام آغازگر	ردیف
180-190 bp	5'CATTGTGGAATTGGGATGGT 3'	BA -F	1
180-190 bp	5'CGATGGTGTATATGGTTGATGTC 3'	BA -R	2
180-190 bp	5'TTCCTATTCCTGCAACCTCG 3	DREB1C -F	3
180-190 bp	5'TCATATCCAACACTGCCTCC 3'	DREB1C -R	4
180-190 bp	5'TGGTGGTTATGCTTTGTATGAG 3'	ABAWDS -F	5
180-190 bp	5'GTGTTTCTTTCCATGAGCT 3'	ABAWDS R	6
180-190 bp	5'GAGGTGGTCTTTATCTCAGCA 3'	HCF136-F	7
180-190 bp	5'GTCACGAATCCATGACTTGC 3'	HCF136-R	8
180-190 bp	5'CCTGTGCTCTTAATCTTTGTGG 3'	MIMP -F	9
180-190 bp	5'GGTTTGAAGCAGCTATACGC 3'	MIMP -R	10
101 bp	5'ACGTCCCTGCCCTTTGTACAC 3'	18srRNA-F	11
101 bp	5'CACTCACCGGACCATTCAAT 3'	18srRNA-F	12

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

نتایج نشان داد که تنش خشکی بر صفات مختلفی مانند ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن تر ریشه، نشت یونی، شاخص سطح برگ، محتوای کلروفیل، محتوای قندهای محلول موثر بوده است (جدول ۲). فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و نیز بیان ژن‌های *ABA/WDS* و *MIMP*، *DREB1*، *BA*، *HCF136* در ژنوتیپ‌های مختلف به تنش خشکی پاسخ داده‌اند.

۳-۱. ارتفاع بوته و تعداد برگ و برگچه

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای صفت ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲). همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، ارتفاع بوته در هر دو ژنوتیپ تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافته است؛ در ژنوتیپ متحمل از ۳۱/۲۷ سانتی‌متر به ۲۱/۷۹ سانتی‌متر و در ژنوتیپ حساس از ۳۲/۵۲ سانتی‌متر به ۱۹/۲۳ سانتی‌متر. با این حال، میزان این کاهش در ژنوتیپ حساس به‌طور قابل توجهی شدیدتر از ژنوتیپ متحمل بود. این مهار رشد، یک پاسخ تطبیقی اولیه به کمبود آب است که مستقیماً از کاهش فشار تورژسانس سلولی ناشی می‌شود (Zeroual et al., 2022). کاهش تورژسانس، فرآیندهای کلیدی تقسیم و طول‌شدن سلولی را متوقف می‌سازد (Noor et al., 2024). توانایی ژنوتیپ متحمل در حفظ ارتفاع نسبتاً بالاتر، نشان‌دهنده موفقیت آن در مکانیسم‌های حمایتی زیربنایی، به‌ویژه تنظیم اسمزی کارآمد برای حفظ تورژسانس لازم برای رشد حداقلی است، در حالی که کاهش ارتفاع در ژنوتیپ حساس، نشان‌دهنده شکست در این سیستم‌ها است.

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای صفات تعداد برگ و تعداد برگچه معنی‌دار نبود. با این حال، اثرات اصلی تنش (در سطح احتمال یک درصد) و ژنوتیپ (در سطح احتمال پنج درصد) برای هر دو صفت معنی‌دار بودند (جدول ۲). داده‌ها (شکل ۲) نشان می‌دهند که هر دو ژنوتیپ با افزایش شدت تنش، کاهش مشابهی را در تعداد برگ و برگچه تجربه کرده‌اند. تعداد برگ و برگچه در ژنوتیپ متحمل به‌ترتیب از ۱۴ و ۱۱۲ به ۱۲ و ۹۷ و در ژنوتیپ حساس از ۱۴ و ۱۰۹ به ۱۱ و ۷۴ کاهش یافت. کاهش تعداد برگ و در نتیجه کاهش سطح کلی برگ یک استراتژی اجتناب از خشکی به منظور کاهش سطح کلی تعرق گیاه و حفظ آب محسوب می‌شود (Khatun et al., 2021). این یک موازنه فیزیولوژیک است، به‌عبارتی گیاه آب را حفظ می‌کند اما پتانسیل فتوسنتزی خود را قربانی می‌سازد (Feng et al., 2022).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف بررسی شده در دو ژنوتیپ عدس (FLIP2002-57L و FLIP2002-55L) تحت سه رژیم آبیاری (شاهد، ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، ۳۰ درصد ظرفیت زراعی). عبارات مخفف به ترتیب: SH: Shoot Height، TC: Trichome Concentration، RFW: Root Fresh Weight، RDW: Root Dry Weight، SFW: Shoot Fresh Weight، SDW: Shoot Dry Weight، RL: Root length، ELI: Electrolyte Leakage Index، LAI: Leaf Area Index، RWC: Relative Water Content، SS: Soluble Sugar، MDA: Malondialdehyde، CAT: Catalase، APX: Ascorbate Peroxidase، GPX: Guaiacol Peroxidase.

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) results for the different traits evaluated in two lentil genotypes (FLIP2002-57L and FLIP2002-55L) under three irrigation regimes (control, 60% field capacity, and 30% field capacity). The abbreviations correspond respectively to: SH: Shoot Height, TC: Trichome Concentration, RFW: Root Fresh Weight, RDW: Root Dry Weight, SFW: Shoot Fresh Weight, SDW: Shoot Dry Weight, RL: Root Length, ELI: Electrolyte Leakage Index, LAI: Leaf Area Index, RWC: Relative Water Content, SS: Soluble Sugar, MDA: Malondialdehyde, CAT: Catalase, APX: Ascorbate Peroxidase, GPX: Guaiacol Peroxidase.

MS													
S.O.V	df	SH	TC	Number of leaves	Number of leaflets	RFW	RDW	SFW	SDW	RL	Greenness	ELI	LAI
Block	2	0.30 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.38 ^{ns}	176.16 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.84 ^{ns}	31.24 ^{ns}
Drought stress	2	195.28 ^{**}	497.8 ^{**}	10.72 ^{**}	987.50 ^{**}	0.97 ^{**}	263.83 ^{**}	35.12 ^{**}	0.62 ^{**}	8.65 ^{**}	1719.25 ^{**}	213.72 ^{**}	1812.95 ^{**}
Genotypes	1	0.03 ^{ns}	247.97 ^{**}	3.55 [*]	1184.22 [*]	0.23 ^{**}	0.001 ^{ns}	2.59 ^{**}	0.74 ^{**}	5.21 ^{**}	99.40 ^{**}	1111.40 ^{**}	11909.90 ^{**}
Genotype * Stress	2	6.92 ^{**}	17.15 ^{**}	1.72 ^{ns}	196.72 ^{ns}	0.07 ^{**}	0.00 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.14 ^{**}	5.75 ^{**}	18.65 ^{**}	114.00 ^{**}	577.43 [*]
Error	10	0.36	0.06	0.45	121.90	0.001	0.00	0.53	0.01	0.08	0.11	6.22	104.63

MS													
df	RWC	Total chl	H ₂ O ₂	Proline	SS	Protein	MDA	Carotenoid	CAT	APX	GPX		
Block	2	2.09 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.0 ^{ns}	3.96 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.0000221 ^{ns}	0.0000151 ^{ns}	0.0000015 ^{ns}	
Drought stress	2	189.35 ^{**}	13.32 ^{**}	267.43 ^{**}	5.66 ^{**}	42.89 ^{**}	31845.92 ^{**}	4.37 ^{**}	1.47 ^{**}	0.0000855 ^{**}	0.001 ^{**}	0.92 ^{**}	
Genotypes	1	191.10 ^{**}	0.23 ^{ns}	1227.60 ^{**}	1.78 ^{**}	0.38 ^{**}	165.98 ^{**}	0.34 ^{**}	0.16 [*]	0.0 ^{**}	0.003 ^{**}	0.07 ^{**}	
Genotype * Stress	2	27.01 ^{ns}	1.95 ^{**}	3.31 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.23 ^{**}	623.24 ^{**}	0.07 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.0000125 ^{ns}	0.0000645 ^{**}	0.01 ^{**}	
Error	10	6.88	0.06	4.35	0.04	0.01	3.52	0.02	0.01	3.52	0.00000816	0.000000416	

^{ns}، *، **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال خطای پنج و یک درصد.

۳-۲. تراکم کرک

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای صفت تراکم کرک با سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). تحت تنش خشکی، تراکم کرک در ژنوتیپ متحمل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت؛ در حالی که در ژنوتیپ حساس کاهش یافت (شکل ۳). این یافته نشان‌دهنده یک استراتژی سازگاری کاملاً متفاوت است. افزایش تراکم کرک یک مکانیسم سازگاری فیزیکی شناخته‌شده برای بقا در محیط‌های خشک است (Shahzad *et al.*, 2021). کرک‌ها با افزایش بازتابش پرتوهای خورشیدی و ضخیم‌تر کردن لایه مرزی هیدرودینامیکی در سطح برگ به حفظ آب سلول‌ها کمک می‌کنند (Chen *et al.*, 2022). فعال‌سازی این دفاع فیزیکی در ژنوتیپ متحمل نشان‌دهنده یک پاسخ تطبیقی فعال است. در مقابل، کاهش کرک در ژنوتیپ حساس می‌تواند نشان‌دهنده ناتوانی در اجرای این پاسخ رشدی و آغاز فرآیندهای پیری و تخریب ساختاری در پاسخ به تنش شدید باشد (Abdel-Ghany *et al.*, 2020).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر ارتفاع بوته در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های

دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 1. Mean comparison of the effects of different stress levels on plant height in two lentil genotypes (susceptible and tolerant). Columns sharing the same letters do not differ significantly from each other (Duncan's test at the 1% significance level).

