Horticultural Plants Nutrition
Vol.3, No.2, Autumn & Winter 2020-21
Research Paper

DOI: 10.22070/hpn.2020.5403.1092

Effect of split time of nitrogen fertilizer and selenium on activity antioxidant enzymes and flavor precursors of edible onion (*Allium cepa* L.)

Farahnaz Veisialiakbari [1] ***, Mahmud Khoramivafa*** [2] ***, Masoomeh Amerian*** [3*]

1- Graduate Master Agroecology, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
veisialiakbary3817@gmail.com
2- Assistant Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
khoramivafa@gmail.com
3- Corresponding Author and Assistant Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
Masoomehamerian@yahoo.com

Received Date: 2020/04/13 Accepted Date: 2020/09/23

Abstract

Introduction: Onion (*Allium cepa* L.) is a vegetable of family Alliaceae. Onion in addition to being used as food is one of the most widely consumed vegetables. Nitrogen is an important component of protein and its availability is important for optimal product performance. Excessive use of nitrogen at the end of the season increases leaf growth and delays onion maturation, thus reducing yield. The use of nitrogen affects the growth and yield of onions as well as the precursors of onion flavor. Excessive use of chemical fertilizers, including nitrogen, has negative effects on the environment and human health (Noura and Nesreen., 2019). Although selenium is not an essential element for plant growth, its beneficial effects on plant tolerance to environmental stresses have often been reported. Selenium is also a vital nutrient for humans and animals. Plants play an important role in the transmission of selenium from the soil to humans and animals. The antioxidant and anti-cancer properties of some selenium compounds justify the cultivation of selenium-enriched vegetables (Groth *et al*., 2020). Nitrogen and selenium fertilizers interact in many cases. For example, the uptake and assimilation of nitrogen and selenium is very similar, and there are many common products of nitrogen and selenium metabolism in plants (Klikocka *et al*., 2017). Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of selenium on improving some physiological characteristics and precursors of onion flavor and also the methods of using urea fertilizer in order to reduce urea fertilizer consumption and improve quantitative and qualitative yield of onion in field conditions.

Material and methods: In the present study, the effect of different levels of selenium and nitrogen split on activity antioxidant enzymes and flavor precursors of Isfahan yellow iandraces onion was studied. In this experiment, the factors involved the management of nitrogen use in 6 levels including control, total fertilization at the time of transplantation and one-third fertilization recommended at the time of transplantation+ one-third fertilization at the time of bulb initiation+ one-third fertilization at the time of bulb growth, and the second factor is the selenium in 3 levels: 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate. Plant harvesting when the leaves of more than 50% of the plants have turned yellow and is done in late October. Some physiological characteristics were measured, including antioxidant enzymes (catalase and peroxidase), amino acids (serine and methionine, cysteine and glutathione, flavor precursors and nutrients (total sulfur and total nitrogen). Analysis of amino acids and precursors of onion flavor was performed by HPLC.

Results and discussion: At all three levels of nitrogen, the activity of the enzyme catalase increased with increasing selenium concentration. Selenium is an important element in increasing antioxidant activity in plants, microorganisms, animals and humans. In addition, selenium reduces the amount of lipid peroxidation and hydrogen peroxide by increasing the activity of antioxidant enzymes, thus delaying aging. As a result, selenium spraying increases the activity of antioxidant enzymes and reduces the content of free radicals in the cells that are produced during the physiological processes of the plant, thus reducing the damage caused by oxidative stress to plant cells. At all three levels of nitrogen, with increasing selenium concentration, the total nitrogen content of onion bulb increased (Table 4). Regulation of nitrogen metabolism is associated with increased nitrate reductase activity. The enzyme nitrate reductase is responsible for converting nitrate to nitrite, which is an essential enzyme for nitrogen metabolism. Selenium also has a positive effect on the activity of the enzyme nitrate reductase. At all three levels of nitrogen, the amount of amino acids in onion bulb decreased with increasing selenium concentration (Table 6). Plant nutrition and fertilization can have a significant effect on the amino acid content of plant tissues. In plants, selenium metabolism is closely related to the metabolism of nitrogenous substances, especially amino acids, and selenium leads to improved nitrogen assimilation process, which leads to a decrease in nitrate levels and an increase in amino acid levels. As the concentration of selenium increased in all three levels of nitrogen, the precursors of onion flavor decreased (Table 8). Selenium has led to changes in the precursors of onion flavor, which is due to the increased absorption of selenium and its participation in the structure of sulfur amino acids. The effect of selenium on the biosynthesis pathway of precursors of onion flavor is similar to when onions grow in conditions with low sulfur levels. Nitrogen can affect the amount of flavor precursors by affecting sulfate uptake.

Conclusions: As the concentration of selenium increased, the total sulfur content decreased, which resulted in a decrease in the amount of amino acids and flavor precursors. The results showed that the combined use of selenium and nitrogen had a positive effect on the amount of antioxidant enzymes, amino acids and onion flavor precursors. In addition, split time of nitrogen fertilizer affected the physiological characteristics studied. Therefore, the use of three-stage nitrogen fertilizer (Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth) with 50 mg L^{-1} of sodium selenate is recommended.

Keywords: Amino acids, Catalases, Isoalliin and Total Sulfur.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۳، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۹، (ص ۱۰۶- ۸۷)
مقاله پژوهشی

DOI: 10.22070/hpn.2020.5403.1092

اثر زمان تقسیط کود نیتروژن و سلنیوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پیش ماده‌های طعم پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.)

فرحناز ویسی علی‌اکبری [۱]، محمود خرمی‌وفا [۲]، معصومه عامریان [۳*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
veisialiakbary3817@gmail.com
۲- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
khoramivafa@gmail.com
۳- نویسنده مسئول و استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
Masoomehamerian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۲**

چکیده

سلنیوم (Se) یک عنصر ضروری برای انسان و حیوانات است. با این حال، اثرات آن بر گیاهان کمتر شناخته شده است. به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پیش ماده‌های طعم پیاز خوراکی توده‌ی زرد اصفهان یک آزمایش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفت فاکتورهای آزمایشی شامل مدیریت مصرف کود نیتروژن توصیه شده بر اساس آزمون خاک (۵۰۰ کیلو گرم در هکتار کود اوره) در سه سطح بدون کود (شاهد)، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ و فاکتور دوم نیز شامل محلول‌پاشی برگی سلنیوم به‌صورت نمک سلنات سدیم در سه سطح صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، با افزایش غلظت سلنیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲/۰۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) افزایش یافت. محلول‌پاشی برگی سلنیوم همراه با نیتروژن در سه مرحله تأثیر مثبتی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۵۰/۷۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) داشت. در هر سه سطح سلنیوم با افزایش غلظت نیتروژن میزان نیتروژن کل، گوگرد کل و اسیدهای آمینه (سرین، سیستئین، متیونین و گلوتاتیون) افزایش نشان دادند. با افزایش غلظت سلنیوم میزان گوگرد کل کاهش یافت که کاهش میزان اسیدهای آمینه و ترکیبات مرتبط با طعم را در پی داشت. کاربرد توأم سلنیوم و نیتروژن تأثیر مثبتی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسیدهای آمینه و ترکیبات مرتبط با طعم سوخ پیاز نسبت به شاهد نشان داد.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه، ایزوآلین، کاتالاز و گوگرد کل.

مقدمه

پیاز (*Allium cepa* L.) جزء سبزی‌های پیازی از تیره‌ی Alliaceae است (Fouda *et al*., 2020). متخصصان تغذیه هر روز مصرف حدود ۴۰۰ گرم سبزی شامل پیاز را توصیه می‌کنند (Wichrowska *et al*., 2017). پیاز علاوه بر این که به‌عنوان غذا مورد استفاده قرار می گیرد، یکی از سبزی‌های پرمصرف با کاربردهای بسیار متنوع است و به‌عنوان گیاه دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی- عروقی و ... به‌دلیل وجود ترکیبات گوگردی آن در مناطق مختلف جهان استفاده می‌شود (Farooq *et al*., 2015 and Ncayiyana *et al*., 2019).

