

Investigation of Allicin and Flavonoid Variations and Selenium Daily Uptake in Garlic (*Allium Sativum L.*) By Selenium Fertilizer Treatments and Mycorrhizal Inoculation

ALI CHAMANNEJADIAN¹, MOHAMMAD FEIZIAN^{1*}, OMIDALI AKBARPOUR²

1. Department of Soil Science Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram Abad, Iran.
2. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

(Received: Dec. 6, 2019- Revised: March. 16, 2020- Accepted: March. 17, 2020)

ABSTRACT

Today, numerous studies are being done to replace chemicals with natural substances in order to reduce synthetic compounds in food. Garlic (*Allium sativum L.*) is an important bulb vegetable because of its high concentration of allicin, flavonoids and selenium accumulation. This research was carried out to investigate the effects of two levels of mycorrhiza (inoculation and non-inoculated), three levels of selenium (0 as control, 100 and 200 mg/l) on two ecotypes (Ramhormoz and Dezful) in terms of flavonoid, allicin, daily intake of selenium and yield of garlic. The experiment was performed as factorial in the form of completely randomized design. The highest values of flavonoid (27.618 mg/g) and Allicin (5.17 mg/g) were observed in Dezful ecotype and the highest daily selenium uptake (11.08 mg/kg) was observed in Ramhormez ecotype. Mycorrhizal inoculation was significantly and positively correlated with flavonoid and garlic yield at 1% level and with allicin at 5% level, but it was reversed with daily selenium uptake (EDI) at 5 % level. Also, application of selenium fertilizer showed a positive and significant correlation with increasing daily selenium uptake and flavonoids in garlic Bulbs at 1 and 5% levels, respectively. But, it has inverse correlation with allicin content at 1 % level. Dezful ecotype had a better performance in terms of garlic weight and garlic cloves weight and there was a significant difference between two ecotypes at 1 % level. Finally, due to different effects of the treatments, if the purpose is to produce garlic enriched with Se, flavonoid or allicin, a decrease in some nutritional values and a change in ecotype must be accepted.

Keywords: Garlic, Allicin, Flavonoid, Selenium, Mycorrhizal.

بررسی تغییرات آلیسین و فلاونوئید و جذب روزانه سلنیوم در گیاه سیر (*Allium sativum L.*) تحت تأثیر تیمارهای کود سلنیومی و تلقیح میکوریزایی

علی چمن نژادیان^۱، محمد فیضیان^{۱*}، امیدعلی اکبرپور^۲

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۵ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۱۲/۲۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱۲/۲۷)

چکیده

امروزه تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با مواد طبیعی در راستای کاهش ترکیبات سنتزی در مواد غذایی انجام می‌شود. گیاه سیر به علت داشتن ترکیبات آلیسین، فلاونوئید و قابلیت انباشت سلنیوم، در صنعت غذا و دارو اهمیت زیادی دارد. در این تحقیق با اعمال تیمارهای کود سلنیوم در سه سطح صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تلقیح مایکوریزا آریکسولار در دو سطح بر روی دو اکوتیپ سیر (رامهرمز و دزفول) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی به بررسی تغییر ترکیبات مؤثر و عملکرد سیر پرداخته شد. بیشترین مقادیر فلاونوئید (۲۷/۶۱۸ میلی‌گرم بر گرم) و آلیسین (۵/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در اکوتیپ دزفول و بیشترین مقدار جذب روزانه سلنیوم (۱۱/۰۸ میکروگرم بر کیلوگرم در روز) در اکوتیپ رامهرمز مشاهده شد. همزیستی میکوریزا همبستگی مثبت و معنی‌دار با فلاونوئید و وزن پیاز سیر در سطح یک درصد و با آلیسین در سطح پنج درصد به دست آمد. اما با جذب روزانه در سطح پنج درصد عکس شد و همچنین کاربرد کود سلنیوم با افزایش جذب روزانه سلنیوم و فلاونوئید موجود در پیاز سیر به ترتیب در سطح یک درصد و پنج درصد معنی‌دار شد و با مقدار آلیسین همبستگی منفی در سطح یک درصد دارد. اکوتیپ دزفول عملکرد بهتری به لحاظ افزایش عملکرد سیر داشت و اختلاف دو اکوتیپ نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج متفاوت اعمال تیمارها، اگر هدف تولید سیری غنی از هر یک ترکیبات سلنیوم، فلاونوئید و آلیسین باشد، کاهش برخی از ارزش‌های غذایی و تغییر نوع اکوتیپ اجتناب‌ناپذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سیر، آلیسین، فلاونوئید، سلنیوم، میکوریزا.