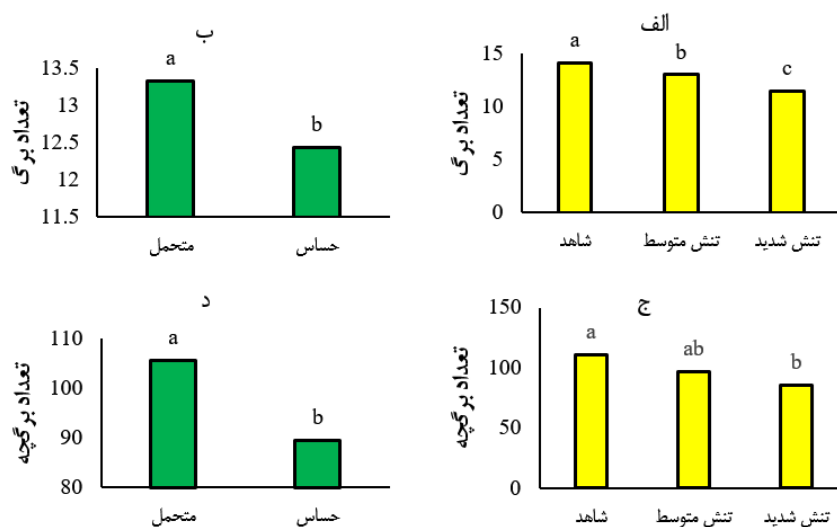
۳-۳. وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

تنش خشکی منجر به کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه شد. اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای وزن تر ریشه (در سطح احتمال یک درصد) و وزن خشک اندام هوایی (در سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بود (شکل ۴-الف و ب) اما اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی معنی‌دار نشده است (جدول ۲). از طرفی اثر اصلی تنش در صفت وزن خشک ریشه (شکل ۴-ج) و اثر اصلی تنش و ژنوتیپ در صفت وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (شکل ۴-ز). وزن تر و خشک اندام هوایی در ژنوتیپ متحمل به‌ترتیب از ۱۱/۴۷ و ۲/۶ گرم به ۶/۶۲ و ۲/۰۲ گرم کاهش یافت. در ژنوتیپ حساس نیز وزن تر و خشک ساقه به‌ترتیب از ۱۰/۸ و ۲/۴۳ گرم به ۶/۰۶ و ۱/۷۲ گرم کاهش یافت. وزن تر و خشک ریشه نیز در شرایط شاهد در ژنوتیپ متحمل ۲/۴۱ و ۰/۶ گرم و در ژنوتیپ حساس ۲/۳۸ و ۰/۵۷ گرم اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک ریشه در ژنوتیپ متحمل تحت تنش شدید به ۱/۸۶ و ۰/۴۱ گرم کاهش یافت. در ژنوتیپ حساس نیز تحت تنش شدید ۱/۳۹ و ۰/۴ گرم اندازه‌گیری شد. کاهش زیست‌توده پاسخ مورد انتظار به تنش خشکی به دلیل کاهش ظرفیت فتوسنتزی (ناشی از بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش LAI) است (Nadeem *et al.*, 2019). ژنوتیپ متحمل به دلیل حفظ بهتر کلروفیل و LAI، توانسته است نرخ فتوسنتز بالاتری را حفظ کرده و زیست‌توده بیشتری را تثبیت کند. این یافته نشان می‌دهد که هر دو ژنوتیپ به‌طور مشابهی تخصیص بیوماس به ریشه یا ازدست‌دادن بیوماس ریشه را تجربه کرده‌اند و بر خلاف تصور رایج، ژنوتیپ متحمل لزوماً ریشه‌های بیشتری نساخته است (Ye Heng *et al.*, 2018).

۳-۴. شدت سبزیگی و محتوای کلروفیل کل

در هر دو صفت شدت سبزیگی، محتوای کلروفیل کل و اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). همانطور که در شکل‌های ۵-الف و ب مشاهده می‌شود، هر دو شاخص در شرایط تنش کاهش یافتند (محتوای کلروفیل در ژنوتیپ متحمل از ۱۱/۷ به ۷/۸ میکرومول بر گرم و در ژنوتیپ حساس از ۱۱/۴ به ۹/۳۴ مول برگ گرم). اگرچه هر دو ژنوتیپ

کاهش کلروفیل را تجربه کردند، اما ژنوتیپ متحمل دچار کاهش بسیار شدیدتر و قابل توجهتری در محتوای کلروفیل نسبت به ژنوتیپ حساس، به ویژه در تنش شدید شد (شکل ۵-ب). این پدیده نشان می‌دهد که کاهش کلروفیل در ژنوتیپ متحمل، نه یک آسیب، بلکه یک استراتژی سازگاری فعال برای محافظت نوری است (Kalefetoğlu Macar & Ekmekçi, 2008). در شرایط خشکی شدید، بسته شدن روزنه‌ها منجر به کاهش شدید CO_2 در دسترس برای فتوسنتز می‌شود. اگر دستگاه فتوسنتزی با همان ظرفیت به جذب انرژی نوری ادامه دهد، این انرژی اضافی منجر به تولید عظیم گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو شدید می‌شود (Qiao et al., 2024). بنابراین، ژنوتیپ متحمل با درک این خطر، به طور فعال دستگاه برداشت نور خود را تخریب می‌کند تا از جذب انرژی اضافی جلوگیری کرده و از آسیب نوری ممانعت به عمل آورد (Kalefetoğlu Macar & Ekmekçi, 2008). در مقابل، ژنوتیپ حساس که فاقد این مکانیسم تنظیمی است، کلروفیل خود را حفظ می‌کند و به جذب نوری که قابل استفاده نیست ادامه می‌دهد و در نتیجه دچار تنش اکسیداتیو شدید و آسیب غشایی می‌شود.



شکل ۲. مقایسه میانگین تعداد برگ بوته عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین تعداد برگ بوته عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب)، مقایسه میانگین تعداد برگچه بوته عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (ج)، مقایسه میانگین تعداد برگ بوته عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (د). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 2. Mean comparison of the number of leaves per lentil plant under control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of the number of leaves per lentil plant in susceptible and tolerant genotypes (b); mean comparison of the number of leaflets per lentil plant under control, moderate stress, and severe stress levels (c); and mean comparison of the number of leaflets per lentil plant in susceptible and tolerant genotypes (d). Columns sharing the same letters do not differ significantly from each other (Duncan's test at the 1% and 5% significance levels).

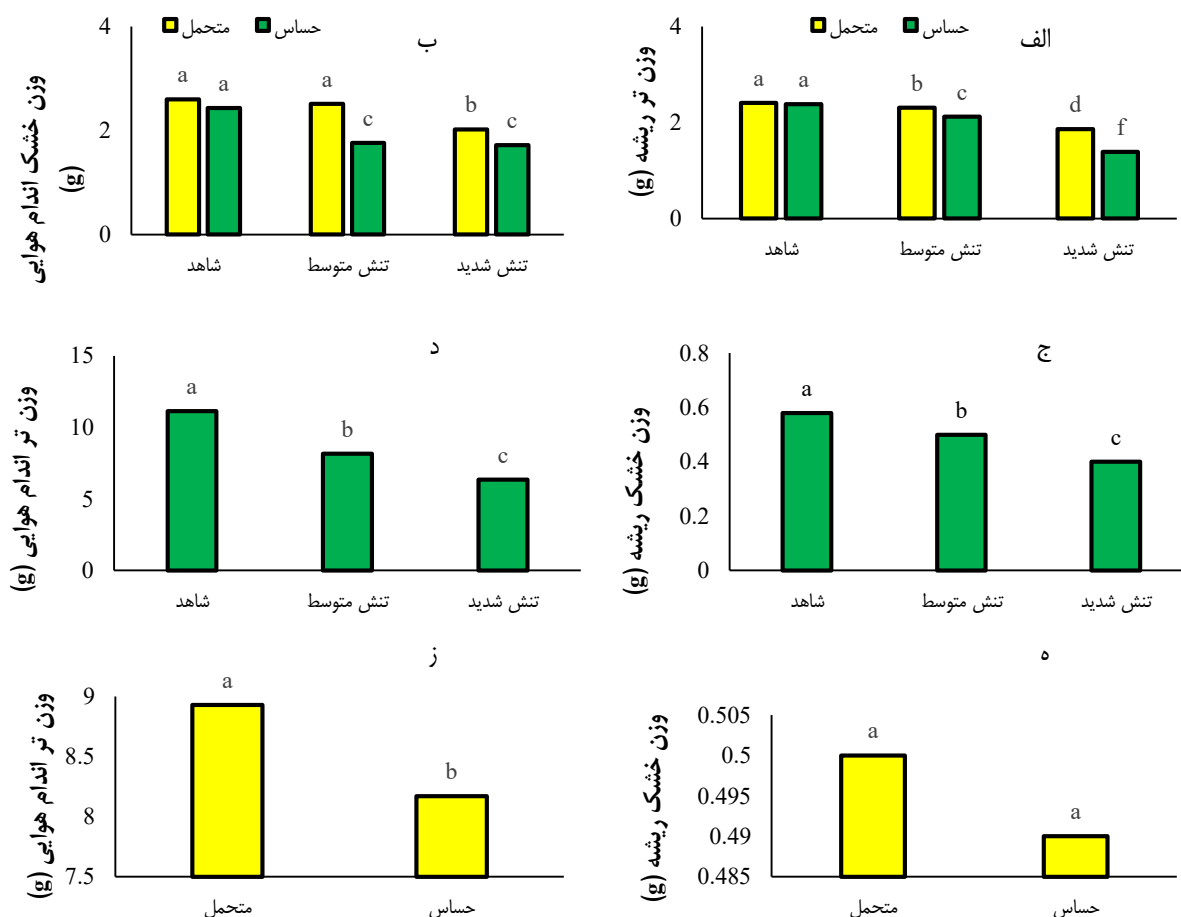


شکل ۳. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر تراکم کرک در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 3. Comparison of the mean effect of different stress levels on trichome density in two sensitive and tolerant lentil genotypes. Columns sharing the same letters do not differ significantly from each other (Duncan's test at the 1% significance level).

