

بررسی تأثیر پیش تیمار بذر ماش سیاه (*Vigna mungo* L.) با سدیم هیدروژن سولفید (NaHS) تحت شرایط تنش قلیایی

شبنم یگانه‌فر^۱، فاطمه رحمانی^{۲*} و امیر رحیمی^۳

۱ و ۲) گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳) گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

نویسنده مسئول: f.rahmani@urmia.ac.ir

این مقاله برگرفته از رساله دکترا می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۴

چکیده

افزایش شوری خاک بدنبال کاهش بارندگی‌ها و گسترش خشکی‌ها باعث شده میزان قلیائیت خاک‌ها هم افزایش پیدا کند و این خود می‌تواند صدمات جبران ناپذیری را به محصولات کشاورزی وارد کند. در این پژوهش اثر پیش تیمار بذر در گیاه ماش سیاه (*Vigna mungo* L.) با هیدروژن سولفید سدیم تحت تنش قلیایی با $\text{pH}=9$ مورد بررسی قرار گرفته است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در آزمایشگاه دانشکده علوم دانشگاه ارومیه انجام شد. دو هفته پس از جوانه‌زنی، گیاهان در مرحله ۴ برگ به مدت ۱۴ روز تحت تنش قلیایی واقع شدند و سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها)، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، پرولین، قند محلول، پروتئین کل و آنزیم کاتالاز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پیش تیمار بذر با غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم به طور چشمگیری آثار منفی تنش قلیایی را در گیاه ماش سیاه تعدیل کرد. تنش قلیایی به تنهایی رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها را به ترتیب ۵۳/۶۰، ۵۱/۹۸ و ۴۴/۸۷ درصد کاهش داد، اما اعمال هیدروژن سولفید سدیم، به ترتیب موجب افزایش ۲۷/۱۳، ۲۳/۶۶ و ۲۳/۷۲ درصدی آن‌ها نسبت به تیمار تنش شد. از سوی دیگر، در حالی که تنش قلیایی شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی را تا ۲۳۴/۲۴ درصد (سایر آلدئیدها)، سطح پراکسید هیدروژن برگ را تا ۱۲۳/۴۳ درصد افزایش داد، تیمار با ۱ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم این مقادیر را به ترتیب ۲۶/۵۰ و ۳۲/۱۹ درصد کاهش داد. همچنین، اگرچه تجمع پرولین در پاسخ به تنش قلیایی ۳۶/۶۱ درصد افزایش یافت، پیش تیمار با این غلظت، این افزایش را ۲۳/۱۳ درصد کاهش داد. در مجموع، غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم به عنوان مؤثرترین تیمار، نقش حفاظتی معنی‌داری در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و بهبود تحمل به تنش قلیایی ایفا کرد.

واژه‌های کلیدی: پیش تیمار بذر، تنش قلیایی، ماش سیاه و هیدروژن سولفید سدیم.

مقدمه

تنش قلیایی یکی از مهم ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک جهان به شمار می رود (Cao et al., 2022; Li and Yang, 2023). بر اساس ارزیابی سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، نزدیک به ۱٫۴ میلیارد هکتار از اراضی جهان بیش از ۱۰ درصد از کل مساحت کره زمین تحت تأثیر شوری و قلیایی قرار دارند و یک میلیارد هکتار دیگر نیز در معرض خطر هستند (FAO, 2024). این تنش عمدتاً ناشی از تجمع بی کربنات سدیم (NaHCO_3) و کربنات سدیم (Na_2CO_3) در خاک است که هیدرولیز این ترکیبات موجب افزایش pH محلول خاک و قلیایی شدن آن می شود. برخلاف تنش شوری که عمدتاً از طریق فشار اسمزی و سمیت یونی به گیاه آسیب می رساند، تنش قلیایی به دلیل pH بالای محیط ریشه اثرات مخرب تری بر رشد و متابولیسم گیاهان دارد. (Cao et al., 2022). pH بالای محیط ریشه قابلیت جذب عناصر غذایی ضروری مانند آهن (Fe)، منیزیم (Mg)، کلسیم (Ca) و فسفر (P) را کاهش می دهد (Farghary et al., 2022). علاوه بر این، شرایط قلیایی موجب اختلال در عملکرد غشاهای سلولی، کاهش محتوای رنگدانه های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز و افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) می شود که در نهایت منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه خواهد شد (Chen et al., 2022).

در سال های اخیر، سولفید هیدروژن (H_2S)^۱ به عنوان یکی از مهم ترین مولکول های سیگنال دهنده گازی در گیاهان شناخته شده است (Wang et al., 2021). اگرچه در گذشته H_2S عمدتاً به عنوان یک گاز سمی شناخته می شد، پژوهش های جدید نشان داده اند که این مولکول در غلظت های پایین در تنظیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از جمله جوانه زنی بذر، رشد ریشه، تنظیم عملکرد روزنه ها، بلوغ میوه و پاسخ به تنش های غیرزیستی نقش مهمی ایفا می کند (Mishra et al., 2021; Khanna et al., 2021). سدیم هیدروژن سولفید (NaHS)^۲ به عنوان دهنده خارجی H_2S به طور گسترده در مطالعات گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات مختلف نشان داده اند که کاربرد NaHS می تواند تحمل گیاهان را در برابر تنش های مختلف از جمله خشکی، شوری، فلزات سنگین و سایر تنش های محیطی افزایش دهد (Khanna et al., 2021). مکانیسم های حفاظتی H_2S شامل افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، کاهش تجمع گونه های فعال اکسیژن، حفظ پایداری غشا، بهبود جذب عناصر غذایی و تنظیم اسمزی است (Wang et al., 2021).

^۱Hydrosulfide^۲Sodium hydrosulfide

ماش سیاه (*Vigna mungo* L.)^۳ یکی از حبوبات مهم با ارزش غذایی بالا است که در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان کشت می‌شود. این گیاه منبع غنی از پروتئین، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی بوده و نقش مهمی در تناوب زراعی و بهبود حاصلخیزی خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن ایفا می‌کند (Nair et al., 2024). با این وجود، تولید این گیاه ارزشمند تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی مختلف از جمله شوری، خشکی و قلیائیت خاک قرار می‌گیرد.

با توجه به گسترش روزافزون اراضی قلیایی و اثرات منفی این تنش بر تولید محصولات زراعی، یافتن راهکارهای مؤثر برای افزایش تحمل گیاهان به این شرایط ضروری است. پیش‌تیمار بذر با ترکیبات سیگنال‌دهنده نظیر NaHS روشی ساده، کم‌هزینه و سازگار با محیط زیست محسوب می‌شود که می‌تواند به عنوان راهکاری عملی در کشاورزی پایدار مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر غلظت‌های مختلف سدیم هیدروژن سولفید به عنوان بهبوددهنده بر مقاومت گیاه ماش سیاه تحت تنش قلیایی است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در اتاق رشد گیاهان گروه علوم زیستی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه و با طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی و با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل: شاهد، تنش قلیایی، تیمار هیدروژن سولفید سدیم و تیمار ترکیبی هیدروژن سولفید سدیم + تنش قلیایی بودند. گیاهان در گلدان‌های حاوی پرلیت، در شرایط کنترل‌شده اتاق کشت [دما ۲۶-۳۳ درجه سانتی‌گراد، نور ۳۰۰-۳۵۰ میکرومول / مترمربع / ثانیه ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)، رطوبت ۶۰-۸۰ درصد، دوره نوری ۸/۱۶ ساعت (روشنایی/تاریکی)] قرار داده شدند.

در ابتدا بذرهای ماش سیاه رقم ایرانی با آب مقطر شسته و سپس به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضد-عفونی شدند. بذرها به صورت تصادفی به گروه‌های شاهد (خیساندن در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت) و تیمار (خیساندن در محلول هیدروژن سولفید سدیم با غلظت‌های ۰/۲۵ تا ۳ میلی‌مولار به مدت ۲۴ ساعت) تقسیم شدند. آبیاری ابتدا با آب مقطر و پس از جوانه‌زنی با محلول هوگلند (با غلظت‌های افزایشی از ۱/۱۶ تا ۱/۲) انجام شد. در مرحله ۴ برگ، نیمی از گلدان‌ها به مدت دو هفته تحت تنش قلیایی با محلول بی‌کربنات سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار (pH=۹) در محلول هوگلند (نصف غلظت) قرار گرفتند (Chuanmakthong et al., 2019). برداشت گیاهان در مرحله ۶ برگ بعد از اعمال ۱۴ روز که مدت

^۳ Black gram

زمان کافی برای ایجاد مهار رشد، عدم تعادل تغذیه‌ای و آسیب اکسیداتیو در شرایط تنش قلیایی صورت گرفت (Sagervanshi et al., 2021) و سپس نمونه‌ها برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی فریز شدند.