نیتروژن جزء مهم پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهد و فراهم بودن آن برای عملکرد بهینه‌ی محصول مهم است (Klikocka *et al*., 2017). کودهای معدنی به‌ویژه نیتروژن به‌طور قابل توجهی بر عملکرد و هم‌چنین کیفیت سوخ پیاز و سایر سبزی‌ها تأثیر می‌گذارد (Wichrowska *et al*., 2017). توسعه‌ی سوخ در درجه‌ی اول توسط طول روز بلند و درجه حرارت بالا صورت می‌گیرد. اما نیتروژن با کنترل رشد برگ نقش مهمی در این فرایند دارد. کاربرد سطح پایین نیتروژن بلوغ سوخ را به تأخیر می‌اندازد. کاربرد بیش از حد نیتروژن در اواخر فصل رشد برگ‌ها را افزایش داده و باعث تأخیر در بلوغ سوخ شده و ذخیره سازی و نیز عملکرد را کاهش می‌دهد (Drost *et al*., 2002). در یک آزمایش کاربرد کود نیتروژن عملکرد سوخ را نسبت به شاهد افزایش داد که عامل اصلی این واکنش نقش نیتروژن در سنتز اسیدهای آمینه، افزایش تقسیم و طویل شدن سلول‌ها می‌باشد (مبلی و اصلانی، ۱۳۹۷). نوع و میزان کود مورد استفاده تأثیر مستقیمی بر فیزیولوژی پیاز و سنتز ترکیبات ثانویه آن از جمله ترکیبات مرتبط با طعم دارد (Bystrická *et al*., 2015). درنتیجه کاربرد نیتروژن بر رشد و عملکرد پیاز و نیز ترکیبات مرتبط با طعم و تندی سوخ پیاز تأثیرگذار است (Sinkovič *et al*., 2019). اما باید توجه داشت که کاربرد بیش از حد کودهای شیمیایی از جمله نیتروژن اثرات منفی بر محیط زیست و سلامت انسان دارند (Noura and Nesreen., 2019). علی‌رغم اینکه سبزی‌ها تأثیر مثبتی بر سلامتی انسان دارند، اما نباید از میزان نیترات و نیتریت آن‌ها چشم‌پوشی کرد که حدود ۷۰ تا ۹۰ درصد کل نیترات وارده به بدن انسان را به خود اختصاص می‌هند. تجمع نیترات در گیاهان بستگی به عواملی از قبیل گونه گیاهی، فصل، شدت نور، دما، روش کشت، مقدار کود مصرفی، روش نگه‌داری و فرآوری سبزی دارد (Santamaria, 2006). پیاز یکی از محصولاتی است که در کشت و کار آن به مقدار زیادی کودهای نیتروژنی مصرف می‌شود. علاوه بر نگرانی آلودگی زیست‌محیطی، انباشت نیترات به عنوان یکی از ترکیبات وابسته به نیتروژن در محصولات کشاورزی نیز مورد توجه است. اگر چه نیترات جزء کوچکی از نیتروژن کل است، اما افزایش میزان و تجمع آن در بافت های گیاهی مسئله مهمی در همه گیاهان به‌ویژه سبزی‌ها است که مصرف آن‌ها به بروز مشکلات و بیماری‌هایی در انسان (سندوم آبی در کودکان و سرطان دستگاه گوارش) منجر می شود. هم‌چنین در اثر تداوم مصرف سبزی‌ها و نیز آب آشامیدنی حاوی نیترات بالا در داخل دستگاه گوارش، نیترات به نیتروزوآمین تبدیل شده که یک ماده سمی بوده و اثر سرطان‌زایی دارد (Randle, 2000).

اگرچه سلنیوم یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان محسوب نمی‌شود، اما اثرات مفید آن بر تحمل گیاه به تنش‌های محیطی اغلب گزارش شده است. هم‌چنین سلنیوم یک عنصر حیاتی برای تغذیه‌ی انسان و حیوان است (Hajiboland and Sadeghzade, 2014 and Groth *et al*., 2020). گیاهان نقش مهمی در چرخه‌ی انتقال سلنیوم از خاک به انسان و حیوانات دارند. در حال حاضر در بسیاری از کشورهای اروپایی سلنیوم به کودهای NPK اضافه می‌شود که به‌نظر می‌رسد مؤثرترین و امن‌ترین روش برای جلوگیری از کمبود سلنیوم در انسان و دام است. سلنیوم بر کاهش میزان برخی بیماری‌ها از جمله

بیماری‌های قلبی، سرطان و کمبود ویتامین E مؤثر است (Reis *et al*., 2018). کاربرد برگی سلنیوم چند برابر مؤثرتر از کاربرد خاکی آن است اما با توجه به میزان جذب سلنیوم توسط گیاه خطرناک‌تر است (Motesharezadeh *et al*., 2020). ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی منسوب به برخی ترکیبات سلنیوم، افزایش پرورش سبزی‌های غنی شده با سلنیوم را توجیه می‌کند (Kopsell and Randle, 1999). سلنیوم در سطوح پایین نقش مهمی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارد (Jezek *et al*., 2011). سلنیوم جزء اصلی سلنوپروتئین‌ها است که وظایف مهمی از جمله محافظت از آنتی‌اکسیدان‌ها، متابولیسم انرژی و تنظیم ردوکس در حین رونویسی و بیان ژن دارند (Jezek *et al*., 2011). جایگزین شدن اسیدهای آمینه‌ی سولفوره‌ی سیستئین و متیونین با اسیدهای آمینه‌ی سلنیومی سلنوسیستئین و سلنومتیونین می‌تواند واکنش‌های بیوشیمیایی را مختل کند. اما سلنیوم موجود در گیاهانی که به میزان بالای سلنیوم مقاوم هستند جزئی از اسیدهای آمینه‌ی غیرپروتئینی است (Jezek *et al*., 2011) و گونه‌های *Allium* توانایی تجمع سطح بالای سلنیوم را دارند (Bystrická *et al*., 2015).

کودهای نیتروژن و سلنیوم در بسیاری از موارد با هم برهمکنش دارند، به‌عنوان مثال جذب و آسیمیلاسیون نیتروژن و سلنیوم بسیار مشابه است و بسیاری از تولیدات متداول متابولیسم نیتروژن و سلنیوم در گیاهان وجود دارد (Klikocka *et al*., 2017). سلنیوم در غلظت‌های پایین فعالیت نیترات ردوکتاز را افزایش می‌دهد (Xu *et al*., 2013). متابولیسم سلنیوم ارتباط نزدیکی با متابولیسم مواد نیتروژنی به‌ویژه اسیدهای آمینه دارد (Jezek *et al*., 2011). علاوه بر این متابولیسم گوگرد به سوخت و ساز نیتروژن در گیاه وابستگی زیادی دارد، نیتروژن می‌تواند بر جذب گوگرد توسط پیاز تأثیرگذار باشد. سلنیوم می‌تواند جایگزین گوگرد شده و در متابولیسم گوگرد دخالت کند درنتیجه در چنین شرایطی کل متابولیسم نیتروژن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Reis *et al*., 2018). بنابراین مطالعه‌ی اثرات متقابل بین نیتروژن و سلنیوم جهت بهبود برخی خصوصیات فیزیولوژیک و ترکیبات مرتبط با طعم پیاز ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور سطوح مختلف نیتروژن و سلنیوم در سه تکرار روی پیاز خوراکی توده‌ی زرد اصفهان در سال زراعی ۱۳۹۶ تا ۱۳۹۷ در مزرعه‌ی تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد که دارای طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی می‌باشد و در ارتفاع ۱۳۱۹ متری از سطح دریا قرار گرفته است. فاکتور اول شامل مدیریت مصرف کود نیتروژن توصیه شده بر اساس آزمون خاک (جدول ۱) (۵۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره) در سه سطح بدون کود (شاهد)، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ و فاکتور دوم نیز شامل محلول‌پاشی برگی سلنیوم به‌صورت نمک سلنات‌سدیم در سه سطح صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم (ویسی علی‌اکبری و همکاران، ۱۳۹۸) بود.

جدول ۱. نتیجه آزمون خاک

Table 1. Soil test result

soil texture	Organic carbon٪	N total (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	EC (dS/m)	pH
Clay-Silt	0.8	0.08	14	450	0.90	7.90

ابعاد واحدهای آزمایشی ۲/۵×۱/۵ متر و فواصل کاشت نشاءها ۱۰×۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد (Ghaffor *et al.*, 2003)، جهت جلوگیری از آبشویی و اختلال کود نیتروژن، بین هر کرت فاصله یک متری طراحی شد. پس از تسطیح زمین و آماده نمودن کرت‌ها، نشاهای پیاز در اوایل خرداد ۱۳۹۶ به‌صورت دستی کشت و بلافاصله آبیاری به‌صورت غرقابی انجام شد. پس از کشت نشاء پیاز میزان کودهای مربوط به هر سطح به‌صورت نواری در زمان‌های تعیین‌شده به هر کرت افزوده شد و بلافاصله آبیاری انجام گرفت. محلول‌پاشی سلنیوم به‌صورت نمک سلنات‌سدیم در اواسط مرداد ۱۳۹۶ زمانی که نشاءهای پیاز در مرحله‌ی ۶ تا ۸ برگی بودند، در ابتدای صبح به‌صورت دستی انجام شد. آبیاری به‌صورت غرقابی با دور هفت روز یک‌بار انجام شد. برداشت گیاهان هنگامی که بیش از ۵۰ درصد از آن‌ها گردن نرم شدند، در اواخر مهرماه انجام شد.

فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز)

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا عصاره‌ی آنزیمی تهیه شد؛ به‌این ترتیب که ابتدا بافت منجمد شدهٔ سوخ در حضور ازت مایع در هاون چینی آسیاب شد و مقدار ۰/۱ گرم از آن به تیوب پلاستیکی حاوی ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج اضافه و هم زده شد. نمونه از صافی عبور داده شد و عصارهٔ تهیه شده به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ و محلول شفاف رویی به آرامی جدا شد؛ محلول حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت هریک از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به شرح زیر استفاده شد. به‌منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصارهٔ گیاهی با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل فسفات‌سدیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیتهٔ ۷) و ۲ میلی‌مولار اتیلن‌دی‌آمین ترا استیک‌اسید آمیخته و واکنش آنزیم کاتالاز با اضافه‌کردن ۵ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۳۰ درصد به این مخلوط آغاز شد. تغییرات جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت ۱ دقیقه ثبت شد. هر واحد از فعالیت آنزیم کاتالاز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب کاهش ۱ میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه می‌شود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین برگ بیان شد (Bergmeyer, 1970).

فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌روش اسپکتروفتومتری (Herzog and Fahimi 1973) اندازه‌گیری شد. جهت استخراج آنزیم، ۰/۱ گرم بافت پودر شده سوخ پیاز در یک میلی‌لیتر بافر استخراج ریخته شد و سپس کاملاً به‌هم زده شد. این عصاره به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول شفاف بالائی (عصاره آنزیم) به‌آرامی جدا شد. برای شروع واکنش آنزیم پراکسیداز، ابتدا در هر دو کوئت شاهد و کوئت نمونه مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج ریخته و به آن‌ها مقدار ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰درصد و ۵ میکرولیتر ماده‌ی گلایکول اضافه گردید. این ۲ کوئت در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و عدد قرائت شده صفر شد. سپس به کوئت نمونه مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی گیاهی اضافه شد و ثبت تغییرات جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۴۶۵ نانومتر که بیانگر میزان تخریب و کاهش غلظت H_2O_2 است، هر ۱۰ ثانیه و به‌مدت ۱۲۰ ثانیه انجام گردید. هر یک واحد از فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که در هر دقیقه موجب کاهش یک میکرومول H_2O_2 در هر میلی‌لیتر می‌شود.