۳-۵. شاخص سطح برگ

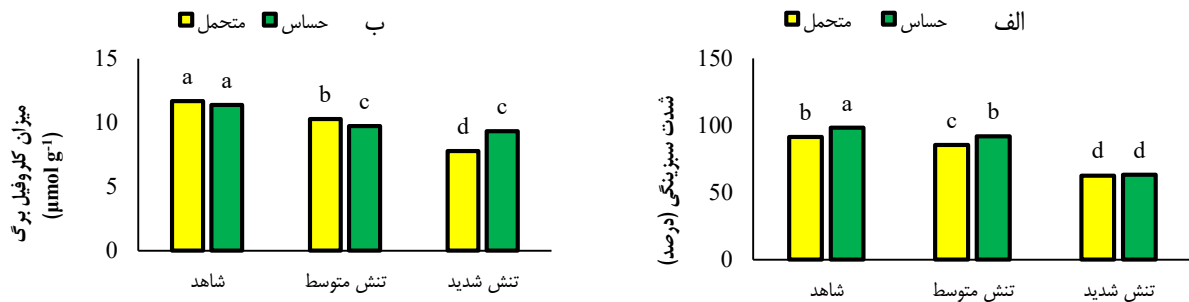
در شاخص سطح برگ اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). شاخص سطح برگ در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت، اما این کاهش در ژنوتیپ متحمل بسیار شدیدتر بود (شکل ۶). این شاخص در ژنوتیپ متحمل از ۱۵۴/۲۴ به ۱۳۸/۵۷ سانتی‌متر مربع بر گرم کاهش یافت. در ژنوتیپ حساس نیز از ۲۲۲/۲ به ۱۶۸/۳۳ سانتی‌متر مربع بر گرم کاهش یافت.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر وزن تر ریشه در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (الف)، مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر وزن خشک اندام هوایی در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (ب)، مقایسه میانگین وزن خشک ریشه عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (ج)، مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (د)، مقایسه میانگین وزن خشک ریشه عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ه)، مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ز). ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

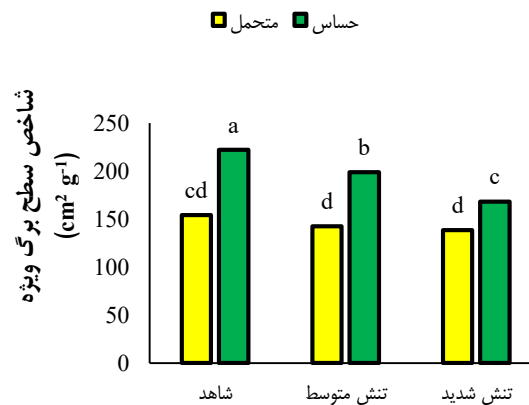
Figure 4. Mean comparison of the effect of different stress levels on fresh root weight in two sensitive and tolerant lentil genotypes (a); mean comparison of the effect of different stress levels on dry shoot weight in two sensitive and tolerant lentil genotypes (b); mean comparison of dry root weight of lentil under control, moderate stress, and severe stress levels (c); mean comparison of fresh shoot weight of lentil under control, moderate stress, and severe stress levels (d); mean comparison of dry root weight of lentil in two sensitive and tolerant genotypes (e); and mean comparison of fresh shoot weight of lentil in two sensitive and tolerant genotypes (f). Columns sharing the same letters do not differ significantly from each other (Duncan's test at the 1% significance level).

این یافته که هم‌راستا با نتایج محتوای کلروفیل است، نشان‌دهنده یک استراتژی دفاعی فعال در ژنوتیپ متحمل است. LAI ظرفیت کلی کانوبی برای جذب نور و تعرق را تعیین می‌کند (Khan *et al.*, 2025). ژنوتیپ متحمل به‌طور فعال سطح برگ خود را کاهش می‌دهد تا سطح تعرق را پایین آورده (Khatun *et al.*, 2021) و مهم‌تر از آن، از جذب بیش از حد انرژی نوری جلوگیری کند. این یک مکانیسم محافظت نوری حیاتی است که از تولید ROS در زمانی که فتوسنتز به دلیل بسته‌بودن روزنه‌ها محدود شده، ممانعت می‌کند (Qiao *et al.*, 2024). در مقابل، ژنوتیپ حساس در اجرای این کاهش فعال شکست خورده و سطح برگ بیشتری را حفظ می‌کند که منجر به جذب انرژی اضافی، تنش اکسیداتیو شدید و در نهایت آسیب فتوسنتزی می‌شود.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر شدت سبزیگی در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (الف)، مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر محتوای کلروفیل کل در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (ب). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 5. Mean comparison of the effect of different stress levels on chlorophyll intensity in two sensitive and tolerant lentil genotypes (a); mean comparison of the effect of different stress levels on total chlorophyll content in two sensitive and tolerant lentil genotypes (b). Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر شاخص سطح برگ در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 6. Mean comparison of the effect of different stress levels on leaf area index in two sensitive and tolerant lentil genotypes. Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 5% significance level).



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر میزان نشت یونی در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

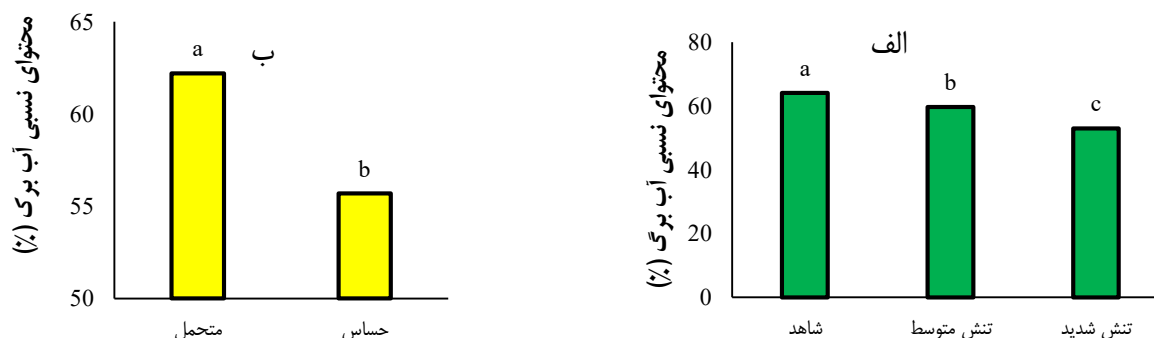
Figure 7. Mean comparison of the effect of different stress levels on electrolyte leakage index in two sensitive and tolerant lentil genotypes. Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).

۳-۶. نشت یونی

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نشت یونی در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت، اما این افزایش در ژنوتیپ حساس به مراتب بیشتر بود (شکل ۷)؛ به طوری که در ژنوتیپ متحمل از ۴۹/۷۱ درصد در نمونه‌های شاهد به ۵۳/۱۳ درصد در نمونه‌های تحت تنش شدید افزایش یافت. در ژنوتیپ حساس نیز از ۵۵/۴۸ درصد در شرایط بدون تنش به ۷۵/۱۶ درصد در تنش شدید افزایش یافت. نشت الکترولیتی به عنوان شاخص استاندارد برای سنجش یکپارچگی و پایداری غشای سلولی استفاده می‌شود (Ifeduba *et al.*, 2024). تنش خشکی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شود (El Haddad *et al.*, 2023). این آسیب ساختاری، نفوذپذیری غشا را به طور غیرقابل کنترل افزایش داده و باعث می‌شود یون‌ها از سیتوپلاسم به بیرون نشت کنند (Sehgal *et al.*, 2017). اثر متقابل ژنوتیپ در تنش معنی‌دار در اینجا نشان می‌دهد که ژنوتیپ حساس آسیب غشایی بسیار شدیدتر و گسترده‌تری را متحمل می‌شود.