در این تحقیق، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b و کاروتنوئیدها) با استفاده از استون ۱۰۰ درصد استخراج گردید. به این منظور، ۰/۰۵ گرم بافت برگ در استون هموژنیزه و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ مدل (WPA S200, UK) با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه، جذب نوری مایع رویی در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با هموژنیزاسیون ۰/۲ گرم بافت تر گیاهی (برگ و ریشه) در تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۱ درصد، سانتریفیوژ، و سپس افزودن محلول باربیوتیک اسید (TBA) ۰/۵ درصد و حرارت دادن به مدت ۳۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. جذب نوری در طول موج‌های ۵۳۲ و ۴۵۵ نانومتر قرائت و با استفاده از ضرایب خاموشی مربوطه محاسبه گردید (Heath and Packer, 1968).

جهت سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2) میزان ۰/۲ گرم بافت تر گیاهی توزین و با TCA ۰/۱ درصد هموژن گردید. محلول حاصل در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به محلول رویی، بافر فسفات‌پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH=۷ و یدیدپتاسیم ۱ مولار (KI) افزوده شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتاق انکوبه شد، سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر سنجیده شد (Alexieva et al., 2001).

عصاره‌گیری جهت سنجش پرولین با استفاده از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی با اتانول ۹۵ درصد هموژن گردید. پس از تشکیل دو فاز، فاز رویی در لوله‌های آزمایش ریخته شد و فاز پایینی دوباره با اتانول ۷۰ درصد شستشو داده شد. عصاره حاصل را روی فاز بالایی ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال به عصاره گیاهی افزوده و ورتکس شد. محلول حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از خنک شدن، بنزن اضافه و ورتکس شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق باقی ماند. در نهایت محلول رویی برداشته شده و جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر سنجیده شد (Paquin and Lechasseur, 1979).

میزان قندهای محلول به روش آنترون تعیین شد. برای این منظور، به عصاره گیاهی استخراج شده معرف آنترون افزوده شد و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Irigoyen et al., 1992). جهت سنجش پروتئین، ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی با بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۵ که به آن ۱ گرم پلی-وینیل‌پیرولیدون (PVP) و اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار اضافه شده بود، ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی جهت سنجش پروتئین و آنزیم کاتالاز (CAT) مورد استفاده قرار گرفت (Mehrian et al., 2023). به منظور سنجش غلظت پروتئین، به عصاره پروتئینی استخراج شده، معرف برادفورد افزوده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر سنجیده شد (Bradford, 1976).

جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT; EC 1.11.1.6)، عصاره آنزیمی با بافر فسفات‌پتاسیم با pH=۷ مخلوط شد. در لحظه خواندن جذب نوری، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار اضافه گردید و فعالیت آنزیم به صورت کاهشی در مدت زمان یک دقیقه با طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید (Aebi, 1984).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Student-Newman-Keuls (SNK) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL نسخه (۲۰۱۶) رسم شدند. اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA TWO WAY) محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. همان‌گونه که در جدول‌ها مشاهده می‌شود، اثر تنش قلیایی و غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک هزارم معنی‌دار گردیده است.

جدول ۱: تجزیه واریانس تاثیرات تنش قلیایی وهیدروژن سولفید سدیم بر روی پارامترهای بیوشیمیایی اندازه گیری شده در برگ گیاه ماش سیاه

منبع تغییرات	درجه آزادی	سایر آلدئیدها	پرولین	پراکسید هیدروژن	مالون دی آلدئید	کاروتنوئید	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a</i>	قند	پروتئین	کاتالاز
تنش	۱	۹۴۳۵۴/۲۹	۲/۱۲	۱/۱۸	۱۶۰/۷۴	۳۳۷/۱۵	۱/۰۸	۱/۱۷	۱۸۴/۷۰	۳/۱۴	۱/۰۱
هیدروژن سولفید سدیم	۶	۳۸۴۱۱۴۱	۱۶/۹۶	۱۵/۵۵	۳۷۹۹۰/۶۱	۶۵۳۶۶/۳۴	۲۷/۱۶	۱۴/۳۱	۱۵۴۵۴/۲۱	۷۸/۸۳	۱۶/۷۷
تنش×هیدروژن سولفید سدیم	۶	۹۳۲۴/۲۶	۱/۴۹	۱/۱۷	۱۶۱/۰۸	۳۲۵/۱۷	۱/۰۶	۱/۰۹	۱۸۹/۳۱	۲/۸۶	۱/۲۶
خطا	۲۸	۹۴۵/۶۸	۰/۳۴	۰/۳۳	۳/۰۸	۱۶/۰۵	۰/۳۳	۰/۳۴	۲/۴۷	۰/۳۴	۰/۳۴

تمامی اثرات در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار هستند.

جدول ۲: تجزیه واریانس تاثیرات تنش قلیایی وهیدروژن سولفید سدیم بر روی پارامترهای بیوشیمیایی اندازه گیری شده

در ریشه گیاه ماش سیاه

منبع تغییرات	درجه آزادی	سایر آلدئیدها	پرولین	پراکسید هیدروژن	مالون دی آلدئید	قند	پروتئین	کاتالاز
تنش	۱	۳۷/۵۱	۱۰۷	۱/۰۴	۱۱/۳۶	۳۴/۲۲	۱/۰۶	۱/۳۰
هیدروژن سولفید سدیم	۶	۱۵۰۳۶.۹۰	۱۴/۴۹	۲۸/۲۴	۱۸۳۳/۸۴	۷۵۸/۱۲	۱۳/۲۷	۱۶/۸۷
تنش× هیدروژن سولفید سدیم	۶	۴۴۰.۱	۱/۱۳	۱/۰۸	۱۳/۰۷	۳۵/۵۰	۱/۰۸	۱/۰۵
خطا	۲۸	۶.۸۶	۰/۳۴	۰/۳۳	۰/۸۱	۱/۰۹	۰/۳۴	۰/۳۴

تمامی اثرات در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار هستند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

تنش قلیایی به تنهایی باعث کاهش محتوای کلروفیل (a) ۵۳/۶۰ درصد، کلروفیل (b) ۵۱/۹۸ درصد و کاروتنوئیدها (۴۴/۸۷ درصد) در ماش سیاه شد که نشان‌دهنده حساسیت بالای گیاه است. پیش تیمار بذر با غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم اثر حفاظتی معنی‌داری داشت. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به ترتیب باعث افزایش ۲۷/۹۹ درصد کلروفیل a، ۱۶/۴۹ درصد کلروفیل b و ۲۶/۱۷ درصد کاروتنوئیدها شد، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار نیز به ترتیب افزایش ۲۷/۱۳ درصد، ۲۳/۶۶ درصد و ۲۳/۷۲ درصد را نشان داد (جدول ۳).

تنش قلیایی از چند مسیر موازی موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد. pH بالا سبب رسوب یون‌های Mg^{2+} و Fe^{2+} در ریزوسفر شده، در حالیکه این عناصر برای بیوسنتز کلروفیل ضروری هستند و کمبود آن‌ها مسیر سنتز کلروفیل را مختل می‌سازد (Fang et al., 2021; Wang et al., 2024). همچنین تنش قلیایی با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به ساختار کلروپلاست آسیب رسانده و فعالیت آنزیم کلروفیلاز را افزایش می‌دهد که در نتیجه تجزیه کلروفیل تسریع می‌یابد (Jiang et al., 2025). افزون بر آن، بیان ژن‌های کلیدی بیوسنتز کلروفیل نظیر *GOGAT* و *HEMA* تحت تنش قلیایی کاهش می‌یابد که منجر به اختلال در مسیر سنتز پورفیرین و در نهایت کاهش محتوای کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید می‌شود (Jiang et al., 2025).

کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با یافته‌های مشابه در گیاهان سیب زمینی تحت تنش قلیایی هم‌خوانی دارد (Shen et al., 2025). بهبود محتوای رنگیزه‌ها توسط سولفید هیدروژن به نقش سیگنال‌دهندگی آن نسبت داده می‌شود. سولفید هیدروژن با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، افزایش پایداری غشای کلروپلاست و تنظیم بیوسنتز رنگیزه‌ها، از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند (Liu et al., 2024b; Younis and Mansour, 2024). غلظت‌های پایین تا متوسط هیدروژن سولفید سدیم مؤثرتر از غلظت‌های بالاتر عمل کردند و از طریق تقویت مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی و تثبیت غشاهای تیلاکوئیدی، تحمل به تنش قلیایی را افزایش دادند (Guo et al., 2022).