اسیدهای آمینه (متیوین، سرین، سیستئین و گلوتاتیون)

متیوین و سرین

نیم‌گرم بافت سوخ پیاز در ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات-سالین دارای ۱ میلی‌مول فنیل متیل سولفونیل فلورید و ۱ میلی-مول لئوپپتین همگن شدند و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۶۰۰۰ دور در

دقیقه سانتریفوژ شدند و محلول‌رویی به‌دست آمده در برابر آب مقطر خالص دیالیز گردید. مقداری از محلول دیالیز شده که بایستی معادل ۳۰ میلی‌گرم پروتئین باشد با ۳ میلی‌لیتر اسید کلریدریک با غلظت ۶ مولار در حرارت ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۲ ساعت تحت شرایط خلا هیدرولیز گردید. محلول استخراجی فوق در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده و به آن کربنات لیتیم و دانسیل کلرید اضافه شد و سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول به‌دست آمده به ستون Spherisorb-ODS$_2$ به طول ۲۵ سانتی¬متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و ذرات داخلی به قطر ۵ میکرولیتر متصل به دستگاه HPLC مدل یونیکام-کریستال-۲۰۰ تزریق گردید که پمپ آن از نوع Binary-LC-200، سمپلر اتوماتیک LC-200 و دتکتور از نوع فلورسانس بود. فاز متحرک شامل محلول A، آب مقطر و محلول B، استونیتریل بود که در هر دو محلول ۰/۵٪ اسید فسفریک است. در ۲۰ دقیقه اول ۲۰٪ از محلول B و ۸۰٪ از محلول A با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون حرکت کرد. در ۲۰ دقیقه‌ی بعد با شیب ملایم به ۵۰٪ از هر کدام از دو محلول A و B رسید و در ۵ دقیقه‌ی پایانی با شیب غلظت ۱۰۰٪ از محلول B ستون شستشو داده شد. طول موج تحریک دتکتور بر ۲۶۰ نانومتر و طول موج خروجی بر ۵۱۵ نانومتر تنظیم گردید. نوع و میزان هر اسید آمینه در نمونه آزمایش از طریق زمان بازداری و سطح زیر منحنی نمونه‌های استاندارد تعیین گردید (Tapubi *et al.*, 1981).

سیستئین و گلوتاتیون

بافت سوخ در دو برابر حجم از بافر استخراج (اسید کلریدریک ۰/۱ مولار) به‌طور کامل همگن شد. سپس به‌مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. به محلول رویی ۲۰۰ میکرو لیتر ۲-(ان-سیکلوهگزیل¬آمینو) اتان سولفونیک اسید به غلظت ۰/۲ مول و پی‌اچ ۹/۳ اضافه شده و مخلوط گردید. سپس به مخلوط حاصل ۱۰ میکرولیتر و بیس-۲-مرکاپتواتیل سولفون و تریس-اسید کلریدریک به غلظت ۰/۲ مول و پی‌اچ ۸ اضافه شد، سپس به آن ۵ میلی‌مول از اتیلن‌دی آمین ترا استیک اسید اضافه کرده و مخلوط حاصل ۴۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگه‌داری شد و پس از ۴۰ دقیقه به آن ۲۰ میکرولیتر مونوبروموبیماین به غلظت ۱۵ میلی‌مول اضافه گردید و ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. واکنش با اضافه کردن اسید کلریدریک ۱۵٪ به میزان ۲۵۰ میکرولیتر متوقف گردید و در نهایت محلول حاصل فیلتر شد. از محلول به‌دست آمده به دستگاه HPLC تزریق گردید. بدین منظور ۲۰ میکرولیتر از محلول نهایی استخراج شده به ستون فاز معکوس C18 متصل به دستگاه HPLC مدل یونیکام-کریستال-۲۰۰ ساخت انگلستان تزریق گردید. فاز متحرک شامل محلول A، ۰/۲۵٪ اسید استیک و محلول B، متانول بود در فاصله ۵ دقیقه‌ی اول فاز متحرک شامل ۱۵٪ محلول B سپس تا ۲۱ دقیقه نسبت محلول B به ۲۳٪ رسید و تا ۴۰ دقیقه این نسبت به ۱۰۰٪ رسید. دتکتور از نوع فلورسانس بوده که طول موج تحریکی آن ۳۸۰ نانومتر و طول موج خروجی آن بر ۴۸۰ تنظیم شد. نوع و کمیت پیک‌های نمونه‌های مجهول بر اساس زمان بازداری و سطح زیر منحنی نمونه‌های استاندارد مشخص شدند (Avraham et al., 2005).

پیش ماده‌های گوگردی مرتبط با طعم

یک گرم از بافت سوخ در محلول استخراج (حاوی ۱۲ قسمت متانول، ۳ قسمت آب دیونیزه و ۸۵ درصد اتانول با حجم نهایی ۱۵ میلی‌لیتر) به طور کامل همگن شد و پس از سانتریفوژ به‌مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه محلول رویی جدا شده و سپس توسط جریان هوا خشک گردید. به عصاره‌ی خشک شده ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد که مجددا به¬صورت محلول درآمد. این محلول بر ستون تعویض یونی به قطر ۱۰ میلی¬متر و طول ۴ سانتی‌متر (Bio-Rad Hercul) دارای رزین Dowex (Mesh-400) مستقر گردید و توسط محلول اتانول-استیک اسید با غلظت‌های ۲،۰/۲،۰/۱ و ۵ مول شستشو داده شدند.

فراکشن خروجی در ۲ مول از حلال شستشو برداشت شد و توسط جریان هوا خشک و سپس به آن ۲۵۰ میکرولیتر محلول حاوی ۱ قسمت اتانول، ۱ قسمت تری اتانول آمین و ۱ قسمت آب دیونیزه اضافه گردید. محلول حاصل مجددا خشک شده و به آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول حاوی ۱ قسمت اتانول، ۱ قسمت تری اتانول آمین، ۱ قسمت فنیل ایزوتیوسیانات و ۱ قسمت آب دیونیزه اضافه شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه محلول فوق مجددا توسط گاز نیتروژن خشک شده و سپس به آن ۷۵ میکرولیتر آب دیونیزه و ۲۵ میکرولیتر استونیتریل فوق خالص اضافه گردید. از این محلول برای تزریق به دستگاه HPLC استفاده گردید. از محلول استخراجی فوق الذکر ۲۰ میکرولیتر به ستون HPLC با مشخصات (طول ۲۵ سانتی¬متر از نوع Spbir-5RP-18 با قطر داخلی ۴/۶ میلی متر) که پیش از آن ستون گارد با مشخصات (طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر داخلی ۳/۲ میلی‌متر و قطر ذرات ۷ میکرومتر از نوع Newgard-RP-18) قرار دارد تزریق گردید. دستگاه HPLC مورد استفاده مدل یونیکام-کریستال-۲۰۰ ساخت انگلستان مجهز به دتکتور Photodiode array (مدل ۹۹۶) بود. طول موج دتکتور در ۲۵۴ نانومتر تنظیم شد و فاز متحرک شامل دو محلول؛ محلول A، استونیتریل ۶۰٪ و محلول B، محلول آبی حاوی ۰/۱۴ مول استات سدیم و ۰/۰۵٪ تری اتانول آمین با پی‌اچ ۶/۵ و سرعت عبور ۰/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. ابتدا به‌مدت ۱/۱ دقیقه ۱۵٪ محلول A با محلول B از ستون عبور داده شد و سپس تا ۲۱ دقیقه از ۱۵٪ تا ۴۵٪ از محلول A همراه با محلولB عبور داده شد و در یک دقیقه بعد فقط ۴۵٪ محلول A همراه با محلول B عبور داده شد و بعد از آن تا ۱۴ دقیقه هم‌چنان با ۱۰۰٪ از محلول A، عمل شستشو انجام گرفت. پیک‌های خروجی بر اساس استاندارد و زمان بازداری تعیین هویت و کمیت می‌شوند (Randle, 2000).

گوگرد کل

گوگرد کل به دو فرم گوگرد سولفاته (گوگرد معدنی) و گوگرد آلی وجود دارد که مجموع این دو به‌عنوان گوگرد کل ارزیابی می‌شود. جهت اندازه‌گیری گوگرد معدنی، به ۰/۲ گرم پودر خشک شده ی سوخ پیاز ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و مخلوط حاصل به‌مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. سپس محلول از فیلتر واتمن شماره ۱ عبور داده شد. میزان گوگرد معدنی طبق روش کدورت‌سنجی و با اضافه کردن سولفات باریم به‌دست آمد. اندازه‌گیری گوگرد آلی، مقدار ۰/۱ گرم از بافت خشک شده سوخ در اسید نیتریک هضم گردید و سپس به آن آب اکسیژنه اضافه شد. سپس تغییر جذب نوری آب اکسیژنه در ۲۴۰ نانومتر نسبت به شاهد برای تعیین مقدار گوگرد آلی مورد استفاده قرار گرفت (Diego *et al*., 2005).