۳-۷. محتوای نسبی آب برگ

برای صفت محتوای نسبی آب برگ، اثر متقابل ژنوتیپ در تنش معنی‌دار نبود، اما اثرات اصلی تنش و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در ژنوتیپ متحمل و حساس از ۶۵ و ۶۳/۳۳ درصد به ۵۷/۷۸ و ۴۸/۲۳ درصد کاهش یافت. محتوای نسبی آب یک شاخص کلیدی برای ارزیابی وضعیت آبی گیاه و توانایی آن در حفظ تورژانس بافت است (Noor *et al.*, 2024). همانطور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود RWC در هر دو ژنوتیپ تحت تنش کاهش یافت (اثر اصلی تنش)، اما ژنوتیپ متحمل به طور مداوم و در تمام سطوح (شاهد، متوسط و شدید) RWC بالاتری را نسبت به ژنوتیپ حساس حفظ کرد (اثر اصلی ژنوتیپ).



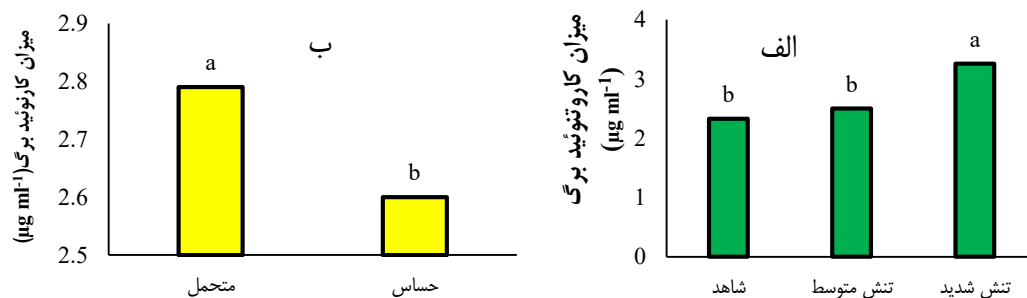
شکل ۸. مقایسه میانگین محتوای نسبی آب برگ عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین محتوای نسبی آب برگ عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 8. Mean comparison of relative water content of lentil leaves at control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of relative water content of lentil leaves in two sensitive and tolerant genotypes (b). Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).

۳-۸. محتوای کاروتنوئید

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در محتوای کلروفیل معنی‌دار نبود، اما اثرات اصلی تنش در سطح احتمال یک درصد و ژنوتیپ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲). برخلاف کلروفیل، محتوای کاروتنوئیدها در هر دو ژنوتیپ تحت تنش افزایش یافت (شکل ۹-الف و ب). این افزایش در ژنوتیپ متحمل از ۲/۴۲ میکرومول بر گرم به ۳/۴۱، و در ژنوتیپ حساس از ۲/۲۵ میکرومول بر گرم به ۳/۱۲ بود. کاروتنوئیدها رنگدانه‌های کمکی هستند که نقش حیاتی در محافظت نوری ایفا می‌کنند (Kalefetoğlu Macar & Ekmekçi, 2008). هنگامی که به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها در شرایط خشکی، CO₂ برای فتوسنتز محدود می‌شود، انرژی نوری اضافی جذب‌شده توسط کلروفیل باید دفع شود. کاروتنوئیدها این انرژی اضافی را به صورت گرما تلف می‌کنند

و همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن را خنثی می‌سازند، و بدین ترتیب از تخریب کلروفیل و غشاها جلوگیری می‌کنند (Kalefetoğlu Macar & Ekmekçi, 2008).

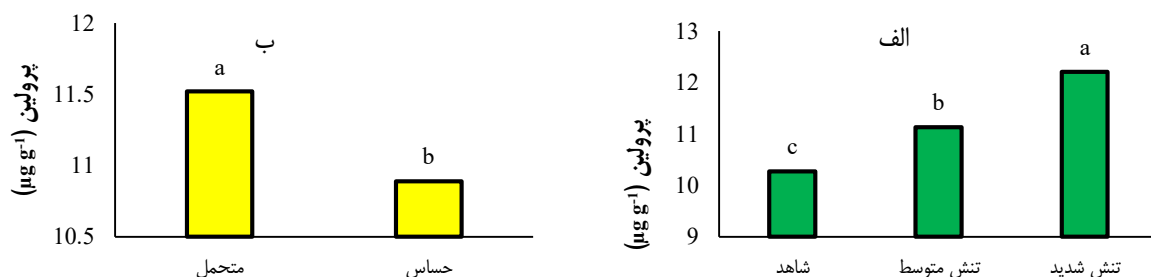


شکل ۹. مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 9. Mean comparison of lentil carotenoid content at control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of lentil carotenoid content in two sensitive and tolerant genotypes (b). Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% and 5% significance levels).

۳-۹. محتوای پرولین

تجمع پرولین فاقد اثر متقابل ژنوتیپ در تنش معنی‌دار بود، اما اثرات اصلی تنش و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲). پرولین در هر دو ژنوتیپ به شدت افزایش یافت، اما میزان تجمع در ژنوتیپ متحمل به‌طور قابل توجهی بالاتر از ژنوتیپ حساس بود (شکل ۱۰-ب). محتوای پرولین در ژنوتیپ متحمل و حساس تحت شرایط بدون تنش به ترتیب ۱۰/۶۵ و ۹/۸۹ میکروگرم بر گرم اندازه‌گیری شد. این میزان تحت تنش شدید در ژنوتیپ متحمل و حساس به ترتیب به ۱۲/۶۱ و ۱۱/۸۱ میکروگرم بر گرم افزایش یافت. پرولین یک اسمولیت سازگار چندکاره و کلیدی است که تجمع آن یکی از رایج‌ترین و مهم‌ترین پاسخ‌های گیاه به تنش‌های اسمزی (خشکی و شوری) است (Chun *et al.*, 2018). نقش اصلی پرولین، تنظیم اسمزی است؛ با انباشته شدن در سیتوپلاسم، پتانسیل اسمزی سلول را کاهش می‌دهد و به حفظ فشار تورژسانس و جذب آب از خاک خشک کمک می‌کند (Ghosh *et al.*, 2021). علاوه بر این، پرولین به عنوان یک محافظ مولکولی و یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی عمل کرده و از ساختارهای پروتئینی و غشاها در برابر آسیب ناشی از کم‌آبی و ROS محافظت می‌کند (Zeroual *et al.*, 2022). تجمع بیشتر پرولین در ژنوتیپ متحمل نشان‌دهنده حفظ بهتر تورژسانس و پایداری بهتر غشا در ژنوتیپ متحمل است.



شکل ۱۰. مقایسه میانگین محتوای پرولین عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین محتوای پرولین عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 10. Mean comparison of lentil prolin content at control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of lentil carotenoid content in two sensitive and tolerant genotypes (b). Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance levels).

۳-۱۰. محتوای قندهای محلول

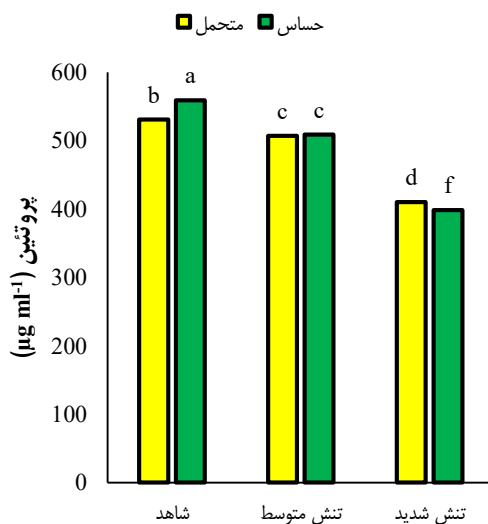
اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای محتوای قندهای محلول معنی‌دار (در سطح احتمال یک درصد) بود (جدول ۲). قندهای محلول در هر دو ژنوتیپ افزایش یافتند، اما این افزایش در ژنوتیپ متحمل به‌طور چشمگیری و به مراتب بیشتر از ژنوتیپ حساس بود

(شکل ۱۱). به طوری که در ژنوتیپ متحمل از ۳۴/۲ به ۳۹/۸۶ میکروگرم بر گرم و در ژنوتیپ حساس از ۳۴/۱۵ به ۳۹/۱۱ میکروگرم بر گرم افزایش یافت. قندهای محلول، در کنار پرولین، نقش اساسی در تنظیم اسمزی دارند و با کاهش پتانسیل آب سلولی، به حفظ تورژسانس کمک می‌کنند (El Haddad *et al.*, 2023). آن‌ها همچنین به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ حیاتی در مسیرهای پاسخ به تنش به عنوان پاک‌کننده ROS عمل می‌کنند (Ghosh *et al.*, 2021). ژنوتیپ متحمل نه تنها پرولین بیشتری می‌سازد، بلکه به طور تهاجمی مسیرهای بیوسنتز یا تجزیه نشاسته به قندهای محلول را نیز فعال می‌کند. این پاسخ هماهنگ یک پتانسیل اسمزی بسیار منفی و محافظت‌کننده ایجاد می‌کند که به ژنوتیپ متحمل اجازه می‌دهد در شرایط کمبود آب، آب را حفظ کرده و فرآیندهای متابولیکی حیاتی را ادامه دهد.



شکل ۱۱. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر محتوای قندهای محلول در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 11. Mean comparison of the effect of different stress levels on soluble sugar content in two sensitive and tolerant lentil genotypes. Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).



شکل ۱۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر محتوای پروتئین کل در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس. ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 12. Mean comparison of the effect of different stress levels on protein content in two sensitive and tolerant lentil genotypes. Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).