جدول ۳: محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها) (میلی گرم / گرم وزن تر) در بافت برگ گیاه ماش

سیاه پیش تیمار شده در غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی مولار) تحت تنش قلیایی با $\text{pH}=9$

هیدروژن سولفید سدیم (میلی مولار)	تنش قلیایی	کلروفیل <i>a</i> (میلی گرم / گرم وزن تر)	کلروفیل <i>b</i> (میلی گرم / گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها (میلی گرم / گرم وزن تر)
۰	-	$1/263 \pm 0/43^a$	$0/581 \pm 0/38^a$	$91/386 \pm 3/23^a$
۰	+	$0/586 \pm 0/14^{cd}$	$0/279 \pm 0/03^{cd}$	$50/379 \pm 1/85^{de}$
۰/۲۵	-	$0/985 \pm 0/13^b$	$0/459 \pm 0/06^{ab}$	$74/509 \pm 9/05^{bc}$
۰/۲۵	+	$0/444 \pm 0/25^d$	$0/189 \pm 0/05^d$	$38/010 \pm 1/65^e$
۰/۵	-	$1/130 \pm 0/21^{ab}$	$0/499 \pm 0/04^{ab}$	$85/229 \pm 3/67^{ab}$
۰/۵	+	$0/750 \pm 0/07^c$	$0/325 \pm 0/03^c$	$63/561 \pm 6/08^{cd}$
۱	-	$0/985 \pm 0/33^b$	$0/451 \pm 0/16^b$	$74/413 \pm 1/33^{bc}$
۱	+	$0/700 \pm 0/05^c$	$0/314 \pm 0/13^c$	$58/558 \pm 3/88^{cd}$
۱/۵	-	$1/013 \pm 0/32^b$	$0/459 \pm 0/08^{ab}$	$82/659 \pm 1/73^{ab}$
۱/۵	+	$0/745 \pm 0/05^c$	$0/345 \pm 0/18^c$	$62/329 \pm 4/18^{cd}$
۲	۰	$1/125 \pm 0/07^{ab}$	$0/517 \pm 0/04^{ab}$	$92/498 \pm 4/17^a$
۲	+	$0/560 \pm 0/04^{cd}$	$0/238 \pm 0/02^{cd}$	$48/312 \pm 3/43^{de}$
۳	-	$1/173 \pm 0/13^{ab}$	$0/528 \pm 0/16^{ab}$	$96/039 \pm 1/29^a$
۳	+	$0/731 \pm 0/02^c$	$0/303 \pm 0/18^c$	$60/939 \pm 1/91^{cd}$

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار ($n=3$) ارائه شده‌اند. میانگین‌هایی که با حروف متفاوت دنبال می‌شوند،

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری دارند ($p \leq 0/05$).

پراکسیداسیون لیپیدی

تنش قلیایی باعث افزایش قابل توجه مالون‌دی‌آلدئید (۱۱/۲۵ درصد) و سایر آلدئیدها (۲۳۴/۲۴ درصد) در برگ گیاه ماش سیاه شد که نشان‌دهنده تشدید آسیب‌های اکسیداتیو و تخریب غشای سلولی است. پیش تیمار بذر با ۱ میلی مولار هیدروژن سولفید سدیم مؤثرترین تیمار بود و میزان مالون‌دی‌آلدئید را ۱۸/۸۵ درصد و سایر آلدئیدها را ۲۶/۵۰ درصد کاهش داد و نقش محافظتی سولفید هیدروژن را در برابر آسیب‌های غشایی نشان داد. در ریشه‌ها، تنش قلیایی باعث کاهش مالون‌دی‌آلدئید (۴۰/۹۲ درصد) و سایر آلدئیدها (۲۹/۰۴ درصد) نسبت به کنترل شد که ممکن است نشان‌دهنده سازگاری ریشه‌ها از طریق ساز و کارهای دیگر باشد. در تیمار ترکیبی (تنش قلیایی + هیدروژن سولفید سدیم)، اثر سولفید هیدروژن بر پراکسیداسیون لیپیدی در ریشه‌ها پیچیده‌تر بود و به غلظت و تعامل با تنش قلیایی بستگی داشت (جدول ۴). مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخصی قابل اعتماد برای ارزیابی شدت تنش اکسیداتیو، نشان‌دهنده میزان آسیب غشایی، کارایی سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت سازگاری گیاه در برابر تنش است (Fatima et al., 2025; Ma et al., 2025). افزایش مالون‌دی‌آلدئید در برگ تحت تنش قلیایی، ناشی از اختلال در تعادل یونی، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و پر-اکسیداسیون اسیدهای چرب غشایی است (Ma et al., 2025). کاهش مالون‌دی‌آلدئید در ریشه نشان‌دهنده پاسخ متفاوت

به سولفید هیدروژن و اندام-ویژه گیاه به تنش است، که احتمالاً ریشه‌ها بخشی از تنش را از طریق تنظیم جذب یون‌ها و تغییرات متابولیکی مهار کرده‌اند (Ma et al., 2025).

جدول ۴: محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها (میکرومول / گرم وزن تر) در برگ و ریشه گیاه ماش سیاه پیش تیمار-

شده در غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی‌مولار) تحت تنش قلیایی با pH=۹

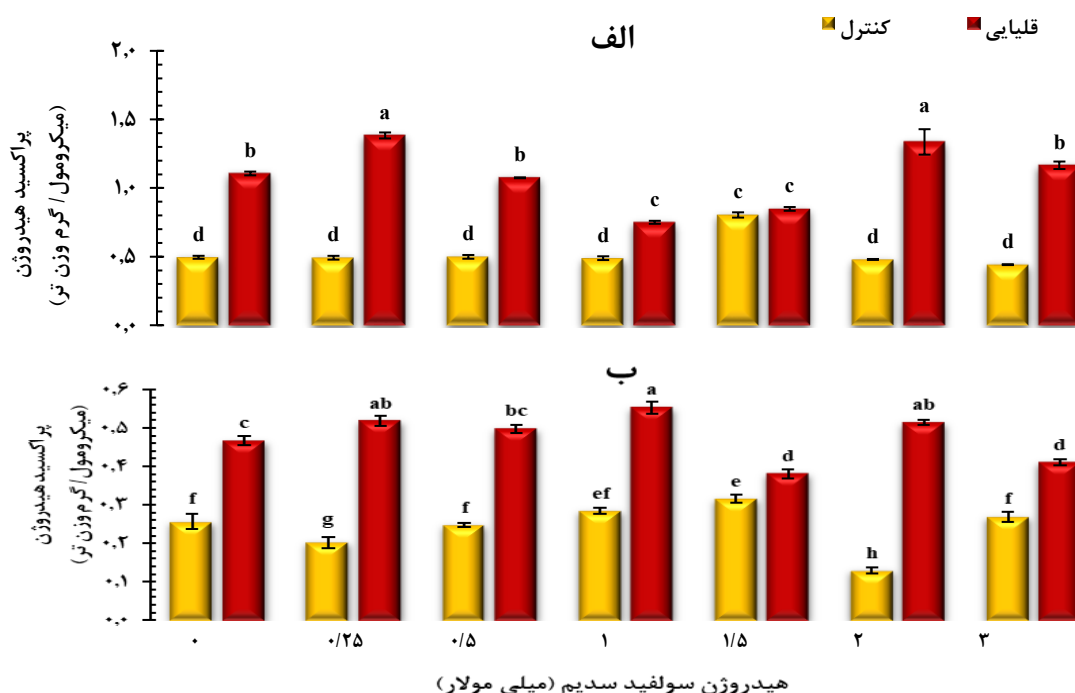
هیدروژن سولفید سدیم (میلی‌مولار)	تنش قلیایی	مالون‌دی‌آلدئید برگ (میکرومول / گرم وزن تر)	مالون‌دی‌آلدئید ریشه (میکرومول / گرم وزن تر)	سایر آلدئیدهای برگ (میکرومول / گرم وزن تر)	سایر آلدئیدهای ریشه (میکرومول / گرم وزن تر)
.	-	۵۸/۱۳۲ ± ۱/۰۷۵ ^b	۱۶/۷۰۹ ± ۰/۰۴۳ ^a	۲۴۳/۰۷۱ ± ۰/۶۰۳ ^e	۴۴/۲۰۱ ± ۰/۲۵۳ ^a
.	+	۶۴/۶۷۰ ± ۰/۹۱۸ ^{ab}	۹/۸۷۲ ± ۰/۹۶۲ ^{bcde}	۸۱۲/۴۴ ± ۸۴/۶۲ ^{bc}	۳۱/۳۶۴ ± ۳/۶۶۴ ^{bcde}
۰/۲۵	-	۲۷/۷۴۱ ± ۰/۱۷۷ ^f	۱۵/۰۰۰ ± ۰/۴۴۴ ^a	۱۹۱/۸۰۳ ± ۲/۰۸۹ ^e	۳۴/۱۳۶ ± ۲/۷۷۹ ^{abcde}
۰/۲۵	+	۶۹/۷۹۴ ± ۲/۶۰۳ ^a	۱۱/۲۸۲ ± ۰/۸۱۴ ^{bc}	۸۷۴/۵۷ ± ۱۷/۲۴۰ ^b	۳۶/۹۰۷ ± ۱/۸۹۶ ^{abcd}
۰/۵	-	۴۲/۵۸۳ ± ۱/۰۷۵ ^d	۱۶/۱۵۴ ± ۱/۲۵۸ ^a	۲۵۷/۵۴۶ ± ۲۶/۶۴ ^e	۳۰/۰۵۱ ± ۵/۱۸۰ ^{cde}
۰/۵	+	۶۱/۶۶۶ ± ۰/۱۷۷ ^b	۱۰/۵۵۶ ± ۰/۰۴۳ ^{bcd}	۷۱۶/۵۴۶ ± ۳۴/۹۵ ^c	۳۸/۹۵۰ ± ۰/۲۵۳ ^{abc}
۱	-	۴۳/۴۶۶ ± ۰/۹۱۸ ^d	۱۱/۹۲۳ ± ۰/۵۱۸ ^{bc}	۲۶۱/۷۶۹ ± ۱۰/۹۷ ^e	۲۸/۴۴۶ ± ۱/۰۱۱ ^{cde}
۱	+	۵۲/۴۷۸ ± ۱/۸۳۶ ^c	۱۰/۸۱۲ ± ۰/۸۵۱ ^{bcd}	۵۹۷/۱۲۲ ± ۳/۱۳۴ ^d	۴۲/۱۵۹ ± ۴/۶۷۵ ^{ab}
۱/۵	-	۵۰/۷۱۱ ± ۳/۲۱۵ ^c	۱۶/۷۵۲ ± ۱/۰۷۳ ^a	۲۸۱/۶۷۳ ± ۴/۷۱۱ ^e	۴۲/۳۰۵ ± ۲/۲۷۹ ^{ab}
۱/۵	+	۶۱/۶۶۶ ± ۲/۲۹۷ ^b	۹/۱۸۸ ± ۰/۱۸۶ ^{cde}	۷۲۳/۷۸۴ ± ۵۱/۱۹ ^c	۳۳/۹۹۰ ± ۰/۸۸۷ ^{abcde}
۲	۰	۵۱/۲۴۱ ± ۱/۰۷۵ ^c	۱۲/۳۰۸ ± ۰/۵۹۲ ^b	۲۷۹/۸۶۳ ± ۲/۶۲۹ ^e	۲۹/۷۵۹ ± ۱/۵۱۶ ^{cde}
۲	+	۶۱/۳۱۲ ± ۱/۶۸۶ ^b	۷/۳۰۸ ± ۰/۱۴۸ ^e	۸۳۷/۱۷ ± ۱۰/۹۷۳ ^b	۲۴/۲۱۶ ± ۱/۳۹۲ ^e
۳	-	۳۶/۰۴۵ ± ۲/۱۴۲ ^e	۱۷/۱۳۷ ± ۰/۸۵۱ ^a	۲۱۱/۷۱ ± ۲۰/۸۹۴ ^e	۳۸/۸۰۴ ± ۲/۱۴۹ ^{abc}
۳	+	۶۹/۹۷۰ ± ۰/۳۰۶ ^a	۸/۱۶۲ ± ۰/۰۴۳ ^{de}	۱۰۶۶/۳۷ ± ۲۲/۴۶ ^a	۲۵/۶۷۵ ± ۱/۳۹۲ ^{de}

مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار (n=۳) ارائه شده‌اند. میانگین‌هایی که با حروف متفاوت دنبال می‌شوند،

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری دارند ($p \leq 0.05$).

پراکسید هیدروژن

تنش قلیایی سطح پراکسید هیدروژن را در برگ (۱۲۳/۴۳ درصد) و ریشه (۸۲/۰۳ درصد) ماش سیاه افزایش داد که نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو است (شکل ۱ الف و ب)، که این امر به دلیل اختلال در زنجیره انتقال الکترون و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن رخ می‌دهد (Gill and Tuteja, 2010). تیمار توأم با غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم در برگ‌ها، پراکسید هیدروژن را ۳۲/۱۹ درصد کاهش داد، که احتمالاً به دلیل فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی و آنزیم‌های جاروب‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز باشد، که برای حفاظت از فتوسنتز حیاتی است (Ma et al., 2025). در ریشه‌ها، همین غلظت میزان پراکسید هیدروژن را ۱۸/۴۵ درصد افزایش داد، که ممکن است نشان‌دهنده نقش سیگنال‌دهی پراکسید هیدروژن در تنظیم رشد و سازگاری با تنش باشد (Huang et al., 2019; Mittler, 2017).

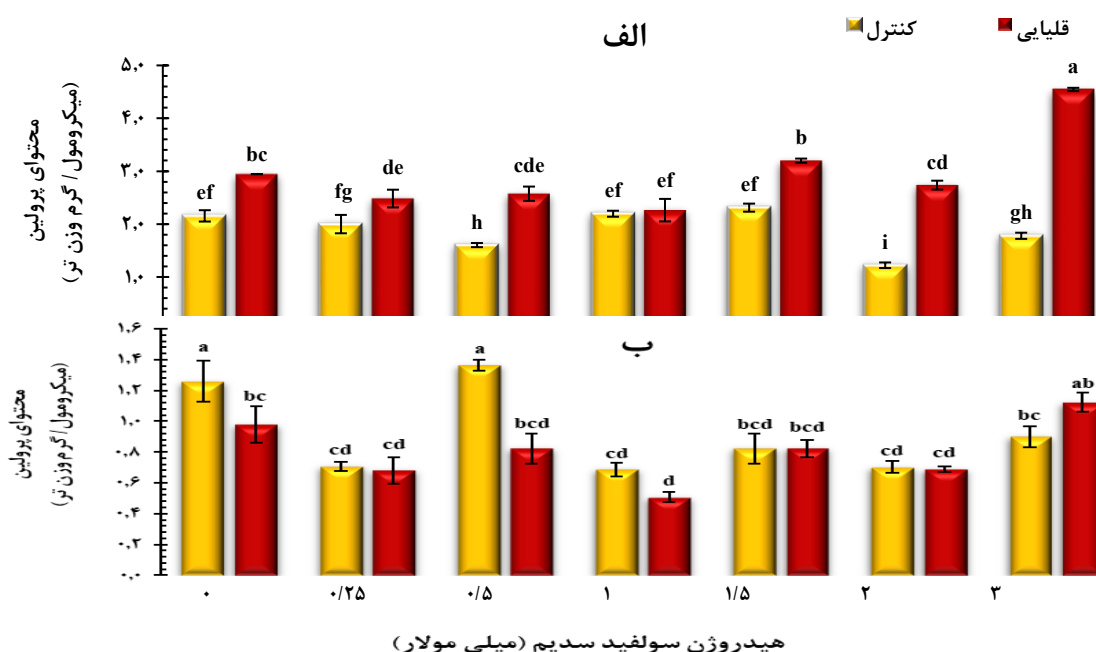


شکل ۱: محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) (میکرومول / گرم وزن تر) در برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه ماش سیاه پیش تیمار شده

در غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی‌مولار) تحت تنش قلیایی با $pH=9$. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار ($n=3$) ارائه شده‌اند. میانگین‌هایی که با حروف متفاوت دنبال می‌شوند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری دارند ($p \leq 0.05$).

محتوای پرولین

تنش قلیایی میزان پرولین را در برگ ماش سیاه ۳۶/۶۱ درصد افزایش داد که نشان دهنده سازگاری گیاه با تنظیم اسمزی و حفاظت از ساختار سلولی است (Hayat et al., 2012). پیش تیمار با غلظت ۱ میلی مولار هیدروژن سولفید سدیم این افزایش را ۲۳/۱۳ درصد کاهش داد، اما غلظت های ۱/۵ و ۳ میلی مولار آن را به ترتیب ۸/۶۶ درصد و ۵۴/۳۸ درصد افزایش دادند (شکل ۲ الف)، که احتمالاً به دلیل تنظیم بیان ژن های بیوسنتز پرولین توسط سولفید هیدروژن است (Huang et al., 2021). در ریشه ها، تنش قلیایی پرولین را ۲۲/۱۰ درصد کاهش داد و پیش تیمار با هیدروژن سولفید سدیم نیز نتوانست این کاهش را جبران کند، به جز غلظت ۳ میلی مولار که ۱۴/۴۹ درصد افزایش نشان داد (شکل ۲ ب). اثر سولفید هیدروژن بر متابولیسم پرولین وابسته به غلظت است و می تواند نیاز به تجمع اسمولیت ها را کاهش دهد (Corpas et al., 2020). پرولین به عنوان یک اسید آمینه سازگار، نقش مهمی در تنظیم اسمزی، پایداری پروتئین ها و غشاها، حفظ عملکرد آنزیمی و تنظیم سیگنال دهی تنش ایفاء می کند (Kavi Kishor and Sreenivasulu, 2014; Szabados and Savouré, 2010).



شکل ۲: محتوای پرولین (میکرومول / گرم وزن تر) در برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه ماش سیاه پیش تیمار شده در غلظت های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی مولار) تحت تنش قلیایی با pH=۹. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار (n=۳) ارائه شده اند. میانگین هایی که با حروف متفاوت دنبال می شوند، بر اساس آزمون چند دامنه ای SNK اختلاف معنی داری دارند ($p \leq 0.05$).