نیتروژن کل

برای اندازه‌گیری نیتروژن کل از روش کجلدال استفاده شد که شامل ۳ مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون می‌باشد. در این روش به ۰/۵ گرم از سوخ خشک و آسیاب شده، ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزور اضافه گردید. سپس روی گرم کننده و به‌مدت ۲ ساعت هضم نمونه¬ها صورت گرفت و عصاره‌ی به‌دست آمده در بالن ژوژه‌ی ۱۰۰ به حجم رسانیده شد. ۲۰ میلی‌لیتر از این محلول برداشته شد و با استفاده از ۴۰ میلی‌لیتر سود ۱ نرمال و ۵۰ میلی‌لیتر اسید بوریک تقطیر انجام گردید و سپس با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال عمل تیتراسیون انجام گرفت. مقدار عددی آن بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیان شد (Gupta, 1999).

تجزیه آماری: تجزیه‌ی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۱) انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P\leq0.05$) استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف

سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوخ پیاز نشان می‌دهد که سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پرکسیداز در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت. تقسیط نیتروژن و اثر متقابل بین سلنیوم و تقسیط نیتروژن اثر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند (جدول ۲).

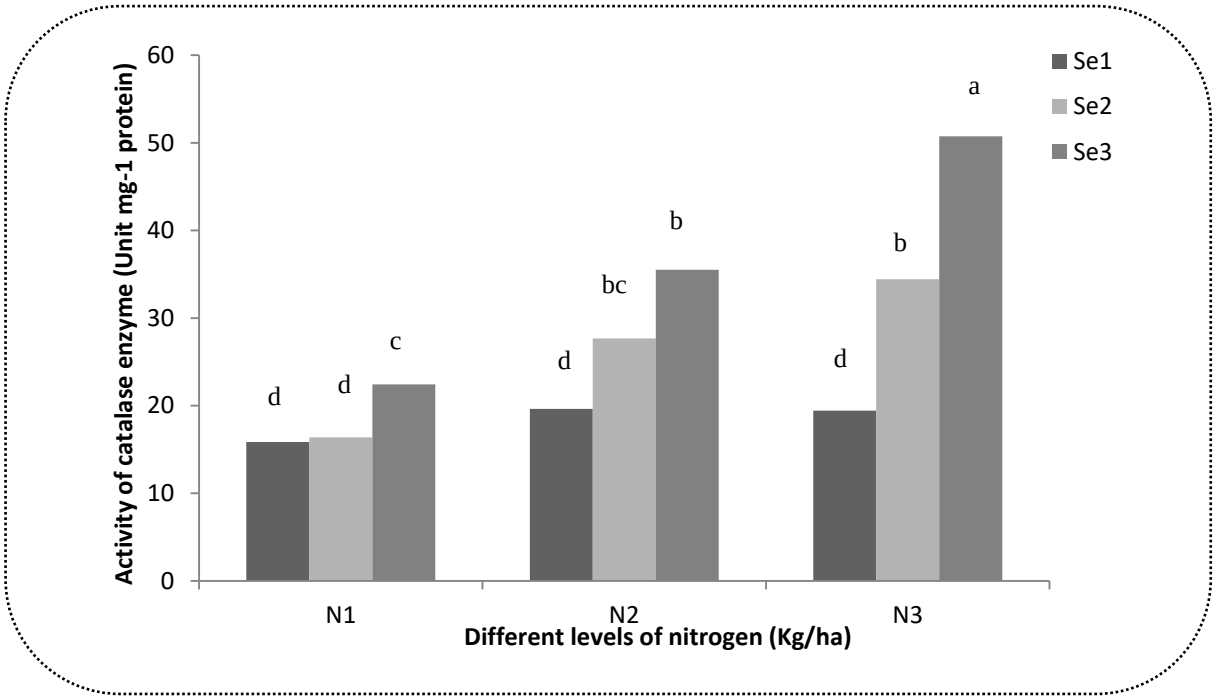
جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوخ پیاز

Table 2. Analysis of variance effect of different levels of selenium and nitrogen split on activity antioxidant enzymes of onion bulb

		Mean squares	
Source of variation	df	Activity of catalase enzyme	Activity of peroxidase enzyme
Se	2	405.23**	5.69**
N split	2	1014.29**	1.72ns
Se×N split	4	54.55**	0.34ns
Block	2	90.58**	0.50ns
Error	16	8.82	0.646
C.V	-	10.56	8.11

ns و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ns and **: non- significant and significant at the 1% level of probability, respectively



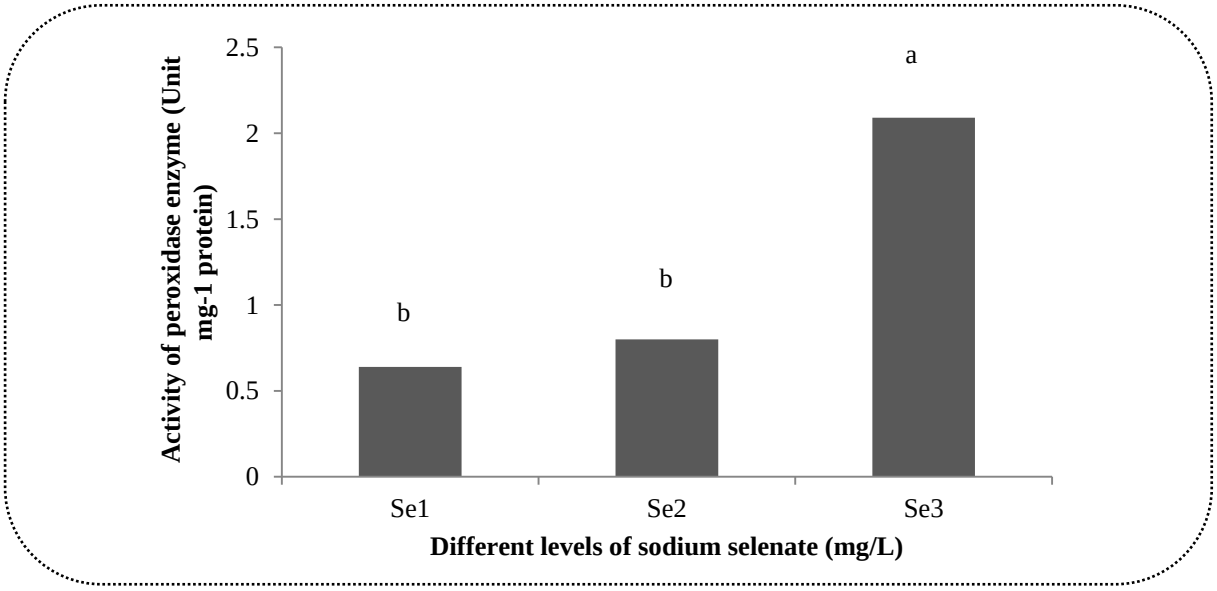
شکل ۱. اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز سوخ پیاز

Figure 1. Effect of different levels of selenium and nitrogen split on catalase activity of onion bulb

N_1، N_2 و N_3 به‌ترتیب نشان می‌دهد بدون کود، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ؛ Se_1، Se_2 و Se_3 به‌ترتیب صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم

N_1, N_2 and N_3 show Control, Consumption of total fertilizer at the time of transplantation, Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth, respectively; Se_1, Se_2 and Se_3show the 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate, respectively

نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز سوخ پیاز نشان دادکه بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم بود. (شکل ۱). در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف سلنیوم مشاهده شد.



شکل ۲. اثر سطوح مختلف سلنیوم فعالیت آنزیم پراکسیداز سوخ پیاز

Figure 2. Effect of different levels of selenium on peroxidase activity ofonion bulb

Se_1، Se_2 و Se_3 به‌ترتیب صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم

Se_1, Se_2 and Se_3: 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate, respectively

سلنیوم عنصر مهمی است که با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، میکروارگانیسم‌ها، حیوانات و انسان همراه است. سطوح پایین سلنیوم در گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد و در نهایت رشد و عملکرد گیاه را بهبود بخشید (Ramos *et al*., 2010). علاوه بر این، سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میزان پراکسیداسیون لیپید و تشکیل پراکسید هیدروژن را کاهش داده در نتیجه پیری را به تأخیر می‌اندازد (Reis *et al*., 2018). طبق نتایج به‌دست آمده سلنیوم (در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم) میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز سوخ پیاز را افزایش داده است که مطابق نتایج میوه‌ی فلفل تند (*Capsicum annum* L.) (شکاری و همکاران، ۱۳۹۶) و گندم (*Triticum aestivum* L.) (Lara *et al*., 2019) است. گزارشات فراوانی مبنی بر تأثیر مثبت محلول‌پاشی سلنیوم تحت شرایط تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز وجود دارد (Xue *et al*., 2013). در نتیجه می‌توان گفت، محلول‌پاشی سلنیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدانی و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد سلول می‌شود که طی فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه تولید می‌شوند درنتیجه سبب کاهش

خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی می‌شود. طبق نتایج به‌دست آمده افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تیمار کودهای نیتروژنه در برنج (*Oryza sativa* L.) (Tung and Ng, 2019) و رامی (*Boehmeria nivea* L.) (Rehman *et al*., 2020) نیز گزارش شده است. طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱)، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ (۵۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره) همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم نسبت به تیمار شاهد (بدون کود) بود که بیان‌گر نقش هر دو عنصر بر فعالیت آنزیم کاتالاز است. نتایج مشابه‌ی توسط Reis و همکاران (۲۰۱۸) در گیاه برنج نیز گزارش شده است.