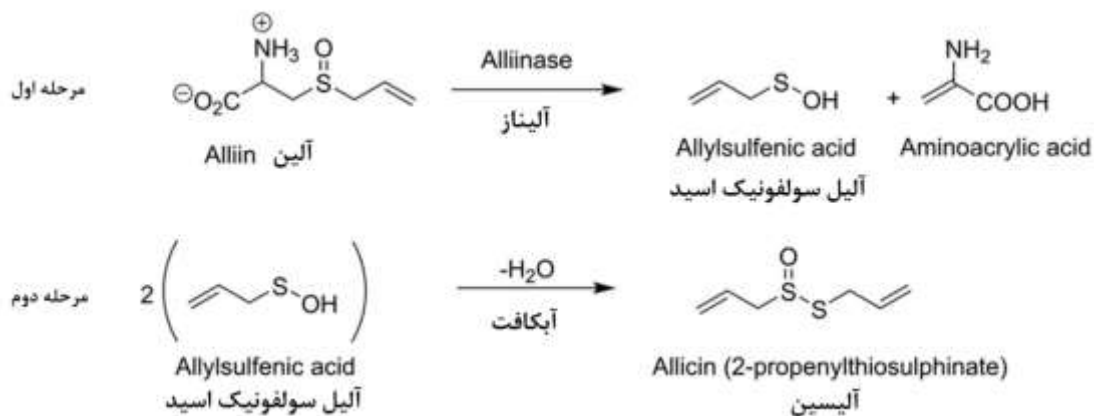
مقدمه

در ایران حدود ۹۵۸۰ هکتار و عملکرد آن ۹/۶ تن در هکتار است. سیر گیاهی علفی، دائمی و بعد از پیاز دومین و پرمصرف‌ترین گیاه از جنس خانواده آلیوم است (Baghalian *et al.*, 2005) و به دلیل ویژگی‌های درمانی و دارویی همچون کاهش فشار خون، کاهش کلسترل خون، کاهش تجمع آنتی پلاکت‌ها، فعالیت‌های ضد التهابی و فعالیت ضد قارچ، ضد باکتری، ضد ویروسی، آنتی اکسیدان و ضد سرطان در سطح جهان به خوبی شناخته شده است (Lawrence and Lawrence, 2011). اغلب این خواص دارویی را به وجود ترکیب گوگردی به نام آلیسین که مهم‌ترین ترکیب گوگردی و آنتی باکتریالی شناخته‌شده درون گیاه سیر می‌باشد، نسبت می‌دهند (Wallock-Richards *et al.*, 2014).

وقتی سیرچه‌ها خورد یا له می‌شوند، به سلول‌های گیاهی آن‌ها آسیب وارد می‌شود که در این زمان آنزیم آلییناز از واکنش به درون سیتوپلاسم سلول آزاد می‌شود و با تأثیر بر آلین (S-

در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی جهت جایگزینی مواد شیمیایی انجام گرفته است (Pokorný, 2007). یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی ترکیبات گوگردی و آنتی اکسیدان خانواده آلیوم می‌باشد (Marrelli *et al.*, 2019). آلیوم‌ها مانند پیاز، سیر و موسیر به دلیل مصرف زیاد در زنجیره غذایی انسان در سطح جهان به خوبی شناخته شده هستند و علاوه بر تنوع استفاده از گیاهان این خانواده در تغذیه، ادویه‌ها و طعم دهنده‌ها، از دیرباز نیز به عنوان گیاه دارویی شناخته می‌شدند، در ایران نیز به لحاظ شرایط جغرافیایی و اقلیمی ظرفیت بالایی برای توسعه اعضای این خانواده وجود دارد. سیر (*Allium sativum L.*) یکی از گیاهان مهم و پرکاربرد این خانواده می‌باشد (Suleria *et al.*, 2015) که سطح زیر کشت آن