محتوای قند محلول

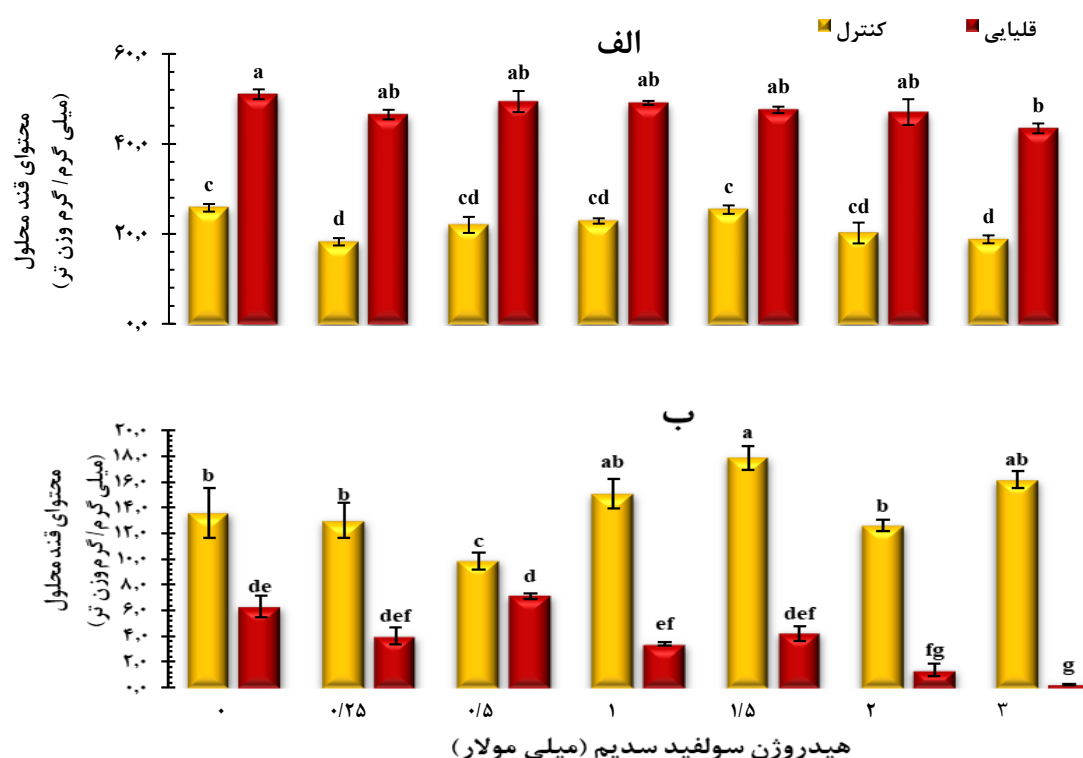
تنش قلیایی به تنهایی باعث افزایش معنی‌دار ۹۷/۹۱ درصدی قند محلول برگ شد که به‌عنوان پاسخ اسمزی برای سازگاری با تنش تفسیر می‌شود. پیش‌تیمار با هیدروژن سولفید سدیم در شرایط تنش قلیایی، تجمع قند برگ را تعدیل کرد، اما کاهش معنی‌دار نسبت به تنش قلیایی، تنها در غلظت ۳ میلی‌مولار مشاهده شد (۱۴/۸۶ درصد). در ریشه، تنش قلیایی باعث کاهش معنی‌دار ۵۳/۷۴ درصدی قند محلول شد که نشان‌دهنده اختلال در متابولیسم یا انتقال قند است. پیش‌تیمار با هیدروژن سولفید سدیم اثر وابسته به غلظت داشت؛ در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار، قند ریشه ۱۳/۸۱ درصد افزایش یافت (جبران اثر منفی تنش)، در حالی‌که در غلظت ۳ میلی‌مولار، کاهش معنی‌دار ۹۶/۰۴ درصدی نسبت به تنش قلیایی مشاهده شد. به‌طور کلی، تنش قلیایی باعث افزایش قند در برگ و کاهش آن در ریشه شد (شکل ۳ الف و ب).

قندهای محلول به‌عنوان ترکیبات اسمزی و مولکول‌های سیگنال‌دهنده عمل می‌کنند. کاهش قند در ریشه می‌تواند ناشی از اختلال در انتقال محصولات فتوسنتزی، کاهش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم کربوهیدرات‌ها یا مصرف انرژی برای دفاع باشد (منصوری و امیدی، ۱۴۰۰؛ Sami et al., 2016). پیش‌تیمار با هیدروژن سولفید سدیم این عدم تعادل را تعدیل کرد و نقش سیگنال‌دهندگی آن را در متابولیسم کربوهیدرات نشان داد (Ruan, 2014). اثر سولفید هیدروژن وابسته به غلظت بود؛ غلظت‌های بالاتر (۳ میلی‌مولار) اثر معکوس داشتند (Huang et al., 2021; Raza et al., 2022). در مجموع، پیش‌تیمار بذر با هیدروژن سولفید سدیم در غلظت مناسب، با ایجاد تعادل در تجمع و توزیع قندهای محلول، تحمل گیاه ماش سیاه را به تنش قلیایی افزایش داد.

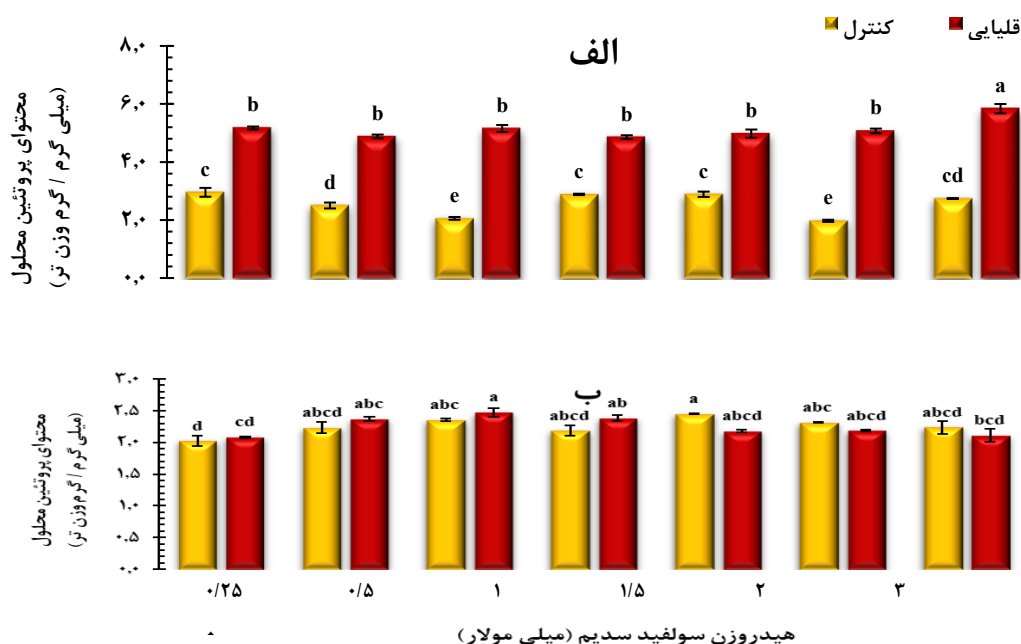
محتوای پروتئین محلول

نتایج نشان داد که اعمال تنش قلیایی باعث افزایش معنی‌دار (۷۵/۰۵ درصد) محتوای پروتئین محلول در برگ گیاه ماش سیاه در مقایسه با کنترل شد (شکل ۴ الف). در تیمار توأم، تغییرات محتوای پروتئین محلول برگ وابسته به غلظت هیدروژن سولفید سدیم بود. در غلظت ۳ میلی‌مولار، افزایش ۱۲/۹۰ درصد نسبت به تنش قلیایی مشاهده شد که حاکی از نقش تنظیمی سولفید هیدروژن است. در سایر غلظت‌ها تغییرات معنی‌داری دیده نشد که نشان‌دهنده حساسیت این پاسخ به میزان سولفید هیدروژن می‌باشد. بررسی پروتئین محلول ریشه نشان داد که تنش قلیایی افزایش جزئی (۲/۹۲ درصد) نسبت به کنترل داشت. در تیمار توأم، در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به‌ترتیب افزایش ۱۸/۹۵ درصد و ۱۴/۴۳ درصد نسبت به تنش قلیایی مشاهده شد (شکل ۴ ب). بنابراین پاسخ متابولیسم پروتئین در ریشه نسبت به برگ محدودتر بوده است. پروتئین‌های محلول شاخص مهمی برای ارزیابی شدت تنش و کارایی سازوکارهای دفاعی گیاه هستند (Aroca et

al., 2021; Zhang et al., 2021). افزایش پروتئین محلول برگ در گیاهان پیش تیمار شده با هیدروژن سولفید سدیم نشان داد که این مولکول از طریق کاهش تخریب یا تحریک سنتز پروتئین های محلول عمل کرده است (Chen et al., 2020; Liu et al., 2024). پاسخ وابسته به غلظت هیدروژن سولفید سدیم نشان دهنده اثرهای دوگانه آن است (Xuan et al., 2020). عدم تغییر چشم گیر در ریشه احتمالاً به تفاوت در شدت ادراک تنش و نقش فیزیولوژیکی اندام ها مربوط می باشد (Corpas and Palma, 2020). ریشه به عنوان اولین اندام در تماس مستقیم با محیط قلیایی، دارای سازوکارهای تطبیقی خاصی است که به آن امکان می دهد تا حدودی در برابر تغییرات pH مقاومت نشان دهد. در واقع، ریشه با تنظیم اسمزی، تغییر در ترکیب دیواره سلولی و فعال سازی سیستم های آنتی اکسیدانی محلی، بخشی از اثرات مخرب تنش قلیایی را در همان ناحیه ریشه خنثی می نماید و از انتقال کامل این تنش به اندام های هوایی جلوگیری می کند (Fang et al., 2021; Wang et al., 2021).