نیتروژن کل و گوگرد کل

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان نیتروژن کل و گوگرد کل سوخ پیاز نشان داد که نیتروژن، سلنیوم و اثر متقابل بین سلنیوم و نیتروژن اثر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان نیتروژن کل و گوگرد کل دارد (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان نیتروژن کل و گوگرد کل سوخ پیاز
Table 3. Analysis of variance effect of different levels of selenium and nitrogen split on amount of total nitrogen and total sulfur of onion bulb

	Mean squares		
Source of variation	df	Total nitrogen	Total sulfur
Se	2	1811.66**	619.0**
N split	2	3587.28**	3301.20**
Se×N split	4	420.12**	1051.63**
Block	2	13.45^{ns}	9.54^{ns}
Error	16	25.91	26.49
C.V	-	4.75	5.90

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد
ns and **: non- significant and significant at the 1% level of probability, respectively

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیش‌ترین میزان گوگرد کل در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ همراه با کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سلنات‌سدیم مشاهده شد وکم‌ترین میزان گوگرد کل در تیمار شاهد (بدون کود) همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود. در تیمار بدون کود، با افزایش سطح سلنیوم میزان گوگرد کل کاهش نشان داد. در حالی‌که در دو تیمار کل کود توصیه شده در زمان نشاء و مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ با افزایش سطح سلنیوم میزان گوگرد کل سوخ پیاز افزایش یافت.

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان نیتروژن کل به‌ترتیب در تیمارهای مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم و تیمار شاهد (بدون کود) همراه با صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده شد. در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان نیتروژن کل سوخ پیاز افزایش نشان داد.

جدول ۴. اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان نیتروژن کل و گوگرد کل سوخ پیاز

Table 4. Effect of different levels of selenium and nitrogen split on amount of total nitrogen and total sulfur of onion bulb

Treatment	Total nitrogen (mg/gDW)	Total sulfur (mg/gDW)
N_1Se_1	81.6^{f}	76.90^{ef}
N_1Se_2	94^{de}	79.10^{f}
N_1Se_3	101^{d}	50.43^{g}
N_2Se_1	90.4^{e}	112.50^{b}
N_2Se_2	96.8^{de}	91.70^{d}
N_2Se_3	110.4^{c}	74.25^{f}
N_3Se_1	100.3^{d}	121.16^{a}
N_3Se_2	138.7^{b}	103.70^{c}
N_3Se_3	150.2^{a}	83.66^{de}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range test

N_1، N_2 و N_3 به‌ترتیب نشان می‌دهد بدون کود، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ؛ Se_1، Se_2 و Se_3 به‌ترتیب: صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم

N_1, N_2 and N_3 show Control, Consumption of total fertilizer at the time of transplantation, Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth, respectively; Se_1, Se_2 and Se_3 show the 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate, respectively

سلنیوم در تیمار بدون کود نیتروژن میزان گوگرد کل سوخ پیاز را کاهش داد (جدول ۴)، زیرا سلنیوم به‌ویژه زمانی که به‌صورت سلنات استفاده شود از ناقلین سولفات، یعنی پروتئین‌های انتقال دهنده‌ی گوگرد، در گیاهان استفاده می‌کند. درنتیجه سلنیوم جذب گوگرد را کاهش می‌دهد (Reis *et al*., 2018). در حالی‌که، نیتروژن تأثیر مثبتی بر میزان گوگرد کل سوخ پیاز در حضور سلنیوم داشت (جدول ۴). علاوه بر میزان کود نیتروژن، تقسط آن تأثیر مثبتی بر میزان گوگرد کل داشت. کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم میزان نیترژن کل سوخ پیاز را نسبت به تیمار شاهد (بدون کود) افزایش داد (جدول ۴) که این افزایش ممکن است با افزایش میزان اسیدهای آمینه و پروتئین همراه باشد. احتمالاً سلنیوم می‌تواند نیتروژن را به‌روش مثبت متابولیزه کند که افزایش جذب نیتروژن توسط ریشه گیاه را در پی دارد. این امر از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا نیتروژن بیش‌ترین عنصر مورد نیاز برای عمل متابولیک طبیعی گیاه است. تنظیم متابولیسم نیتروژن با افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز همراه است. نیترات ردوکتاز آنزیم مسئول تبدیل نیترات به نیتریت است که یک آنزیم ضروری برای متابولیسم نیتروژن محسوب می‌شود. هم‌چنین سلنیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ردکتاز تأثیر مثبت دارد (Lara *et al*., 2019). افزایش میزان نیتروژن کل با افزایش غلظت سلنیوم در سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) (Yassen *et al*., 2011) و برنج (Reis *et al*., 2018) گزارش شده است.

اسیدهای آمینه (سرین، سیستئین، متیونین و گلوتاتیون)

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، سلنیوم اثر معنی‌داری بر میزان اسید آمینه‌ی سرین، سیستئین (در سطح احتمال یک درصد) و گلوتاتیون (در سطح احتمال پنج درصد) داشت. تقسیط نیتروژن و اثر متقابل بین تقسیط نیتروژن و سلنیوم بر میزان اسیدآمینه‌های مورد مطالعه اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند.

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان برخی اسیدهای آمینه سوخ پیاز

Table 5. Analysis of variance effect of different levels of selenium and nitrogen split on some amino acids of onion bulb

		Mean squares			
Source of variation	df	Serine	Cysteine	Methionine	Glutathione
Se	2	0.44^{**}	133.68^{**}	0.46^{ns}	29.59^{*}
N split	2	17.16^{**}	283.34^{**}	7.211^{**}	1603.95^{**}
Se×N split	4	0.95^{**}	21.48^{**}	0.564^{**}	85.20^{**}
Block	2	0.52^{ns}	4.49^{ns}	0.29^{ns}	7.40^{ns}
Error	16	0.37	4.51	0.20	6.97
C.V	-	3.92	6.78	4.26	7.59

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non- significant, significant at the 5% and 1% level of probability, respectively

جدول ۶. اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان برخی اسیدهای آمینه سوخ پیاز

Table 6. Effect of different levels of selenium and nitrogen split on some amino acids of onion bulb

Treatment	Serine (µg/gFW)	Cysteine (µg/gFW)	Methionine (µg/gFW)	Glutathione (µg/gFW)
N_1Se_1	4.13^{e}	33.4^{a}	2.84^{f}	25.11^{e}
N_1Se_2	3.73^{f}	29.02^{f}	2.42^{g}	22.11^{ef}
N_1Se_3	3^{g}	21.55^{f}	1.90^{h}	19.37^{f}
N_2Se_1	5.3^{c}	37.7^{cd}	3.86^{c}	37.75^{c}
N_2Se_2	4.96^{d}	34.4^{ed}	3.50^{d}	32.52^{d}
N_2Se_3	4.4^{e}	28.8^{e}	3.17^{e}	29.83^{d}
N_3Se_1	6.77^{a}	40.4^{a}	4.35^{a}	55.2^{a}
N_3Se_2	6.55^{a}	36.16^{b}	4.15^{ab}	42.23^{b}
N_3Se_3	5.82^{b}	30.46^{bc}	3.96^{bc}	37.75^{c}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range test

N_1، N_2 و N_3 به‌ترتیب نشان می‌دهد بدون کود، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ؛ Se_1، Se_2 و Se_3 به‌ترتیب: صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم

N_1, N_2 and N_3 show Control, Consumption of total fertilizer at the time of transplantation, Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth, respectively; Se_1, Se_2 and Se_3 show the 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate, respectively

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶)، کم‌ترین میزان اسید آمینه‌ی سرین در تیمار بدون کود همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده شد و بیش‌ترین میزان آن در تیمارهای مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با صفر و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود. در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان اسید آمینه‌ی سرین کاهش یافت (جدول ۶).

طبق نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سلنیوم و

تقسیط نیتروژن بر میزان اسید آمینه‌ی سیستئین، بیش‌ترین میزان اسید آمینه سیستئین در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم نداشت. کم‌ترین میزان اسید آمینه سیستئین در تیمارهای بدون کود نیتروژن در ترکیب با ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده شد (جدول ۶). طبق نتایج اثر متقابل بین نیتروژن و سلنیوم بر میزان اسید آمینه سیستئین، با افزایش غلظت سلنیوم در هر سه سطح نیتروژن میزان اسید آمینه‌ی سیستئین کاهش یافت.

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶)، در هر سه سطح نیتروژن با افزاش غلظت سلنیوم میزان اسید آمینه‌ی متیونین کاهش نشان داد. بیش‌ترین میزان اسید آمینه متیونین در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم نداشت. کم‌ترین میزان اسید آمینه‌ی متیونین در تیمارهای بدون کود نیتروژن در ترکیب با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده شد (جدول ۶).

براساس نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان اسید آمینه‌ی گلوتامین (جدول ۶)، کم‌ترین میزان اسید آمینه‌ی گلوتامین در تیمارهای بدون کود نیتروژن همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون کود نیتروژن همراه با ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم نداشت. بیش‌ترین میزان اسید آمینه‌ی گلوتامین در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود. طبق نتایج اثر متقابل بین نیتروژن و سلنیوم بر میزان اسید آمینه سیستئین، با افزایش غلظت سلنیوم در هر سه سطح نیتروژن میزان اسید آمینه‌ی گلوتامین کاهش یافت (جدول ۶).