۳-۱۱. محتوای پروتئین کل

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش با سطح احتمال یک درصد در صفت محتوای پروتئین کل معنی‌دار شد (جدول ۲). پروتئین کل در هر دو ژنوتیپ تحت تنش کاهش یافت (در ژنوتیپ متحمل از ۵۳۰/۸ به ۴۱۰/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اما این کاهش در ژنوتیپ حساس بسیار شدیدتر بود (از ۵۵۹/۰۱ به ۳۹۸/۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) (شکل ۱۲). کاهش پروتئین کل تحت تنش خشکی یک پدیده رایج است که به دو دلیل اصلی رخ می‌دهد: مهار ترجمه و سنتز پروتئین که فرآیندی بسیار پراثری است و در شرایط کمبود منابع متوقف می‌شود، و افزایش تخریب پروتئین به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو یا نیاز به بازیافت اسیدهای آمینه برای تولید اسمولیت‌هایی مانند پرولین (Nadeem *et al.*, 2019). نتایج نشان می‌دهد که ژنوتیپ حساس در حال از دست‌دادن پروتئین‌های خود است. در مقابل، ژنوتیپ متحمل، اگرچه کاهش نشان می‌دهد، اما به‌طور قابل‌توجهی قادر به محافظت بهتری از پروتئین‌های عملکردی خود است.

۳-۱۲. نشانگرهای تنش اکسیداتیو

برای هر دو نشانگر کلیدی تنش اکسیداتیو، یعنی هیدروژن پراکسید و مالون‌دی‌آلدید، اثر متقابل ژنوتیپ در تنش معنی‌دار نبود، اما اثرات اصلی تنش (در سطح احتمال یک درصد) و ژنوتیپ (در سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بودند (جدول ۲). هیدروژن پراکسید یک مولکول سیگنالیگ کلیدی از خانواده ROS است، اما در غلظت‌های بالا به شدت سمی بوده و باعث آسیب سلولی می‌شود (Ibrahim & Jaafar, 2012). مالون‌دی‌آلدید محصول نهایی و پایدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است و به عنوان شاخص مستقیم آسیب اکسیداتیو به غشاها عمل می‌کند (Khatun *et al.*, 2021). داده‌ها نشان می‌دهند که هر دو ماده تحت تنش در هر دو ژنوتیپ افزایش می‌یابند (محتوای H_2O_2 در ژنوتیپ متحمل و حساس به ترتیب از ۵۵/۵ و ۷۰/۵۸ به ۶۷/۳۳ و ۸۵/۳۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش و محتوای MDA در ژنوتیپ متحمل و حساس به ترتیب از ۴/۸۹ و ۴/۹۹ به ۶/۳۴ و ۶/۸۶ نانومول بر میلی‌لیتر افزایش می‌یابد) که تأیید می‌کند هر دو گیاه دچار تنش اکسیداتیو شده‌اند (شکل ۱۳). با این حال، اثر اصلی معنی‌دار ژنوتیپ یافته کلیدی است. این نشان می‌دهد که اگرچه هر دو گیاه تنش اکسیداتیو را تجربه می‌کنند، ژنوتیپ حساس تحت تنش اکسیداتیو بسیار بیشتری قرار دارد، زیرا سیستم دفاعی آن توانایی خنثی‌سازی هیدروژن پراکسید را ندارد. این H_2O_2 اضافی به لیپیدهای غشا حمله کرده و MDA بیشتری تولید می‌کند که منجر به نشت یونی بیشتر می‌شود.

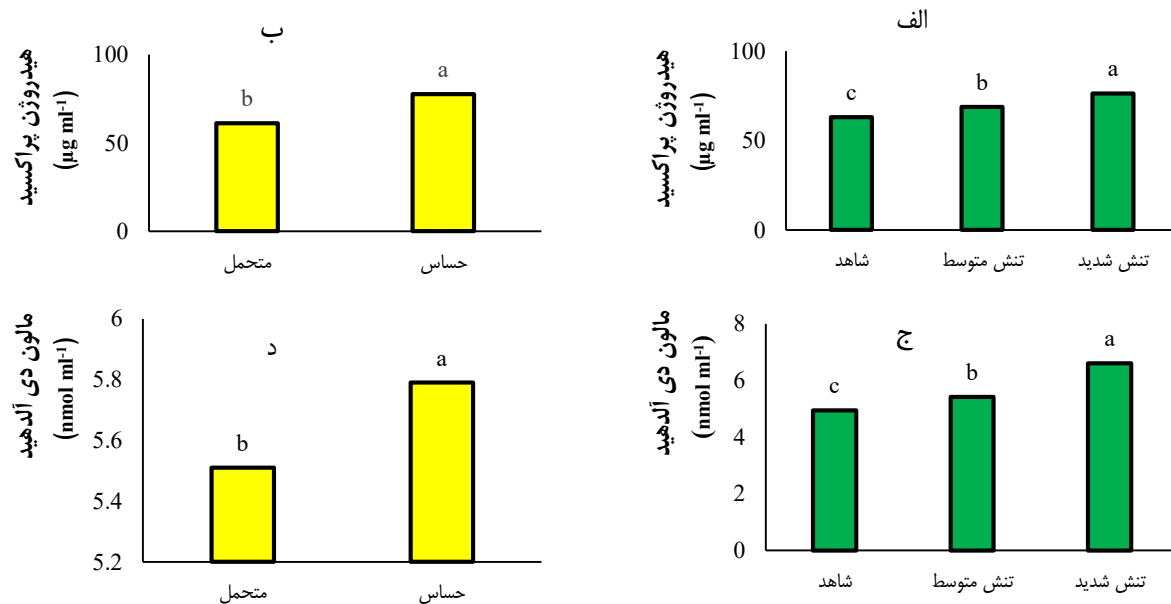
۳-۱۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبود، اما اثرات اصلی تنش و ژنوتیپ (در سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بودند (جدول ۲). فعالیت کاتالاز که عمدتاً در پراکسی‌زوم‌ها H_2O_2 با غلظت بالا را حذف می‌کند (Cruz de Carvalho, 2008) در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت، اما در ژنوتیپ متحمل به‌طور مداوم بالاتر بود (شکل ۱۴-الف و ب). فعالیت کاتالاز در دو ژنوتیپ متحمل و حساس در شرایط بدون تنش به ترتیب $0.25 \mu\text{mol}H_2O_2\text{min}^{-1}\text{mgprot}^{-1}$ و $0.19 /$ اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آن در تنش شدید $0.35 \mu\text{mol}H_2O_2\text{min}^{-1}\text{mgprot}^{-1}$ و $0.24 /$ بود. این نشان‌دهنده یک پاسخ دفاعی عمومی و پایه‌ای است که در ژنوتیپ متحمل قوی‌تر است (Sofa *et al.*, 2015).

آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز برخلاف کاتالاز، اثر متقابل ژنوتیپ در تنش معنی‌دار (در سطح احتمال یک درصد) نشان دادند (جدول ۲). فعالیت این دو آنزیم در ژنوتیپ متحمل به شدت و به‌طور چشمگیری افزایش یافت (فعالیت APX و GPX در ژنوتیپ متحمل از $0.62 /$ و $0.93 /$ به $0.94 \mu\text{mol Ascorbate min}^{-1}\text{mg prot}^{-1}$ و $1.52 \mu\text{mol Guaiacol min}^{-1}\text{mg prot}^{-1}$ ، در حالی که در ژنوتیپ حساس افزایش بسیار ناچیزی در فعالیت APX داشت یا افزایش فعالیت GPX آن به مراتب کمتر بود (فعالیت APX و GPX در ژنوتیپ حساس از $0.41 /$ و $0.89 /$ به $0.6 \mu\text{mol Ascorbate min}^{-1}\text{mg prot}^{-1}$ و $1.26 \mu\text{mol Guaiacol min}^{-1}\text{mg prot}^{-1}$) (شکل ۱۴-ج و د).

آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز آنزیم‌های با میل ترکیبی بالا برای H_2O_2 هستند که در اندامک‌های مختلف از جمله کلروپلاست و سیتوزول، وظیفه تنظیم دقیق و پاکسازی H_2O_2 را بر عهده دارند (Anjum *et al.*, 2016). اثر متقابل معنی‌دار ژنوتیپ در تنش نشان‌دهنده تفاوت اساسی بین دو ژنوتیپ و توانایی ژنوتیپ متحمل در فعال‌سازی اختصاصی این مسیرهای پاکسازی

پیشرفته و با کارایی بالا است (Nadeem *et al.*, 2019)؛ درحالی‌که ژنوتیپ حساس در این فعال‌سازی شکست می‌خورد. این پاسخ آنزیمی برتر در ژنوتیپ متحمل توضیح می‌دهد که چرا با وجود تولید ROS، سطوح H_2O_2 و MDA پایین‌تری دارد و در نتیجه آسیب‌غشایی و تخریب کلروفیل کمتری را تجربه می‌کند.



شکل ۱۳. مقایسه میانگین محتوای هیدروژن‌پراکسید عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین محتوای هیدروژن‌پراکسید عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب)، مقایسه میانگین محتوای مالون‌دی‌آلدهید عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (ج)، مقایسه میانگین محتوای مالون‌دی‌آلدهید عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (د). ستون‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 13. Mean comparison of the hydrogen peroxide in lentil under control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of the hydrogen peroxide in lentil in susceptible and tolerant genotypes (b); mean comparison of the malondialdehyde in lentil under control, moderate stress, and severe stress levels (c); and mean comparison of the malondialdehyde in lentil in susceptible and tolerant genotypes (d). Columns sharing the same letters do not differ significantly from each other (Duncan's test at the 1% significance levels).