شکل ۳: محتوای قند محلول (میلی-گرم / گرم وزن تر) در برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه ماش سیاه پیش تیمار شده در غلظت های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی-مولار) تحت تنش قلیایی با pH=9. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار (n=3) ارائه شده اند. میانگین هایی که با حروف متفاوت دنبال می شوند، بر اساس آزمون چند دامنه ای SNK اختلاف معنی داری دارند ($p \leq 0.05$).



شکل ۴: محتوای پروتئین محلول (میلی گرم / گرم وزن تر) در برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه ماش سیاه پیش تیمار شده در غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم (میلی مولار) تحت تنش قلیایی با $\text{pH}=9$. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار ($n=3$) ارائه شده‌اند. میانگین‌هایی که با حروف متفاوت دنبال می‌شوند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری دارند ($p \leq 0.05$).

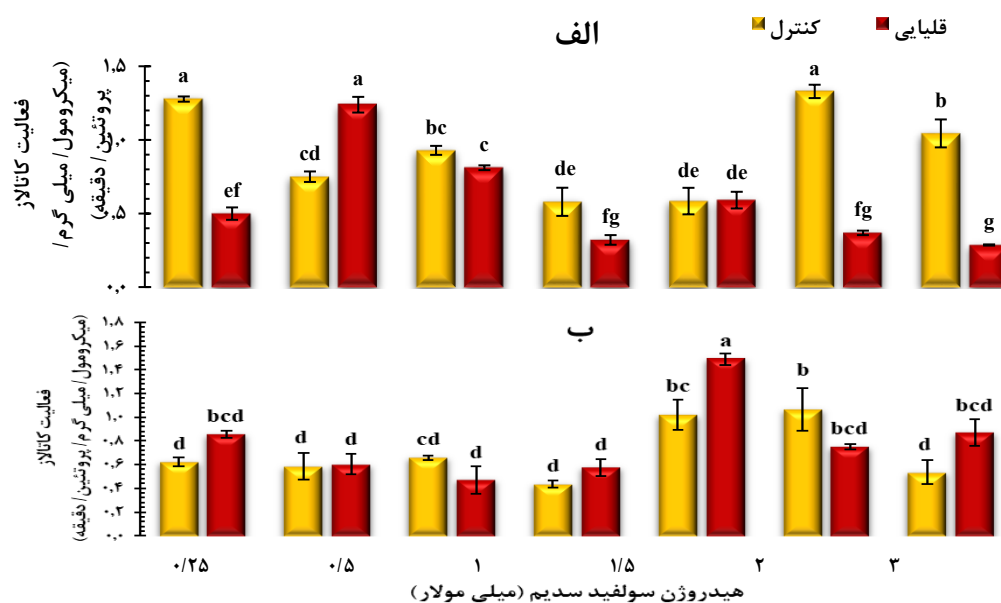
فعالیت آنزیم کاتالاز

اعمال تنش قلیایی موجب کاهش ۶۰/۹۲ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ نسبت به کنترل شد که نشان‌دهنده تضعیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ است. در تیمار توأم، تنش قلیایی در گیاهان پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم تغییرات قابل‌توجهی در فعالیت این آنزیم ایجاد کرد. بیش‌ترین افزایش در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار مشاهده شد که فعالیت آنزیم را ۱۴۸/۳۰ درصد نسبت به تنش قلیایی بالا برد، در حالی که غلظت‌های بالاتر مانند ۳ میلی‌مولار سبب کاهش ۴۲/۶۹ درصدی فعالیت کاتالاز گردید (شکل ۵ الف). در ریشه، تنش قلیایی نسبت به کنترل باعث افزایش ۳۷/۶۲ درصدی فعالیت کاتالاز شد که بیانگر فعال شدن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است. تیمار توأم موجب تغییرات قابل‌توجهی در فعالیت آنزیم شد؛ بیش‌ترین افزایش و کاهش به‌ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ میلی‌مولار (۷۴/۱۸ درصد) و ۰/۵ میلی‌مولار (۴۵/۰۹ درصد) مشاهده شد (شکل ۵ ب).

آنزیم کاتالاز که نقش اساسی در حذف پراکسید هیدروژن دارد، از آسیب اکسیداتیو به ترکیبات سلولی جلوگیری می‌کند و به‌ویژه در تنش‌های غیرزیستی اهمیت بالایی دارد (Chen et al., 2020; Corpas and Palma, 2020). فعالیت آن

شاخصی از وضعیت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه است؛ افزایش آن نشان دهنده تقویت دفاع و کاهش آن بیانگر ناتوانی گیاه در مهار تنش اکسیداتیو است (Liu et al., 2024; Xuan et al., 2020).

کاهش فعالیت کاتالاز در برگ‌های تحت تنش قلیایی نشان دهنده برهم خوردن تعادل ردوکس و افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های فتوسنتزی است. تنش قلیایی با ایجاد اختلال در جذب عناصر غذایی و هموستازی یونی، زنجیره انتقال الکترون کلروپلاست را مختل کرده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد؛ مسئله‌ای که به تضعیف عملکرد آنزیم‌هایی مانند کاتالاز منجر می‌شود (Corpas and Palma, 2020). ریشه به عنوان اولین اندام در تماس مستقیم با محیط قلیایی، دارای سازوکارهای تطبیقی خاصی است که به آن امکان می‌دهد تا حدودی در برابر تغییرات pH مقاومت نشان دهد. در واقع، ریشه با تنظیم اسمزی، تغییر در ترکیب دیواره سلولی و فعال سازی سیستم‌های آنتی اکسیدانی محلی، بخشی از اثرات مخرب تنش قلیایی را در همان ناحیه ریشه خنثی می‌نماید و از انتقال کامل این تنش به اندام‌های هوایی جلوگیری می‌کند (Fang et al., 2021).



شکل ۵: فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه ماش سیاه پیش تیمار شده در غلظت‌های مختلف هیدروژن سولفید سدیم

(میلی مولار) تحت تنش قلیایی با pH=9. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SME) و بر اساس سه تکرار (n=3) ارائه شده‌اند.

میانگین‌هایی که با حروف متفاوت دنبال می‌شوند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری دارند ($p \leq 0.05$).

نتیجه گیری

خاک‌های شور و قلیایی یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشاورزی و زیست‌محیطی در سطح جهان، به‌ویژه در ایران، به‌شمار می‌روند؛ چرا که با کاهش حاصلخیزی، منجر به بایر شدن تدریجی اراضی می‌شوند. مدیریت و مهار این معضل نیازمند اتخاذ رویکردهای علمی و اصولی است. نتایج این مطالعه به وضوح نشان داد که تنش قلیایی با کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) و فعالیت آنزیم کاتالاز، و همچنین افزایش شاخص‌های تنش اکسیداتیو نظیر مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و پرولین، باعث تخریب غشاهای سلولی و اختلال در متابولیسم گیاه ماش سیاه می‌شود. در مقابل، پیش‌تیمار بذر با هیدروژن سولفید سدیم، به ویژه در غلظت ۱ میلی‌مولار، با افزایش معنی‌دار محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (افزایش ۱۳/۲۷، ۶۶/۲۳ و ۷۲/۲۳ درصدی به ترتیب برای کلروفیل a ، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) و کاهش چشمگیر مالون‌دی‌آلدئید (۱۸/۸۵ درصد)، سایر آلدئیدها (۲۶/۵۰ درصد) و پراکسید هیدروژن (۳۲/۱۹ درصد)، توانست آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش قلیایی را به طور مؤثری تعدیل کند. اگرچه پاسخ پارامترهایی مانند پرولین، قند محلول و پروتئین کل وابسته به غلظت و اندام گیاه بود، اما غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروژن سولفید سدیم به‌طور کلی به عنوان مؤثرترین تیمار، نقش حفاظتی خود را از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود پایداری غشاهای کلروپلاست ایفا کرد. بنابراین، پیش‌تیمار بذر با غلظت مناسب هیدروژن سولفید سدیم (۱ میلی‌مولار) می‌تواند به عنوان یک راهکار مؤثر فیزیولوژیکی برای افزایش تحمل گیاه ماش سیاه به تنش قلیایی در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه بابت تأمین هزینه‌های پژوهش حاضر از محل اعتبارات متمرکز این معاونت سپاسگزاری می‌کنند.