تغذیه گیاه و کوددهی می‌تواند به‌طور معنی‌داری بر میزان اسید آمینه بافت‌های گیاه تأثیرگذار باشد (Jezek *et al.*, 2011). متیونین جزء اسیدهای آمینه ضروری (گوگرددار) و سرین، سیستئین و گلوتاتیون (گوگرددار) به اسیدهای آمینه غیرضروری تعلق دارند. در گیاهان متابولیسم سلنیوم ارتباط نزدیکی با متابولیسم مواد نیتروژنه به‌ویژه اسیدهای آمینه دارد و سلنیوم منجر به بهبود فرایند آسیمیلاسیون نیتروژن شده که کاهش میزان نیترات و افزایش میزان اسیدهای آمینه را در پی دارد (Ríos *et al.*, 2010). افزایش میزان اسیدهای آمینه ضروری در گیاه چای (*Camellia sinensis*)، کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. italica) و کاهو تحت تأثیر تیمار سلنیوم گزارش شده است (Lee *et al.*, 2005; Hu and Chen, 2007 and Ríos *et al.*, 2010) که مغایر نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌باشد. در طول رشد پیاز اسیدهای آمینه از برگ‌ها به سوخ منتقل می‌شوند و بیش‌ترین اسید آمینه در سوخ پیاز آرژنین و گلوتامین است. در پیاز سیستئین و گلوتاتیون به‌عنوان پیش ماده چند گاما-گلوتامیل پپتید به‌کار می‌روند که در مسیر بیوسنتز طعم استفاده می‌شوند (Lee *et al.*, 2009). در نتیجه افزایش میزان سلنو سیستئین می‌تواند دلیلی بر کاهش میزان اسید آمینه‌ی سیستئین در سوخ پیاز باشد که در نهایت میزان گلوتاتیون کاهش می‌یابد. کاهش در میزان سیستئین و گلوتاتیون کاهش میزان پیش ماده‌های مرتبط با طعم را درپی دارد (جدول ۶). براساس نتایج به‌دست آمده از تحقیقات انجام شده، گوگرد به شکل

سولفات وارد گیاه می‌شود و به برگ‌ها منتقل می‌گردد. سولفات در برگ می‌تواند در واکوئل ذخیره شده و یا در کلروپلاست ابتدا به سرین سپس سیستئین احیا شود. سیستئین تولید شده می‌تواند به سرعت به پروتئین تبدیل شود، یا به‌عنوان پیش ماده‌ی متیونین و گلوتاتیون (یک آنتی‌اکسیدان قوی با ۳ اسید آمینه؛ گلوتامین، گلیسین و سیستئین است) مصرف می‌گردد. در پیاز سیستئین و گلوتاتیون به‌عنوان پیش ماده سنتز چند گاما-گلوتامیل پپتید در مسیر بیوسنتز طعم پیاز مصرف می‌شوند (Coolong and Randle, 2003). به‌دلیل شباهت شیمیایی سلنیوم به گوگرد، سلنیوم می‌تواند جایگزین گوگرد در ترکیبات حاوی گروه‌های سولفیدریل مانند اسیدهای آمینه گوگرددار، گلوتاتیون و کوآنزیم‌ها شود (Schiavon *et al.*, 2013). لذا در پیاز به‌دلیل رقابت سلنات با سولفات برای دسترسی به مسیر جذب گوگرد، می‌تواند دلیلی برای کاهش اسید آمینه سیستئین در نتیجه سنتز اسید آمینه سلنوسیستئین باشد و از آن‌جایی که سیستئین یکی از پیش ماده‌های سنتز گلوتاتیون است، کاهش در میزان سیستئین سنتز گلوتاتیون را نیز محدود می‌کند. گلوتاتیون، یک تری‌پپتیدسیستئین، به‌عنوان شروع کننده مسیر بیوسنتز طعم در پیاز است و هم‌چنین به‌عنوان یک ذخیره موقتی از سولفات احیا شده عمل می‌کند (Kopsell and Randle, 1997) که کاهش میزان گلوتاتیون بر سنتز پیش ماده‌های طعم تأثیرگذار است. با توجه به بررسی‌های انجام شده، سلنات توسط ناقل‌های سولفات جذب می‌شود و احیای آن به سلنیت در برگ‌ها انجام می‌شود. سلنیت پس از چند مرحله احیا به سلنید تبدیل شده که در تشکیل سلنوسیستئین شرکت می‌کند. سلنید و سولفید برای سایت‌های اتصال آنزیم سیستئین سنتتاز رقابت می‌کنند. سلنید از طریق غیرفعال کردن آنزیم سیستئین سنتتاز مانع از تشکیل سیستئین می‌گردد، در حالی‌که سولفید نیز از تولید سلنوسیستئین جلوگیری می‌کند. این رقابت وقتی که غلظت هر دو یون بالا باشد بیشتر است (Randle, 1997). سولفات با یک گروه استیل کوآنزیم ای به سرین تبدیل می‌شود که اولین مرحله احیا سولفات است با توجه به نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد که سلنیوم (سلنات) در رقابت با سولفات پیروز شده و بیشتر جذب می‌شود که منجر به کاهش میزان این اسید آمینه می‌گردد. کاهش میزان سرین، کاهش سیستئین را در پی دارد. کاهش سیستئین تولید شده در شرایط تیمار سلنیوم منجر به کاهش متیونین و گلوتاتیون در سوخ پیاز می‌شود. با افزایش غلظت نیتروژن میزان اسیدهای آمینه افزایش یافتند که مشابه نتایج به‌دست آمده در ذرت (Lošák *et al.*, 2010) است. افزایش غلظت نیتروژن با افزایش میزان نیتروژن کل و گوگرد کل در سوخ پیاز (جدول ۴) همراه است، درنتیجه میزان اسیدهای افزایش می‌یابند. طبق نتایج به‌دست آمده، بر همکنش بین سلنیوم و نیتروژن بر میزان اسیدهای آمینه سوخ تأثیرگذار بود. در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان اسیدهای آمینه بیشتر از تیمار شاهد بود.

ترکیبات و پیش ماده‌های طعم سوخ پیاز (متین، پروپین، ایزوآلین، کربوکسی پروپیل گلوتاتیون، گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید)

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان ترکیبات گوگردی سوخ پیاز (جدول ۷) نشان می‌دهد که سلنیوم اثر معنی‌داری بر میزان ایزوآلین، کربوکسی پروپیل گلوتاتیون (در سطح احتمال یک درصد) و گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید (در سطح احتمال پنج درصد) داشت. تقسیط نیتروژن اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان ترکیبات گوگردی مورد بررسی داشت. اثر متقابل بین سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر میزان متین، ایزوآلین، کربوکسی پروپیل گلوتاتیون (در سطح احتمال یک درصد) و گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید (در سطح احتمال پنج درصد) معنی‌داری بودند.

نتایج مقایسه میانگین‌ها اثر متقابل تقسیط نیتروژن و سلنیوم بر میزان متین سوخ پیاز نشان داد که بیش‌ترین

میزان متین تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با سطوح مختلف سلنیوم بود. کم‌ترین میزان متین در تیمار بدون کود نیتروژن همراه با سطوح مختلف سلنیوم مشاهده شد (جدول ۸). در تیمار مصرف کل کود توصیه شده در زمان نشاء، با افزایش غلظت سلنیوم میزان متین کاهش نشان داد.

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر پیش ماده‌های طعم سوخ پیاز

Table 7. Analysis of variance effect of different levels of selenium and nitrogen split on flavor precursors of onion bulb

		Mean squares				
Source of variation	df	Methiin	Propiin	Isoalliin	2-Carb[1]	GPECSO[2]
Se	2	0.48^{ns}	0.441^{ns}	0.130^{*}	0.64^{*}	0.86^{**}
N split	2	0.5294^{**}	0.6204^{**}	0.3286^{**}	$0.0.467^{**}$	0.14^{**}
Se×N split	4	0.189^{**}	0.848^{ns}	0.404^{**}	0.173^{**}	0.16^{*}
Block	2	0.7^{ns}	0.1343^{ns}	0.33^{ns}	0.20^{ns}	0.69^{ns}
Error	16	0.21	0.997	0.25	0.10	0.36
C.V	-	3.64	59.77	6.79	6.77	7.85

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non- significant, significant at the 5% and 1% level of probability, respectively

1: Carboxy propyl glutathione

2: Gamma glutamyl 1- propanyl cysteine sulfoxide

جدول ۸. اثر سطوح مختلف سلنیوم و تقسیط نیتروژن بر پیش ماده‌های طعم سوخ پیاز

Table 8. Effect of different levels of selenium and nitrogen split on flavor precursors of onion bulb