۳-۱۴. بررسی بیان ژن‌های موثر در تنش خشکی

۳-۱۴-۱. *High Chlorophyll Fluorescence 136*

بیان نسبی ژن *HCF136* در هر دو ژنوتیپ تحت تنش شدید افزایش یافت. این افزایش در ژنوتیپ متحمل ۱/۹۲ برابر و در ژنوتیپ حساس ۱/۵۳ برابر بود (شکل ۱۵). ژن *HCF136* برای موتناژ، پایداری و تعمیر مرکز واکنش فتوسیستم II (PSII) حیاتی است (Meurer *et al.*, 1998). فتوسیستم II اولین و حساس‌ترین بخش زنجیره فتوسنتزی است که تحت تنش خشکی آسیب می‌بیند و به منبع اصلی تولید ROS تبدیل می‌شود (Zadraznik *et al.*, 2019). افزایش بیان *HCF136* در هر دو ژنوتیپ نشان‌دهنده یک مکانیسم فعال تعمیر و نگهداری است؛ گیاه در تلاش است تا واحدهای آسیب‌دیده PSII را جایگزین کند (Plöschinger *et al.*, 2016). بیان بالاتر در ژنوتیپ متحمل نشان‌دهنده ظرفیت تعمیراتی قوی‌تر است (Zadraznik *et al.*, 2019). این موضوع نشان می‌دهد که چرا ژنوتیپ متحمل کلروفیل خود را بهتر حفظ کرده و آسیب اکسیداتیو کمتری را تجربه می‌کند.

۳-۱۴-۲. بنا آمیلاز^{۱۳}

بیان نسبی ژن بتا آمیلاز (BA) در هر دو ژنوتیپ به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۱۵). این کاهش در ژنوتیپ حساس ۰/۱۴ برابر و در ژنوتیپ متحمل ۰/۳۱ برابر بود. این یافته در نگاه اول با افزایش شدید قندهای محلول متناقض است، زیرا BA نشاسته را به قند (مالتوز) تجزیه می کند (Yang et al., 2023). با این حال، برخی ایزوفرم های BA (مانند BAM1) به طور خاص در سلول های نگهبان روزنه بیان می شوند و کاهش بیان آن ها منجر به تجمع نشاسته در این سلول ها و بسته شدن روزنه ها می شود که یک مکانیسم کلیدی حفظ آب است. بنابراین، کاهش کنترل شده بیان این ژن در ژنوتیپ متحمل می تواند یک پاسخ تنظیمی فعال برای کمک به بستن روزنه ها باشد (Prasch et al., 2015). در مقابل، کاهش بسیار شدیدتر در ژنوتیپ حساس به احتمال زیاد نشان دهنده یک فروپاشی کلی در متابولیسم پایه است.

۳-۱۴-۳. میواینوزیتول مونوفسفاتاز

بیان نسبی ژن MIMP نیز در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت (شکل ۱۵). این کاهش در ژنوتیپ متحمل ۰/۳۰ برابر و در ژنوتیپ حساس ۰/۴۹ برابر بود. میواینوزیتول مونوفسفاتاز آنزیمی در مسیر متابولیسم اینوزیتول است. این مسیر هم برای تولید اسمولیت ها و هم برای سیگنالینگ تنش حیاتی است (Nourbakhsh et al., 2015). میواینوزیتول مونوفسفاتاز و سایر فسفاتازها، این مولکول های سیگنالینگ (مانند InsP3) را تجزیه کرده و سیگنال تنش را خاتمه می دهند (Jia et al., 2019). بنابراین، سرکوب شدیدتر MIMP در ژنوتیپ متحمل یک مکانیسم بازخورد منفی پیشرفته است. این سرکوب باعث می شود سیگنال های InsP3 و Ca^{2+} برای مدت طولانی تری فعال بمانند و پاسخ های دفاعی پایین دستی را قوی تر تحریک کنند. ژنوتیپ حساس، با سرکوب کمتر MIMP، سیگنال تنش را زودتر خاموش می کند و قادر به اجرای یک پاسخ دفاعی کامل نیست (Joshi-Saha & Reddy, 2015).

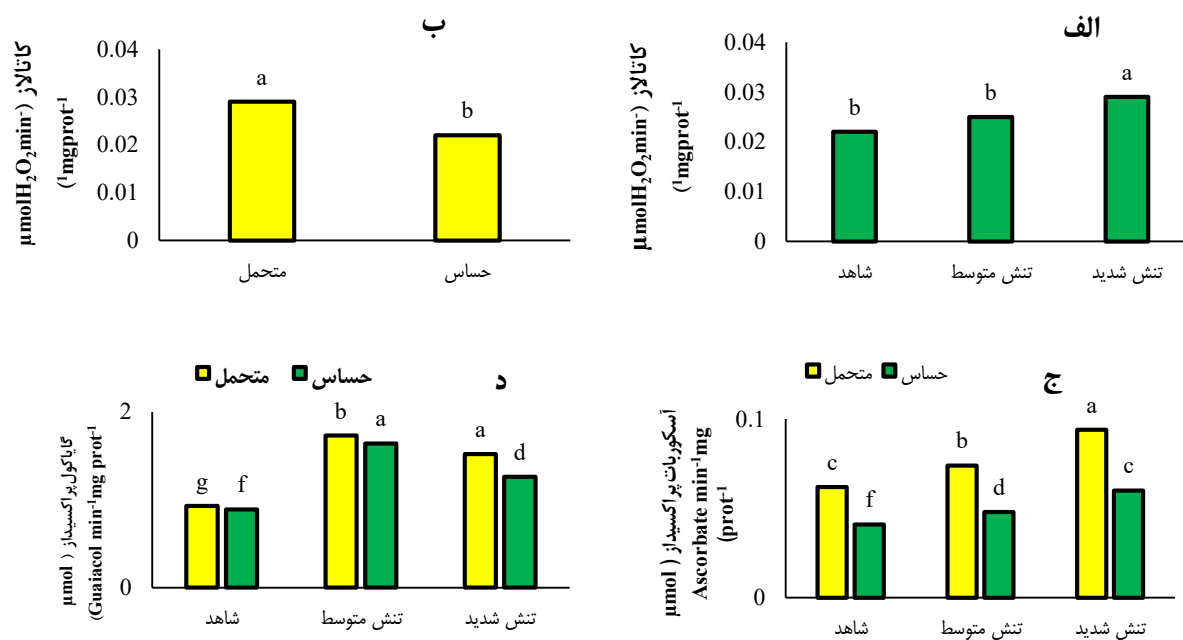
۳-۱۴-۴. DREBIC

بیان نسبی این ژن در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت (متحمل ۰/۵۲ برابر؛ حساس ۰/۱۷ برابر) (شکل ۱۵). این یافته ممکن است در ابتدا متناقض به نظر برسد، زیرا DREB ها به عنوان فعال کننده تحمل به خشکی شناخته می شوند (Joshi et al., 2016). با این حال، خانواده DREB بسیار بزرگ است. تشدید بیان DREB1 می تواند منجر به کوتولگی و کاهش محصول شود (Singh & Laxmi, 2015). بنابراین، کاهش بیان DREB1 در هر دو ژنوتیپ (به ویژه در ژنوتیپ متحمل) می تواند یک اقدام تنظیمی هوشمندانه برای اولویت بندی مسیرهای مرتبط با خشکی و جلوگیری از اتلاف منابع باشد (Kidokoro et al., 2009).

۳-۱۴-۵. (ABA/WDS) Abscisic acid/Water deficit stress

این ژن یک پاسخ کاملاً واگرا و تعیین کننده نشان داد. بیان نسبی ABA/WDS در ژنوتیپ متحمل به شدت افزایش (۲/۵۹ برابر) و در ژنوتیپ حساس به شدت کاهش (۰/۰۹ برابر) یافت (شکل ۱۵). این ژن که بخشی از خانواده پروتئین های ASR است، هسته مرکزی مسیر سیگنالینگ وابسته به ABA را تشکیل می دهد (Liu et al., 2023). این پروتئین ها دارای نقش دوگانه هستند: هم به عنوان فاکتور رونویسی و هم به عنوان چاپرون مولکولی برای محافظت فیزیکی از پروتئین ها و آنزیم ها در برابر تخریب ناشی از کم آبی (Yacoubi et al., 2021).

فعال سازی شدید این ژن در ژنوتیپ متحمل، برتری آن را در دو بخش نشان می دهد؛ فعال سازی سیگنالینگ ABA برای بستن روزنه ها و سایر دفاع ها، و محافظت چاپرونی از پروتئین های کلیدی و آنزیم های آنتی اکسیدان. کاهش شدید آن در ژنوتیپ حساس، دلیل اصلی ناتوانی آن در محافظت از پروتئین ها و آنزیم ها و در نتیجه، فروپاشی غشاء و مرگ سلولی است.