منابع

- احمدی، پ.، حسین پناهی، ف. و سی و سه مرده، ع. (۱۴۰۴). اثر پرایمینگ بذر بر روی بهبود شاخص‌های رشد گیاه کینوا (*Chenopodium Quinoa* L.). نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، جلد ۱۷ شماره ۶۶، ص ۶۸-۵۳.

مرادی، م.، دادخواه، ع. و رضوانی، ر. (۱۴۰۴). اثر پرایمینگ اسیدهیومیک و اسیدسالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و پارامترهای رشدی برخی ارقام چغندر قند تحت تنش شوری. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه ازاد اسلامی اهواز، جلد ۱۷ شماره ۶۶، ص ۶۷-۸۸.

ملازم، د.، بشیرزاده، ع. و عظیمی، ج. (۱۴۰۰). اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش شوری. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه ازاد اسلامی اهواز، جلد ۱۳ شماره ۵۱، ص ۲۵-۴۱.

منصوری، ع. و امیدی، ح. (۱۴۰۰). اثر پرایمینگ با نانوذرات کیتوزان و نیترات پتاسیم بر محتوای بیوشیمیایی گیاهچه کینوا رقم Giza1 در شرایط تنش شوری. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه ازاد اسلامی اهواز، جلد ۱۳ شماره ۵۰، ص ۸۵-۱۰۲.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods In Enzymology*, 105: 121-126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, 24: 1337-1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>

Aroca, A., Zhang, J., Xie, Y., Romero, L. C., and Gotor, C. 2021. Hydrogen sulfide signaling in plant adaptations to adverse conditions: molecular mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, 72: 5893-5904. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab239>

Banerjee, P., Venugopalan, V. K., Nath, R., Althobaiti, Y. S., Gaber, A., Al-Yasi, H., and Hossain, A. 2021. Physiology, growth, and productivity of spring–summer black gram (*Vigna mungo* L. Hepper) as influenced by heat and moisture stresses in different dates of sowing and nutrient management conditions. *Agronomy*, 11: 2329. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112329>

Bhupenchandra, I., Chongtham, S. K., Devi, E. L., R, R., Choudhary, A. K., Salam, M. D., Sahoo, M. R., Bhutia, T. L., Devi, S. H., and Thounaojam, A. S. 2022. Role of biostimulants in mitigating the effects of climate change on crop performance. *Frontiers in Plant Science*, 13: 967665. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.967665>

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: 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Cao, Y., Song, H., Zhang, L. 2022. New Insight into Plant Saline-Alkali Tolerance Mechanisms and Application to Breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 23:16048.

Chuamnakhong, S., Nampei, M., and Ueda, A. 2019. Characterization of Na⁺ exclusion mechanism in rice under saline-alkaline stress conditions. *Plant Science*. 287, 110171. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110171>

Chen, T., Tian, M., and Han, Y. 2020. Hydrogen sulfide: A multi-tasking signal molecule in the regulation of oxidative stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 71: 2862-2869. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa093>

Chen, C., Xu, L., Zhang, X., et al. 2022. Exogenous strigolactones enhance tolerance in soybean seedlings in response to alkaline stress. *Physiologia Plantarum*, 174: e13784

Corpas, F. J., and Palma, J. M. 2020. H₂S signaling in plants and applications in agriculture. *Journal of Advanced Research*, 24: 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.011>

Daneshvand, E., Rahmani, F., Abbaspour, N., and Rahimi, A. 2026. Hydrogen sulfide signaling fortifies lavender: Antioxidant defense, phytochemical modulation, and genetic responses under salt and drought stress. *Scientia Horticulturae*, 357:114632. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2026.114632>

Dawood, M. F. A., Sohag, A. A. M., Tahjib-Ul-Arif, M., and Abdel Latef, A. A. H. 2021. Hydrogen sulfide priming can enhance the tolerance of artichoke seedlings to individual and combined saline-alkaline and aniline stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 159, 347-362. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.12.034>

Di Sario, L., Boeri, P., Matus, J. T., and Pizzio, G. A. 2025. Plant biostimulants to enhance abiotic stress resilience in crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 26: 1129. <https://doi.org/10.3390/ijms26031129>

Fang, S., Hou, X., and Liang, X. 2021. Response mechanisms of plants under saline-alkali stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 667458. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.667458>

FAO. 2024. The Global Status of Salt-Affected Soils. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok.

Farghaly, F.A., Nafady, N.A., Abdel-Wahab, D.A. 2022. The efficiency of arbuscular mycorrhiza in increasing tolerance of *Triticum aestivum* L. to alkaline stress. *BMC Plant Biology*, 22:490.

Fatima, K., Ashraf, K., Jamshaid, N., Rauf, T., Tabassum, S., Hussain, A., Ali, M., Ahmad, Z., Sultan, K., and Alfagham, A. T. 2025. Enhancing cadmium stress tolerance in mungbean through foliar application of selenium nanoparticles by modulating photosynthetic efficiency and antioxidative mechanisms. *Scientific Reports*, 15: 32159. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-10273-x>

Gill, S. S., and Tuteja, N. J. P. p. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48: 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Guo, J., Xu, X., Zhang, R., Chen, X., Xing, Y., Li, B., Liu, C., and Zhou, Y. 2022. Effect of short-term combined alkaline stress on antioxidant metabolism, photosynthesis, and leaf-air temperature difference in sorghum. *Photosynthetica*, 60: 200. <https://doi.org/10.32615/ps.2021.067>

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., and Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling and Behavior*, 7: 1456-1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>

Heath, R. L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

Hernández, J. A., Barba-Espín, G., and Díaz-Vivancos, P. 2024. Seed priming technology: current perspectives. *Seeds*, 3: 540-543. <https://doi.org/10.3390/seeds3040036>

Huang, D., Huo, J., and Liao, W. 2021. Hydrogen sulfide: Roles in plant abiotic stress response and crosstalk with other signals. *Plant Science*, 302: 110733. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110733>

Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.-X., Yi, M., and Zhao, Y. 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10: 800. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>

Irigoyen, J., Einerich, D., and Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84: 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>

Jatana, B. S., Grover, S., Ram, H., and Baath, G. S. 2024. Seed priming: Molecular and physiological mechanisms underlying biotic and abiotic stress tolerance. *Agronomy*, 14: 2901. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122901>

Jiang, Z., Wang, D., Che, Y., Amanullah, S., Zhang, L., Jie, S., Yang, W., Wang, M., Wang, L., and Qi, G. 2025. Transcriptomic sequencing and expression verification of identified genes modulating the alkali stress tolerance and endogenous photosynthetic activities of industrial hemp plant. *PLoS ONE*, 20(6), e0326434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0326434>

Khanna, K., Sharma, N., Kour, S., Ali, M., Ohri, P., Bhardwaj, R. 2021. Hydrogen sulfide: A robust combatant against abiotic stresses in plants. *Hydrogen*. 2(3):319–342. <https://doi.org/10.3390/hydrogen2030017>

Kavi Kishor, P. B., and Sreenivasulu, N. 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant, Cell and Environment*, 37: 300-311. <https://doi.org/10.1111/pce.12157>

Khan, F., Nayab, M., Ansari, A. N., and Zubair, M. 2021. Medicinal properties of māsh (*Vigna mungo* (Linn.) Hepper): a comprehensive review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutic*, 11: 121-124. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v11i3-S.4888>

Khorsand, A., Rezaverdinejad, V., Asgarzadeh, H., Majnooni-Heris, A., Rahimi, A., Besharat, S., and Sadraddini, A. A. 2021. Linking plant and soil indices for water stress management in black gram. *Scientific Reports*, 11: 869. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79516-3>

Kumar, K., Jaiswal, A., Koppolu, U. M. K., and Kumar, K. R. R. 2024. Alkaline stress disrupts growth, biochemistry, and ion homeostasis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) roots. *Frontiers in Agronomy*, 6: 1497054. <https://doi.org/10.3389/fagro.2024.1497054>

Gong, B., Wen, D., VandenLangenberg, K., Wei, M., Yang, F., Shi, Q., & Wang, X. (2013). Comparative effects of NaCl and NaHCO₃ stress on photosynthetic parameters, nutrient metabolism, and the antioxidant system in tomato leaves. *Scientia Horticulturae*, 157, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.03.032>

Li and Yang, 2023

Li, H., Lv, J., Su, Y., and Wu, Y. 2023. Appropriate sodium bicarbonate concentration enhances the intracellular water metabolism, nutrient transport and photosynthesis capacities of *Coix lacryma-jobi* L. *Agronomy*, 13: 1790. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071790>

Li, Y., Sun, D., Xu, K., Jin, L., Peng, R. 2021. Hydrogen sulfide enhances plant tolerance to waterlogging stress. *Plants*. 10:1928.

Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11 (5):591-592.