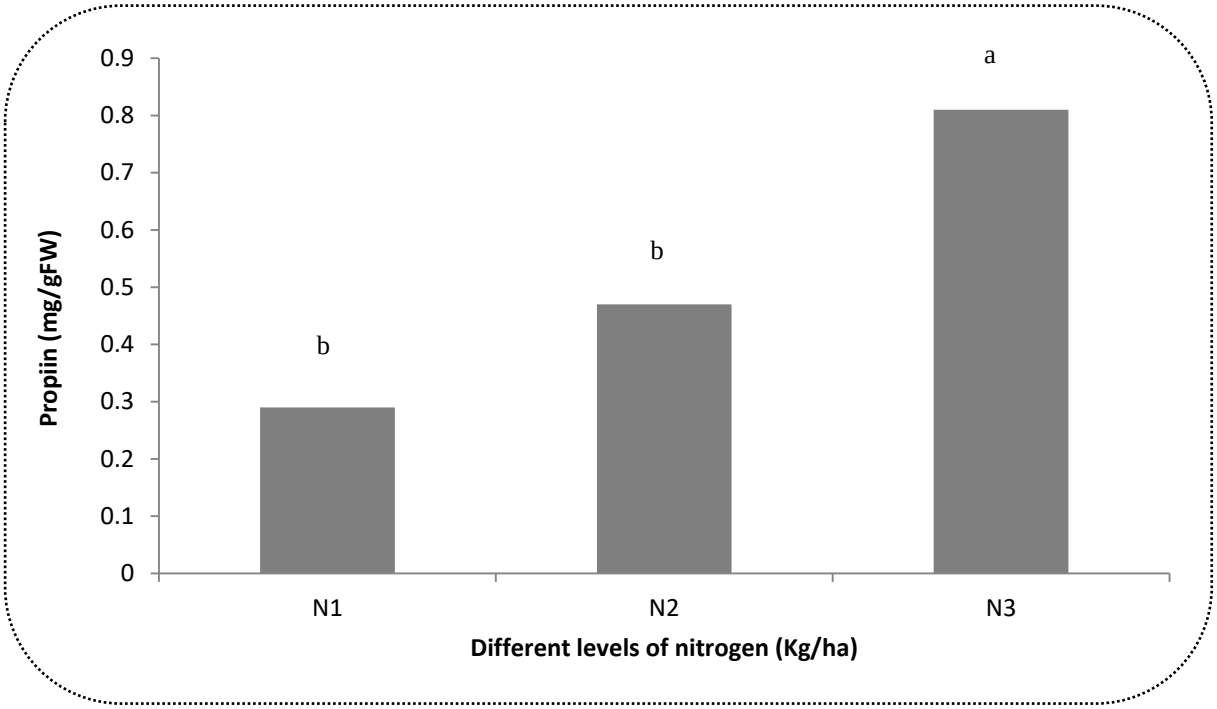
Treatment	Methiin (mg/gFW)	Isoalliin (mg/gFW)	2-Carb (mg/gFW)	GPECSO (mg/gFW)
N_1Se_1	1.05^{e}	0.63^{c}	0.44^{de}	0.226^{de}
N_1Se_2	1.03^{e}	0.60^{c}	0.40^{e}	0.19^{ef}
N_1Se_3	1.01^{e}	0.43^{d}	0.33^{f}	0.16^{e}
N_2Se_1	1.39^{b}	0.77^{b}	0.55^{bc}	0.28^{bc}
N_2Se_2	1.28^{c}	0.67^{c}	0.519^{dc}	0.26^{cd}
N_2Se_3	1.16^{d}	0.65^{c}	0.48^{de}	0.23^{cde}
N_3Se_1	1.537^{a}	1.03^{a}	0.61^{a}	0.31^{a}
N_3Se_2	1.533^{a}	0.97^{a}	0.512^{b}	0.27^{ab}
N_3Se_3	1.47^{a}	0.83^{b}	0.42^{bc}	0.22^{b}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range test

N_1، N_2 و N_3 به‌ترتیب نشان می‌دهد بدون کود، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ؛ Se_1، Se_2 و Se_3 به‌ترتیب: صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم

N_1, N_2 and N_3 show Control, Consumption of total fertilizer at the time of transplantation, Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth, respectively; Se_1, Se_2 and Se_3 show the 0, 10 and 50 mg L^{-1} sodium selenate, respectively



شکل ۳. اثر تقسیط نیتروژن بر اسید آمینه پروپین سوخ پیاز

Figure 3. Effect of nitrogen split on propiin of onion bulb

N_1، N_2 و N_3 به‌ترتیب نشان می‌دهد بدون کود، کل کود توصیه شده در زمان نشاء، مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ

N_1, N_2 and N_3 show Control, Consumption of total fertilizer at the time of transplantation, Consumption of one-third of recommended fertilizer at the time of transplantation+one-third fertilizer at the time of bulb initiation+one-third fertilizer at the time of bulb growth

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳)، تقسیط نیتروژن اثر مثبتی بر میزان پروپین سوخ پیاز دارد و بیش‌ترین میزان پروپین در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن مشاهده شد. سایر سطوح نیتروژن تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند.

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸)، بیش‌ترین میزان ایزوآلین در تیمارهای مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با غلظت صفر و ۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده گردید. کم‌ترین میزان ایزوآلین در تیمار بدون کود نیتروژن همراه با ۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود. در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان ایزوآلین کاهش نشان داد (جدول ۸).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸)، بیش‌ترین میزان کربوکسی پروپیل گلوتاتیون در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده گردید و کم‌ترین میزان کربوکسی پروپیل گلوتاتیون در تیمار بدون کود نیتروژن همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم بود. با افزایش غلظت سلنیوم در هر سه سطح نیتروژن میزان کربوکسی پروپیل گلوتاتیون کاهش نشان داد (جدول ۸).

طبق نتیج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸) بیش‌ترین میزان میزان گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید در تیمار مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار مصرف

یک‌سوم در زمان کشت نشاء+یک‌سوم در زمان شروع سوخ‌دهی+یک‌سوم در زمان توسعه سوخ نیتروژن همراه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات‌سدیم نداشت. با توجه به نتایج اثر متقابل بین نیتروژن و سلنیوم (جدول ۸)، در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید کاهش یافت، هر چند اختلاف نامحسوسی بین سطوح مختلف سلنیوم بود.

شدت طعم و تندی پیاز از چند اسید آمینه‌ی غیر پروتئینی گوگردی منشا می‌گیرد. پیش ماده‌ی ترکیبات معطر در پیاز، آلکیل سیستئین سولفوکسایدها (ACSOs) هستند که از سیستئین سنتز و مشتق می‌شوند. وقتی بافت‌ها از هم گسیخته می‌شوند، آنزیم آلیناز موجود در واکوئل آزاد شده و پیش ماده‌های موجود در سیتوپلاسم را به اسید پیرویک، آمونیاک و اسیدهای سولفونیک ناپایدار تجزیه می‌کند (Coolong and Randle, 2003). محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند می‌تواند بر شدت و کیفیت طعم تأثیرگذار باشد. این فاکتورها که بر تجزیه آنزیمی پیش ماده‌های طعم مؤثراند شامل سولفات دردسترس، درجه حرارت رشد و میزان آبیاری است (Randle, 1997). پیش ماده‌های متین، ایزوالین و آلین در جنس آلیوم شناسایی شده‌اند. در هر گونه میزان و ترکیب پیش ماده‌ها متفاوت است مثلاً در پیاز ترکیب غالب متین و ایزوآلین است در حالی‌که در سیر ترکیب غالب آلین می‌باشد (Lee *et al.*, 2009). سلنیوم منجر به تغییراتی در میزان پیش ماده‌ها و واسطه‌های طعم سوخ پیاز گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان متین، ایزوآلین، ۲- کربوکسی پروپیل گلوتاتیون و گاما-گلوتامیل پروپنیل سیستئین سولفوکساید با افزایش غلظت سلنیوم کاهش یافتند که مطابق نتیجه به‌دست آمده توسط Kopsell and Randle (1999) است که این به‌دلیل افزایش جذب سلنیوم و شرکت آن در ساختار اسیدهای آمینه‌ی گوگردی مرتبط با طعم به‌جای سولفات است. با افزایش غلظت سلنیوم کاهش در میزان ۲- کربوکسی پروپیل گلوتاتیون و گاما-گلوتامیل پروپنیل سیستئین سولفوکساید انتظار می‌رود چراکه واسطه‌های سنتز متین و ایزوآلین هستند و کاهش در میزان گاما-گلوتامیل پروپنیل سیستئین سولفوکساید سبب کاهش میزان متین و ایزوآلین می‌شود. تأثیر سلنیوم بر مسیر بیوسنتز ترکیبات مرتبط با طعم، مشابه زمانی است که پیاز در شرایطی با سطوح کم سولفور رشد می‌کند (Lancaster and Boland, 1990). از آن‌جایی که پیاز توانایی انباشت میزان زیادی سلنیوم را دارد در نتیجه می‌تواند بر سنتز پیش ماده‌های گوگردی طعم و واسطه‌های پپتیدی تأثیرگذار باشد (Kopsell and Randle, 1999). کود نیتروژنه بر ویژگی‌های طعم چند سبزی تأثیرگذار بوده است. سولفید دی متیل (Dimethyl sulfide (DMS))، که از ویژگی مهم عطر در ذرت شیرین پخته شده است، در پاسخ به افزایش کود نیتروژن در چند هیبرید ذرت افزایش یافت (Wong *et al.*, 1995). دو ترکیب کپسایسین (Capsaicin) و دی‌هیدروکپسایسین (Dihydrocapsaicin) مسئول تندی در میوه فلفل هستند که تحت تأثیر تیمارهای نیتروژنه قرار می‌گیرند (Johnson and Decoteau, 1996). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مبنی بر اینکه سطوح مختلف نیتروژن بر میزان پیش ماده‌های طعم پیاز مؤثر بوده و منجر به افزایش آن‌ها می‌شود، مشابه نتایج به‌دست آمده توسط Kopsell and Randle (1997)، Randle (2000) و Coolong and Randle (2003) است. میزان پیش ماده‌های طعم پیاز با افزایش غلظت نیتروژن افزایش یافتند. نیتروژن با تأثیر بر میزان جذب سولفات می‌تواند بر میزان ترکیبات و پیش ماده‌های طعم تأثیرگذار باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، در هر سه سطح نیتروژن با افزایش غلظت سلنیوم میزان متین، ایزوآلین، کربوکسی پروپیل گلوتاتیون و گاماگلوتامیل ۱- پروپنیل سیستئین سولفوکساید کاهش نشان داد (جدول ۸)، البته میزان پیش ماده‌های سوخ پیاز بیشتر از تیمار شاهد بود. کاهش میزان ترکیبات مرتبط با طعم در سوخ پیاز با کاهش میزان اسیدهای آمینه قابل توجیه است (جدول ۶).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاربرد توأم سلنیوم و نیتروژن تأثیر مثبتی بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسیدهای آمینه و ترکیبات مرتبط با طعم پیاز داد. علاوه بر این زمان و تقسیط کود نیتروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی مورد مطالعه تأثیرگذار بود. بنابراین استفاده ی سه مرحله‌ای کود نیتروژن (مصرف یک‌سوم در زمان کشت نشاء+ یک‌سوم در زمان شروع سوخ دهی+ یک‌سوم در زمان توسعه سوخ) همراه با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم توصیه می‌شود. چراکه پیاز دارای ریشه‌های سطحی است و کاربرد سه مرحله‌ای کود نیتروژن مانع از آبشویی و از دسترس خارج شدن آن می‌گردد.