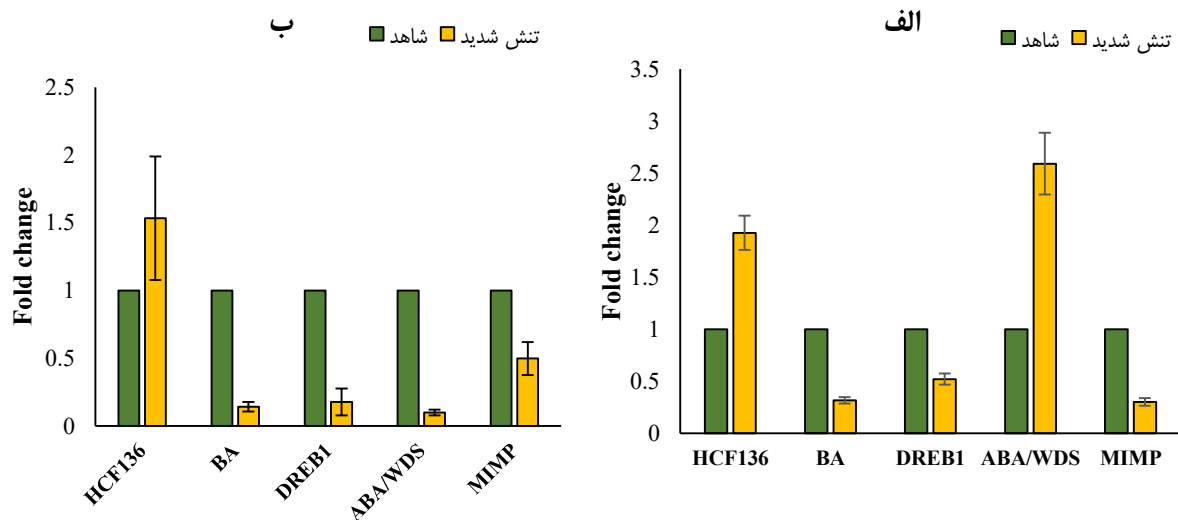
شکل ۱۴. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز عدس در سطح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید (الف)، مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز عدس در دو ژنوتیپ حساس و متحمل (ب)، مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (ج)، مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دو ژنوتیپ حساس و متحمل عدس (د). ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 14. Mean comparison of lentil catalase enzyme activity at control, moderate stress, and severe stress levels (a); mean comparison of lentil catalase enzyme activity in two sensitive and tolerant genotypes (b); mean comparison of the effect of different stress levels on ascorbate peroxidase enzyme activity in two sensitive and tolerant lentil genotypes (c); mean comparison of the effect of different stress levels on guaiacol peroxidase enzyme activity in two sensitive and tolerant lentil genotypes (d). Columns sharing common letters do not show significant differences (Duncan's test at the 1% significance level).

۴. نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق، تفاوت‌های مکانیسمی عمیقی را در استراتژی‌های پاسخ به تنش خشکی بین دو ژنوتیپ متحمل و حساس عدس آشکار می‌سازد. ژنوتیپ حساس یک پاسخ غیرفعال و فروپاشی متابولیکی را نشان داد. اگرچه این ژنوتیپ تلاش‌های اولیه‌ای برای سازگاری عمومی (مانند کاهش تعداد برگ و افزایش کاروتنوئید) نشان داد، اما در نقاط کلیدی تنظیم مولکولی شکست خورد. مهمتر از همه، این ژنوتیپ نه تنها نتوانست مسیر سیگنالینگ حیاتی وابسته به ABA (یعنی ژن *ABA/WDS*) را فعال کند، بلکه بیان این ژن دچار فروپاشی شد. این شکست مولکولی منجر به ناتوانی در فعال‌سازی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی با میل ترکیبی بالا (APX و GPX) شد. در نتیجه، H₂O₂ تجمع یافته و منجر به آسیب اکسیداتیو گسترده، پراکسیداسیون شدید لیپیدی، از دست‌دادن کامل یکپارچگی غشا و تخریب پروتئین‌ها شد. در مقابل، ژنوتیپ متحمل یک استراتژی دفاعی فعال، چندلایه و هماهنگ را اجرا کرد. این استراتژی در سطح ریخت‌شناسی با فعال‌سازی دفاع فیزیکی (افزایش کرک) و حفظ بهتر تورژسانس (حفظ ارتفاع) آشکار شد. این برتری فیزیولوژیکی توسط یک دفاع بیوشیمیایی قدرتمند پشتیبانی می‌شود که شامل تجمع همزمان و بیشتر اسمولیت‌ها (پرولین و قندهای محلول) برای تنظیم اسمزی و محافظت چارپرونی، و یک پاسخ آنتی‌اکسیدانی بسیار برتر از طریق فعال‌سازی شدید آنزیم‌های APX و GPX برای خنثی‌سازی ROS است. نکته قابل توجه، این ژنوتیپ به جای حفظ دستگاه فتوسنتزی، از یک استراتژی محافظت نوری فعال از طریق تخریب کلروفیل و کاهش شاخص سطح برگ برای جلوگیری از تولید ROS استفاده کرد. در نهایت، این دفاع هماهنگ توسط یک شبکه تنظیمی هوشمند مولکولی هدایت می‌شود که شامل افزایش شدید بیان *ABA/WDS* برای ایجاد محافظت چارپرونی و سیگنالینگ ABA، افزایش بیان *HCF136* برای تعمیر فعالانه فتوسیستم II آسیب‌دیده، و تنظیم دقیق مسیرهای سیگنالینگ (مانند سرکوب *MIMP*) برای طولانی‌تر کردن سیگنال تنش است. در مجموع، تحمل در ژنوتیپ مورد

بررسی نه از طریق یک مکانیسم واحد، بلکه از طریق یک پاسخ تنظیمی برتر، فعال سازی هماهنگ مسیرهای محافظت اسمز و آنتی اکسیدانی، و توانایی حفظ یکپارچگی ساختاری و مولکولی در مواجهه با تنش اکسیداتیو حاصل می شود.



شکل ۱۵. نمودارهای بیان نسبی ژن‌ها در تنش شدید نسبت به شاهد. الف) ژنوتیپ متحمل، ب) ژنوتیپ حساس. *HCF136*: High Chlorophyll Fluorescence 136, *BA*: Beta amylase, *DREB1*: Dehydration-responsive element binding protein 1, *ABA/WDS*: Abscisic acid/water deficit stress, *MIMP*: myo-inositol monophosphatase.

Figure 15. Graphs of relative gene expression under severe stress compared to control. a) Tolerant genotype, b) Sensitive genotype. (*HCF136*: High Chlorophyll Fluorescence 136, *BA*: Beta amylase, *DREB1*: Dehydration-responsive element binding protein 1, *ABA/WDS*: Abscisic acid/water deficit stress, *MIMP*: myo-inositol monophosphatase).

۵. منابع

- امینی، ز.، حداد، ر.، و مرادی، ف. (۱۳۸۷). بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.). علوم آب و خاک، ۱۲(۴۶)، ۶۵-۷۴. DOI: 20.1001.1.24763594.1387.12.46.7.6
- حسینعلی پور، ب.، راهنما، ا.، و فرخیان فیروزی، ا. (۱۳۹۹). اثر تنش خشکی بر رشد و معماری ریشه گندم در مرحله رشد رویشی. علوم گیاهان زراعی ایران، ۱۵(۱)، ۶۳-۷۵. DOI: 20.1001.1.20084811.1399.51.1.6.5
- خزاعی، م.، گلوی، م.، دهمرده، م.، موسوی نیک، س.م.، زمانی، غ.، مهدی نژاد، ن.، و همکاران. (۱۳۹۷). تأثیر تنش خشکی بر فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در سه ژنوتیپ ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۷(۲۷)، ۲۶۹-۲۸۰. DOI: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.18.9
- قوچان‌بان حق‌وردی، ا.، خزیمه‌نژاد، ح.، مقری فریز، ع.، و خراشادی‌زاده، ا. (۱۴۰۳). Efficiency of Machine Learning Techniques (for Predicting Vapor Pressure Deficit in Arid and Semi-Arid Regions (Case Study: South Khorasan Province). مجله پژوهش‌های خشکسالی و تغییر اقلیم، ۲(۴)، ۸۵-۱۰۲. DOI: 10.22077/jdcr.2024.8327.1082.۱۰۲-۸۵
- Abdel-Ghany, S.E., Ullah, F., Ben-Hur, A., & Reddy, A.S.N. (2020). Transcriptome analysis of drought-resistant and drought-sensitive sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes in response to PEG-induced drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 772.
- Aebi, H. (1974). Catalase. In *Methods of enzymatic analysis* (pp. 673–684). Elsevier.
- Anjum, N.A., Sharma, P., Gill, S.S., Hasanuzzaman, M., Khan, E.A., Kachhap, K., Mohamed, A.A., Thangavel, P., Devi, G.D., & Vasudhevan, P. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(19), 19002–19029.
- Bates, L.S., Waldren, R.P.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207.
- Biju, S., Fuentes, S., & Gupta, D. (2023). Novel insights into the mechanism (s) of silicon-induced drought stress tolerance in lentil plants revealed by RNA sequencing analysis. *BMC Plant Biology*, 23(1), 498.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.