Liu, J. X., Liu, R. R., Liu, X. L., Jia, H. Y., Bu, T., and Li, N. 2022. Regulation of exogenous hydrogen sulfide on photosynthetic carbon metabolism in *Avena* nude under saline-alkaline stress. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 46(8), 949-965. <https://doi.org/10.17521/cjpe.2022.0032>

Liu, D., Ma, Y., Rui, M., Lv, X., Chen, R., Chen, X., and Wang, Y. 2022a. Is high pH the key factor of alkali stress on plant growth and physiology? A case study with wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Agronomy*, 12: 1820. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081820>

Li, J., and Yang, Y. 2023. How do plants maintain pH and ion homeostasis under saline-alkali stress? *Frontiers in Plant Science*, 14, 1217193. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1217193>

Liu, H., Xiao, C., Qiu, T., Deng, J., Cheng, H., Cong, X., Cheng, S., Rao, S., and Zhang, Y. 2022b. Selenium regulates antioxidant, photosynthesis, and cell permeability in plants under various abiotic stresses: A review. *Plants*, 12: 44. <https://doi.org/10.3390/plants12010044>

Liu, Z., Liu, Y., and Liao, W. 2024. Hydrogen sulfide in the oxidative stress response of plants: crosstalk with reactive oxygen species. *International Journal of Molecular Sciences*, 25: 1935. <https://doi.org/10.3390/ijms25031935>

Luo, S., Liu, Z., Wan, Z., He, X., Lv, J., Yu, J., and Zhang, G. 2023. Foliar spraying of NaHS alleviates cucumber salt stress by maintaining N^+/K^+ balance and activating salt tolerance signaling pathways. *Plants*, 12: 2450. <https://doi.org/10.3390/plants12132450>

Ma, L., Kong, L., Jiang, S., Ma, J., He, L., Wu, J., Zhang, X., Wu, W., Ma, W., and Ren, W. 2025. Genome-wide expression profile of SOD gene family in *Isatis indigotica* and the key role of IiSOD2 and IiSOD7 in alkaline stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 26: 8131. <https://doi.org/10.3390/ijms26178131>

Marimuthu, S., Vanitha, C., Surendran, U., El-Hendawy, S., and Mattar, M. A. 2024. Conception of improved blackgram (*Vigna mungo* L.) production technology and its propagation among farmers for the development of a sustainable seeds production strategy. *Sustainability*, 16: 4750. <https://doi.org/10.3390/su16114750>

Mehrian, S. K., Karimi, N., and Rahmani, F. 2023. 24-Epibrassinolide alleviates diazinon oxidative damage by escalating activities of antioxidant defense systems in maize plants. *Scientific Reports*, 13: 19631. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46764-y>

Mishra V, Singh P, Tripathi DK, Corpas FJ, Singh VP. 2021. Nitric oxide and hydrogen sulfide: an indispensable combination for plant functioning. *Trends in Plant Science*. 26(12):1270–1285.

Mittler, R. 2017. ROS are good. *Trends in plant science*, 22: 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>

Nair, R. M., Chaudhari, S., Devi, N., Shivanna, A., Gowda, A., Boddepalli, V. N., Pradhan, H., Schafleitner, R., Jegadeesan, S., and Somta, P. 2024. Genetics, genomics, and breeding of black gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1273363. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1436983>

Ngoc Dinh, C. V., and Prabsangob, N. 2025. Black Gram (*Vigna mungo* L.) Husk as a source of bioactive compounds: An evaluation of starch digestive enzyme inhibition effects. *Foods*, 14: 846. <https://doi.org/10.3390/foods14050846>

Paquin, R., and Lechasseur, P. 1979. Observations on measurement method of free proline in extracts from plants. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854.

Raza, A., Tabassum, J., Mubarik, M. S., Anwar, S., Zahra, N., Sharif, Y., Hafeez, M. B., Zhang, C., Corpas, F. J., and Chen, H. 2022. Hydrogen sulfide: an emerging component against abiotic stress in plants. *Plant Biology*, 24: 540-558. <https://doi.org/10.1111/plb.13368>

Ruan, Y.-L. 2014. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 65: 33-67. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040251>

Sagervanshi, A., Mühling, K. H., and Cai, D. 2021. Deciphering growth inhibition mechanisms in *Vicia faba* L. under saline-alkaline salt stress in relation to apoplastic pH, nutrients, metabolites, and gene transcription. *Environmental and Experimental Botany*, 192, 104636. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104636>

Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., and Hayat, S. 2016. Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109: 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>

Szabados, L., and Savouré, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15: 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>

Shen, C., Yang, W., Kang, Y., Qin, S., Zhang, W., Liu, Y., Qian, S., & Han, Y. 2025. Effect of alkaline salt stress on photosynthetic activities of potato plants (*Solanum tuberosum* L.). *Plants*, 14(19), 2979. <https://doi.org/10.3390/plants14192979>

Wang, C., Deng, Y., Liu, Z., and Liao, W. 2021. Hydrogen sulfide in plants: Crosstalk with other signal molecules in response to abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 22:12068. <https://doi.org/10.3390/ijms222112068>

Xuan, L., Li, J., Wang, X., and Wang, C. 2020. Crosstalk between hydrogen sulfide and other signal molecules regulates plant growth and development. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 4593. <https://doi.org/10.3390/ijms21134593>

Yang, C. W., Xu, H. H., Wang, L. L., Liu, J., Shi, D. C., and Wang, D. L. 2009. Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of *Kalidium sieversiana*. *Plant and Soil*, 314(1-2), 213-230.

Yang, C., Chong, J., Li, C., Kim, C., Shi, D., and Wang, D. 2007. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions. *Plant and Soil*, 294: 263-276. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9251-3>

Yang, S., Xu, Y., Tang, Z., Jin, S., and Yang, S. 2024. The impact of alkaline stress on plant growth and its alkaline resistance mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25: 13719. <https://doi.org/10.3390/ijms252413719>

Younis, A. A., and Mansour, M. M. F. 2023. Hydrogen sulfide priming enhanced salinity tolerance in sunflower by modulating ion hemostasis, cellular redox balance, and gene expression. *BMC Plant Biology*, 23: 525. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04552-w>

Younis, A. A., and Mansour, M. M. F. 2024. Hydrogen sulfide-mitigated salinity stress impact in sunflower seedlings was associated with improved photosynthesis performance and osmoregulation. *BMC Plant Biology*, 24: 422. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05071-y>

Zhang, J., Zhou, M., Zhou, H., Zhao, D., Gotor, C., Romero, L. C., Shen, J., Ge, Z., Zhang, Z., and Shen, W. 2021. Hydrogen sulfide, a signaling molecule in plant stress responses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63: 146-160. <https://doi.org/10.1111/jipb.13022>

Zhang, H., Yu, F., Xie, P., Sun, S., Qiao, X., Tang, S., Chen, C., Yang, S., Mei, C., Yang, D., Wu, Y., Xia, R., Li, X., Lu, J., Liu, Y., Xie, X., Ma, D., Xu, X., Liang, Z., Feng, Z., Huang, X., Yu, H., Liu, G., Wang, Y., Li, J., Zhang, Q., Chen, C., Ouyang, Y., & Xie, Q. 2023. A Gγ protein regulates alkaline sensitivity in crops. *Science*, 379 (6638), eade8416. <https://doi.org/10.1126/science.ade8416>

Investigating the effect of black gram (*Vigna mungo* L.) seed pretreatment with sodium hydrosulfide (NaHS) under alkaline stress conditions

Sh Yeghanehfar¹, F Rahmani^{2*}, A Rahimi³

1 & 2) Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.

3) Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: f.rahmani@urmia.ac.ir

This article is taken from the PhD thesis.

Received date: 2025.07.26

Accepted date: 2025.11.01

Abstract

Increasing soil salinity due to decreasing rainfall and the spread of droughts has also led to an increase in soil alkalinity, which can cause irreversible damage to agricultural crops. In this study, the effect of seed priming with sodium hydrosulfide (NaHS) on black gram (*Vigna mungo* L.) under alkaline stress (pH 9) was investigated. The experiment was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications in the laboratory of the Faculty of Science, Urmia University. Two weeks after germination, plants at the four-leaf stage were exposed to alkaline stress for 14 days, and photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids), malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline, soluble sugar, total protein, and catalase enzyme activity were measured. The results showed that seed priming with 1 mM sodium hydrosulfide significantly mitigated the negative effects of alkaline stress in black gram plants. Alkaline stress alone reduced the photosynthetic pigments chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids by 53.60%, 51.98%, and 44.87%, respectively, while treatment with 1 mM sodium hydrosulfide increased them by 27.13%, 23.66%, and 23.72%, respectively, compared to the stress treatment. On the other hand, while alkaline stress increased lipid peroxidation indicators by up to 234.24% (other aldehydes) and leaf hydrogen peroxide levels by 123.43%, treatment with 1 mM sodium hydrosulfide reduced these values by 26.50% and 32.19%, respectively. Furthermore, although proline accumulation raised by 36.61% in response to alkaline stress, seed priming with this concentration reduced this increase by 23.13%. Overall, the concentration of 1 mM sodium hydrosulfide, as the most effective treatment, played a significant protective role in reducing oxidative damage and improving tolerance to alkaline stress.

Key words: Seed priming, Alkaline stress, Black gram and Sodium hydrosulfide.