منابع

Avraham, T., H. Badani., S. Galili., and R. Amir. 2005. Enhanced levels of methionine and cysteine in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants over-expressing the Arabidopsis cystathionine γ -synthase gene. *Plant Biotechnology Journal* 3(1): 71–79.

Bergmeyer, H.U. 1970. Methods of enzymatic analysis. Akademie Verlag, Berlin, Germany, pp, 636-647.

Bystrická, J., P. Kavalcová., J. Musilová., J. Tomáš., T. Tóth., and M. Orsák. 2015 Selenium and its influence on the content of polyphenol compounds in onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 4(3): 23-26.

Coolong, T.W., and W.M. Randle. 2003. Ammonium nitrate fertility levels influence flavor development in hydroponically grown 'Granex 33' onion. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83(5): 477–482.

Drost, D., R. Koenig., and T. Tindall. 2002. Nitrogen use efficiency and onion yield increased with a polymer-coated nitrogen source. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 37(2): 338–342.

Farooq, M., A.H. Shah., and A.A. Malik. 2015. Nutrient management for improving onion productivity. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 15(2): 220-225.

Fouda, M.M.G., N.R. Abdelsalam., M.E. El-Naggar., A.F. Zaitoun., B.M.A. Salim., M. Bin-Jumah., Ahmed A.Allam., S.A. Abo-Marzoka., E.E. Kandil. 2020. Impact of high throughput green synthesized silver nanoparticles on agronomic traits of onion. *International Journal of Biological Macromolecules* 15(149): 1304-1317.

Ghaffor, A., M.S. Jilani., G. Khaliq., and K. Waseem. 2003. Effect of different NPK levels on the growth and yield of three onion (*Allium cepa* L.) varieties. *Asian Journal of Plant Sciences* 2(3): 324-346.

Groth, S., Ch. Budke., S, Neugart., S. Ackermann., F.S. Kappenstein., D, Daum., and S. Rohn. 2020. Influence of a selenium biofortification on antioxidant properties and phenolic compounds of apples (*Malus domestica*). *Antioxidants* 9(2): 187.

Gupta, P.k. 1999. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Published by Agrobios (INDIA).

Hajiboland, R., and N. Sadeghzadeh. 2015. Effect of selenium on CO_2 and NO_3^- assimilation under low and adequate nitrogen supply in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Photosynthetica* 52(4): 501-510.

Herzog, V., and H.D. Fahimi. 1973. A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3,3'-diaminobenzidine as hydrogen donor. *Analytical Biochemistry* 55(2): 554-562.

Hu, L., and G. Chen. 2007. Analysis of optical absorption in silicon nanowire arrays for photovoltaic applications. *Nano Letters* 7(11): 3249–3252.

Ježek**,** P**.**, J. Hlušek**.**, T. Lošák**.**, M. Jůzl**.**, P. Elzner**.**, S. Kráčmar**.**, F. Buňka**.**, and A. Martensson. 2011. Effect of foliar application of selenium on the content of se-lected amino acids in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Soil and Environment* 57(7): 315–320.

Klikocka, H., A, Kobiałka., B, Szostak., and B, Barczak. 2017. Effect of sulphur and nitrogen fertilization on the selenium content and uptake by grain of spring wheat. *Journal of Elementology* 22(3): 985-994.

Kopsell, D.A., and W.M. Randle. 1997. Short-day onion cultivars differ in bulb selenium and sulfur accumulation which can affect bulb pungency. *Euphytica* 96(3): 385–390.

Kopsell, D.A., and W.M. Randle. 1999. Selenium affects the S-alk (en) yl Cysteine sulfoxides among short-day onion cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124(3): 307–311.

Lancaster, J.E., and M.J. Boland. 1990. *Flavor Biochemistry*. p. 33–72.

Lara, T.S., J.H.L. Lessa., K.R.D. Souza., A.P.B. Corguinha., F.A.D. Martins., G. Lopesb., and L.R.G. Guilherme. 2019. Selenium biofortification of wheat grain *via* foliar application and its effect on plant metabolism. *Journal of Food Composition and Analysis* 81(28): 10-18.

Lee, E.J., S.K. Yoo, J. Jifon., and B.S. Patil. 2009. Characterization of shortday onion cultivars of 3 pungency levels with flavor precursor, free amino acid, sulfur, and sugar contents. *Journal of food science* 74(6): 475-480.

Lee, J., J.W. Finly., and J.M. Harnly. 2005. Effect of selenium fertilizer on free amino acid composition of broccoli (*Brassica oleracea* Cv. Majestic) determined by gas chromatography with flame ionization and mass selective detection". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(23): 9105-9111.

Lošák, T., J. Hlušek., R. Filipčík., L. Pospíšilová., J. Maňásek., K. Prokeš., F. Buňka., S. Kráčmar., A. Martensson., and F. Orosz.V. 2010. Effect of nitrogen fertilization on metabolisms of essential and non-essential amino acids in field-grown grain maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil and Environment* 56(12): 574–579.

Mobli, M., and L, Aslani. 2018. Research review on onion (*Allium cepa* L.) in Iran. *Strategic Research Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 3(2):153 -168 .

Motesharezadeh, B., S. Ghorbani., and H.A. Alikhani. 2020. The effect of selenium biofortification in alfalfa (*Medicago sativa*). *Journal of Plant Nutrition* 43(2): 240-250

Ncayiyana, M., M.M. Maboko., and I. Bertling. 2019. Nitrogen fertilizer on storage life of short-day onion. *International Journal of Vegetable Science* 25(4): 340-345.

Noura, M.T., and A.S.H. Nesreen. 2019. Effect of nitrogen fertilization and some foliar applications on growth, yield and quality of two garlic (*Allium sativum* L) cultivars. *Current Science International* 8(1): 212-220.

Ramos S.J., V. Faquin., L.R.G. Guilherme., E.M. Castro., F.W. Ávila., G.S. Carvalho., C.E.A. Bastos., and C. Oliveira. 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil and Environment* 56(12): 584-588.

Randle, W.M. 1997. *Onion Flavor Chemistry and Factors Influencing Flavor Intensity*". Chapter 5, pp: 41-52.

Randle, W.M. 2000. Increasing nitrogen concentration in hydroponic solutions affects onion flavor and bulb quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125(2): 254-259.

Rehman, M., Yang, M., Fahad, S., Saleem, M.H., Liu, L., Liu, F., and Deng, G. 2020. Morpho-physiological traits, antioxidant capacity, and nitrogen metabolism in ramie under nitrogen fertilizer. *Agronomy Journal*. https://doi.org/10.1002/agj2.20212.

Reis, H.P.G., J.P. de Queiroz Barcelos., J.E Furlani, E.F. Santos., V.M. Silva., M.F. Moraes., F.F. Putti, A.R. dos Reis. 2018. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. *Journal of Cereal Science* 79: 508-515.

Ríos, J.J., B. Blasco., L.M. Cervilla., M.A. Rosales., E. Sanchez-Rodriguez., L. Romero., and J.M. Ruiz. 2010. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(11): 1914–1919.

Santamaria, P. 2006. Review – nitrate in vegetables: toxicity content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 10-17.

Schiavon, M., S.D. Acqua., A. Mietto., E.A.H. Pilon-Smits., P. Sambo., A. Masi., and M. Malagoli. 2013. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(44): 10542−10554.

Shekari, L., Mozafarian, M., Kamelmanesh, M.M., and F, Sadeghi. 2017. Effect of selenium on some morphological and physiological properties of hot pepper (*Capsicum annum*) grown in hydroponic culture. *Plant Production Technology* 9(1): 91-98.

Sinkovič, L., M. Škof., and K. Ugrinović1. 2019. Effect of nitrogen fertilizer rates on physico-chemical characteristics of onion bulbs (*Allium cepa* L. var. *cepa*). *Agro-knowledge Journal* 20(3): 131-140.

Tapubi, Y., D.E. Schmidt., W. Lindner., and B.L. Karger. 1981. Dansylation of aminoacids for high-performance liquid chromatography analysis. *Analytical Biochemistry* 115(1): 123-129.

Veisialiakbari, F., Amerian, M., and M, Khoramivafa. 2020. Effect of different levels of nitrogen and selenium on efficiency of nitrogen intake and some morphphysiological characteristics of edible onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Vegetables Sciences* 3(6): 159-172.

Wichrowska, D., T. Wojdyła., S. Rolbiecki., R. Rolbiecki., P. Czop., B. Jagosz., and W. Ptach. 2017. Effect of nitrogen fertilisation on the marketable yield and nutritive value of onion. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 16(5): 125–133.

Xu, Z.C., S. Zhao., J.H. Jiao., H.f. Shao., and W.x. Huang. 2013. Effects of different selenium concentrations on invertase and nitrate reductase activities of flue-cured tobacco. *Journal of Food Agriculture and Environment* 11(3): 964-967.

Yassen, A., A. Safia., M. Adam Sahar., and M. Zaghloul. 2011. Impact of nitrogen fertilizer and foliar spray of selenium on growth, yield and chemical Constituents of potato plants. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(11): 1296-1303.

Yung, Y.H., and Ng, L.T. 2019. Effects of nitrogen fertilization rate on tocopherols, tocotrienols and γ-oryzanol contents and enzymatic antioxidant activities in rice grains. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 25: 189–195.