- Chance Maehly, A.C. (1995). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764–775.
- Chen, J.J., Sun, Y., Kopp, K., Oki, L., Jones, S.B., & Hippias, L. (2022). Effects of water availability on leaf trichome density and plant growth and development of *Shepherdia× utahensis*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 855858.
- Chun, S.C., Paramasivan, M., & Chandrasekaran, M. (2018). Proline accumulation influenced by osmotic stress in arbuscular mycorrhizal symbiotic plants. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2525.
- Cruz de Carvalho, M.H. (2008). Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 3(3), 156–165.
- El Haddad, N., En-Nahli, Y., Choukri, H., Aloui, K., Mentag, R., El-Baouchi, A., Hejjaoui, K., Rajendran, K., Smouni, A., & Maalouf, F. (2023). Metabolic mechanisms underlying heat and drought tolerance in lentil accessions: Implications for stress tolerance breeding. *Plants*, 12(23), 3962.
- Erskine, W. (2009). Global production, supply and demand. *The Lentil: Botany, Production and Uses*, 4–12.
- Feng, R., Zhang, Y., Yu, W., Hu, W., Wu, J., Ji, R., Wang, H., & Zhao, X. (2013). Analysis of the relationship between the spectral characteristics of maize canopy and leaf area index under drought stress. *Acta Ecologica Sinica*, 33(6), 301–307.
- Feng, S., Sikdar, A., Wang, J., Memon, M., Li, B., Ma, H., & Lv, G. (2021). Response of *Amorpha fruticosa* seedlings to drought and rewatering in arid and semi-arid environment. *Pakistan Journal of Botany*, 53(2), 419–424.
- Feng, X., Zhong, L., Tian, Q., & Zhao, W. (2022). Leaf water potential-dependent leaflet closure contributes to legume leaves cool down and drought avoidance under diurnal drought stress. *Tree Physiology*, 42(11), 2239–2251.
- Ghochanian Haghverdi, E., Khozayemeh Nezhad, H., Moghri Friz, A., & Khorashadizadeh, O. (2025). Efficiency of machine learning techniques for predicting vapor pressure deficit in arid and semi-arid regions (Case study: South Khorasan Province). *Journal of Drought and Climate Change Research*, 2(4), 85–102. <https://doi.org/10.22077/jdcr.2024.8327.1082>.
- Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N., & Khan, M.A.R. (2021). Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: A review of potential mechanism. *Plant Signaling & Behavior*, 16(8), 1913306.
- Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F., & Prange, R.K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604–611.
- Ibrahim, M.H., & Jaafar, H.Z.E. (2012). Primary, secondary metabolites, H₂O₂, malondialdehyde and photosynthetic responses of *Orthosiphon stamineus* Benth. to different irradiance levels. *Molecules*, 17(2), 1159–1176.
- Ifeduba, A.M., Zhen, S., Pandey, J., & Vales, M.I. (2024). Leaf membrane stability under high temperatures as an indicator of heat tolerance in potatoes and genome-wide association studies to understand the underlying genetics. *Plants*, 13(16), 2175.
- Jia, Q., Kong, D., Li, Q., Sun, S., Song, J., Zhu, Y., Liang, K., Ke, Q., Lin, W., & Huang, J. (2019). The function of inositol phosphatases in plant tolerance to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16), 3999.
- Joshi, R., Wani, S.H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z.A., Lone, A.A., Pareek, A., & Singla-Pareek, S.L. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: Current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029.
- Joshi-Saha, A., & Reddy, K.S. (2015). Repeat length variation in the 5'UTR of myo-inositol monophosphatase gene is related to phytic acid content and contributes to drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 66(19), 5683–5690.
- Kalefetoğlu Macar, T., & Ekmeççi, Y. (2008). PSII photochemistry and antioxidant responses of a chickpea variety exposed to drought. *Zeitschrift Für Naturforschung C.*, 63(7–8), 583–594.
- Khan, A.A., Wang, Y.F., Akbar, R., & Alhoqail, W.A. (2025). Mechanistic insights and future perspectives of drought stress management in staple crops. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1547452.
- Khatun, M., Sarkar, S., Era, F.M., Islam, A.K.M.M., Anwar, M.P., Fahad, S., Datta, R., & Islam, A.K.M.A. (2021). Drought stress in grain legumes: Effects, tolerance mechanisms and management. *Agronomy*, 11(12), 2374.
- Kidokoro, S., Maruyama, K., Nakashima, K., Imura, Y., Narusaka, Y., Shinwari, Z.K., Osakabe, Y., Fujita, Y., Mizoi, J., & Shinozaki, K. (2009). The phytochrome-interacting factor PIF7 negatively regulates *DREB1* expression under circadian control in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151(4), 2046–2057.
- Kumar, A., & Elston, J. (1992). Genotypic differences in leaf water relations between *Brassica juncea* and *B. napus*. *Annals of Botany*, 70(1), 3–9.
- Lichtenthaler, H.K., & Wellburn, A.R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Portland Press Ltd.
- Liu, H., Ding, Q., Cao, L., Huang, Z., Wang, Z., Zhang, M., & Jian, S. (2023). Identification of the abscisic acid-, stress, and ripening-induced (ASR) family involved in the adaptation of *Tetragonia tetragonoides* (Pall.) kuntze to saline-alkaline and drought habitats. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15815.
- Livak, K.J., & Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Meurer, J., Plücken, H., Kowallik, K.V., & Westhoff, P. (1998). A nuclear-encoded protein of prokaryotic origin is essential for the stability of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. *The EMBO Journal*.

- Montejano-Ramírez, V., & Valencia-Cantero, E. (2024). The importance of lentils: An overview. *Agriculture*, 14(1), 103.
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research progress and perspective on drought stress in legumes: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2541.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1), 131–140.
- Noor, M.M.AI, Tahjib-Ul-Arif, M., Alim, S.M.A., Islam, M.M., Hasan, M.T., Babar, M.A., Hossain, M.A., Jewel, Z.A., Murata, Y., & Mostofa, M.G. (2024a). Lentil adaptation to drought stress: Response, tolerance, and breeding approaches. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1403922.
- Noor, M.M.AI, Tahjib-Ul-Arif, M., Alim, S.M.A., Islam, M.M., Hasan, M.T., Babar, M.A., Hossain, M.A., Jewel, Z.A., Murata, Y., & Mostofa, M.G. (2024b). Lentil adaptation to drought stress: Response, tolerance, and breeding approaches. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1403922.
- Nourbakhsh, A., Collakova, E., & Gillaspay, G.E. (2015). Characterization of the inositol monophosphatase gene family in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 5, 725.
- Öktem, H.A., Eyidoğan, F., Demirba, D., Bayraç, A.T., Öz, M.T., Özgür, E., Selçuk, F., & Yücel, M. (2008). Antioxidant responses of lentil to cold and drought stress. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 17, 15–21.
- Plöchinger, M., Schwenkert, S., Von Sydow, L., Schröder, W.P., & Meurer, J. (2016). Functional update of the auxiliary proteins PsbW, PsbY, HCF136, PsbN, TerC and ALB3 in maintenance and assembly of PSII. *Frontiers in Plant Science*, 7, 423.
- Prasch, C.M., Ott, K.V., Bauer, H., Ache, P., Hedrich, R., & Sonnewald, U. (2015). β -amylase1 mutant *Arabidopsis* plants show improved drought tolerance due to reduced starch breakdown in guard cells. *Journal of Experimental Botany*, 66(19), 6059–6067.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808.
- Sehgal, A., Sita, K., Kumar, J., Kumar, S., Singh, S., Siddique, K.H.M., & Nayyar, H. (2017). Effects of drought, heat and their interaction on the growth, yield and photosynthetic function of lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes varying in heat and drought sensitivity. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1776.
- Shahzad, M., Khan, Z., Nazeer, W., Arshad, S.F., Ahmad, F., Farid, B., Shahid, M.R., & Riaz, H. (2021). Effect of drought on trichome density and length in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Bioresource Management*, 8(1), 15.
- Singh, D., & Laxmi, A. (2015). Transcriptional regulation of drought response: A tortuous network of transcriptional factors. *Frontiers in Plant Science*, 6, 895.
- Sofa, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 13561–13578.
- Sturgeon, R.J. (1990). Monosaccharides. In *Methods in Plant Biochemistry*, 2, 1–37. Elsevier.
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., & Gasparikova, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil and Environment*, 52(4), 184.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59–66.
- Yacoubi, I., Hamdi, K., Fourquet, P., Bignon, C., & Longhi, S. (2021). Structural and functional characterization of the aba-water deficit stress domain from wheat and barley: An intrinsically disordered domain behind the versatile functions of the plant abscisic acid, stress and ripening protein family. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2314.
- Yang, T., Li, H., Li, L., Wei, W., Huang, Y., Xiong, F., & Wei, M. (2023). Genome-wide characterization and expression analysis of α -amylase and β -amylase genes underlying drought tolerance in cassava. *BMC Genomics*, 24(1), 190.
- Ye, H., Roorkiwal, M., Valliyodan, B., Zhou, L., Chen, P., Varshney, R.K., & Nguyen, H.T. (2018). Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. *Journal of Experimental Botany*, 69(13), 3267–3277.
- Ye Heng, Y.H., Manish Roorkiwal, M.R., Babu Valliyodan, B.V., Zhou LiJuan, Z.L., Chen PengYin, C.P., Varshney, R.K., & Nguyen, H.T. (2018). *Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes*.
- Zadražnik, T., Moen, A., & Šuštar-Vozlič, J. (2019). Chloroplast proteins involved in drought stress response in selected cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *3 Biotech*, 9(9), 331.
- Zeroual, A., Baidani, A., & Idrissi, O. (2022a). Drought stress in lentil (*Lens culinaris* Medik) and approaches for its management. *Horticulturae*, 9(1), 1.
- Zeroual, A., Baidani, A., & Idrissi, O. (2022b). Drought stress in lentil (*Lens culinaris* Medik) and approaches for its management. *Horticulturae*, 9(1), 1.