روی تأثیر تیمارهای سلنیومی بر محتوای ترکیبات گوگردی گیاهان پرداختند داشتند، دریافتند که کاربرد سلنیوم باعث کاهش ترکیبات گوگردی گیاهان می‌شود (Poldma *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 1998). (Poldma *et al.*, 2011) که تحقیق خود را به‌طور خاص بر روی گیاه سیر انجام داده بودند دلیل این تأثیر منفی را جایگزینی سلنیوم به جای گوگرد در ترکیبات گوگردی گیاه سیر عنوان کردند.



شکل ۱- ساختار شیمیایی آلیسین و تشکیل آن طی دو مرحله از آلین. در مرحله اول آلین توسط آنزیم آلیناز، فرآیند هیدرولیز به آلیل سولفونیک اسید تبدیل می‌شود و در مرحله دو با از دست دادن آب، خود به خود متراکم شده و آلیسین به دست می‌آید.

است، در تحقیقی دانشمندان دریافتند با محلول پاشی سلنیوم مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه فلاونوئید در آفتابگردان افزایش می‌یابد (Jessie *et al.*, 2018). در مطالعه‌ی دیگر تأثیر همزیستی قارچ میکوریزا بر افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف پیاز (*Allium cepa* L.) به اثبات رسیده است (Mollavali *et al.*, 2015).

سلنیوم^۲ (Se) یک ماده معدنی کم مقدار^۳ می‌باشد که برای گیاهان عنصری غیرضروری محسوب می‌شود و نقش آن در گیاه به درستی مشخص نشده است اما برای انسان‌ها و حیوانات عنصر ریزمغذی ضروری شناخته شده است (White, 2016). تحقیقات نشان داده که سلنیوم باعث کاهش رشد تومور در محیط آزمایشگاهی می‌شود و باعث حفاظت بدن انسان در برابر برخی سرطان‌های خاص می‌شود و بر اساس پیشنهاد سازمان بهداشت جهانی^۴ (WHO) یک فرد بالغ برای حفظ سلامتی خود نیازمند دریافت روزانه ۵۰ میکروگرم سلنیوم است (Cuderman *et al.*, 2008). مصرف ناکافی سلنیوم (کمتر از ۱۱ میکروگرم در روز) منجر به مشکلات کمبود این عنصر می‌شود و همچنین مصرف زیاد از حد (۳۲۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در روز) می‌تواند واکنش‌های

allyl-L-cysteine sulfoxide ترکیب آلیسین (diallylthiosulfinate) را تولید می‌کند (شکل ۱). بر اساس فارماکوپه‌های معتبر، حداقل میزان آلیسین جهت تضمین کیفیت دارویی و اقتصادی سیر، ۴/۵ میلی‌گرم بر گرم توصیه شده است (Suleria *et al.*, 2015) و از سوی دیگر به ازای مصرف هر ۱۰ گرم حبه‌های پیاز سیر تقریباً ۵ میلی‌گرم آلیسین رها می‌شود (Slusarenko *et al.*, 2008). در تحقیقاتی که برخی محققین بر

سیر علاوه بر ترکیبات گوگردی حاوی مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان‌های قدرتمند نیز می‌باشد که از اهمیت بسیار بالای در صنایع داروسازی برخوردار است (Benkeblia, 2005). خاصیت آنتی‌اکسیدانی سیر را به ترکیبات فنلی به خصوص فلاونوئیدها موجود در آن نسبت می‌دهند (Ghasemi *et al.*, 2014). که نقش مهمی در افزایش سلامتی و مقاومت بدن انسان در برابر استرس‌های اکسیداتیو^۱ دارند (Pizzino *et al.*, 2017). این ترکیبات هر چند که ترکیباتی مغذی نیستند ولی تأثیر مثبتی بر حفظ سلامتی بدن دارند؛ به طوری که در یک فرد سالم باید میان تولید رادیکال آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی توازن برقرار باشد و عدم تعادل در میزان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، تنش اکسیداتیو خوانده می‌شود (Halliwell and Gutteridge, 1990).

فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی و رابنده‌های رادیکال آزاد می‌توانند به‌عنوان دهنده‌های هیدروژن، عوامل کاهنده، کلات کننده‌های فلزی و خاموش‌کننده‌های اکسیژن منفرد عمل کنند (Huyut *et al.*, 2017). عوامل مختلفی بر مقدار این ترکیبات در گیاه تأثیرگذار

3. Trace mineral
4. World Health Organization

1. Oxidative Stress
2. Selenium

سمیت را موجب شود (Reid et al., 2004).

مقادیر مجاز مصرف روزانه سلینیوم برای دامنه سنی مختلف در جدول (۱) آورده شده است. کمبود سلینیوم به طور مستقیم روی سلامت انسان تأثیر گذاشته و بیش از ۴۰ نوع بیماری مرتبط با کمبود این عنصر مانند، بیماری کشان^۱، سرطان‌های بیماری‌های قلبی عروقی، کبدی و آب مروارید گزارش شده است (Gupta and Gupta, 2017). منبع اصلی تأمین این عنصر ضروری برای انسان و حیوانات گیاهان می‌باشند (Feng et al., 2013). سیر از گیاهان فوق انباشتگر^۲ سلینیوم است و در صورتی که محیط کشت این گیاه دارای سلینیوم به مقدار کافی باشد، می‌توان انتظار به دست آوردن سیر غنی شده از سلینیوم را داشت (White et al., 2004). در تحقیقی دیگر مشخص شد که محلول‌پاشی گیاه سیر با سلینیوم موجب افزایش تعداد حبه‌های بزرگ و همچنین افزایش

ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های سیر می‌شود و همچنین محلول سلینیوم باعث افزایش آمینواسیدهای سلینیومی در گیاه سیر می‌شود (Poldma et al., 2011). در مطالعه دیگر محققان با بررسی تأثیر کاربرد همزمان هیومیک اسید و سلینیوم بر گیاه سیر دریافتند کاربرد کمترین سطح سلینیوم باعث بیشترین سطح گوگرد و آلئسین در گیاه سیر شد (Ghasemi et al., 2014). Golubkina et al. (2019) در تحقیقی به بررسی برهمکنش سلینیوم و میکوریزا در افزایش عملکرد گیاه موسیر که همانند سیر از خانواده آلیوم است، پرداختند و اظهار داشتند که با افزایش جذب سلینیوم، فعالیت و همزیستی قارچ میکوریزا بیشتر شده و با توجه به رابطه آنتاگونیسمی میان گوگرد و سلینیوم می‌توان دلیل کاهش مقدار ترکیبات گوگردی (آلئسین) در این شرایط را به جذب زیاد سلینیوم نسبت داد.

جدول ۱ - حد مجاز و بالاترین سطح قابل تحمل سلینیوم در گروه سنی متفاوت

گروه سنی	حد مجاز توصیه شده (میکروگرم در روز)	بالاترین سطح قابل تحمل (میکروگرم در روز)
۱-۳	۲۰	۹۰
۴-۸	۳۰	۱۵۰
۹-۱۴	۴۰	۲۸۰
> ۱۴	۵۵	۴۰۰
زنان باردار	۶۰	۴۰۰
زنان شیرده	۷۰	۴۰۰

با توجه به اینکه مقدار سلینیوم، آلئسین و ترکیبات فنلی موجود در سیر تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی همچون عوامل اکولوژی و زراعی می‌باشد، در تحقیق حاضر فرض بر این است که سلینیوم به عنوان یک پارامتر مؤثر بر روی ترکیبات گوگردی، آنتی‌اکسیدان و همچنین قارچ میکوریزا به عنوان یک عامل اصلاح‌کننده خاک می‌توانند تأثیرات مثبت بر آلئسین و فلاونوئید موجود در سیر داشته باشند، بنابراین در این مطالعه به بررسی اثرات سلینیوم و قارچ میکوریزا آربکسولار به عنوان دو تیمار مهم برای افزایش کیفیت و کمیت دو اکوتیپ سیر که سطح بالایی از کشت را در منطقه به خود اختصاص داده‌اند، پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

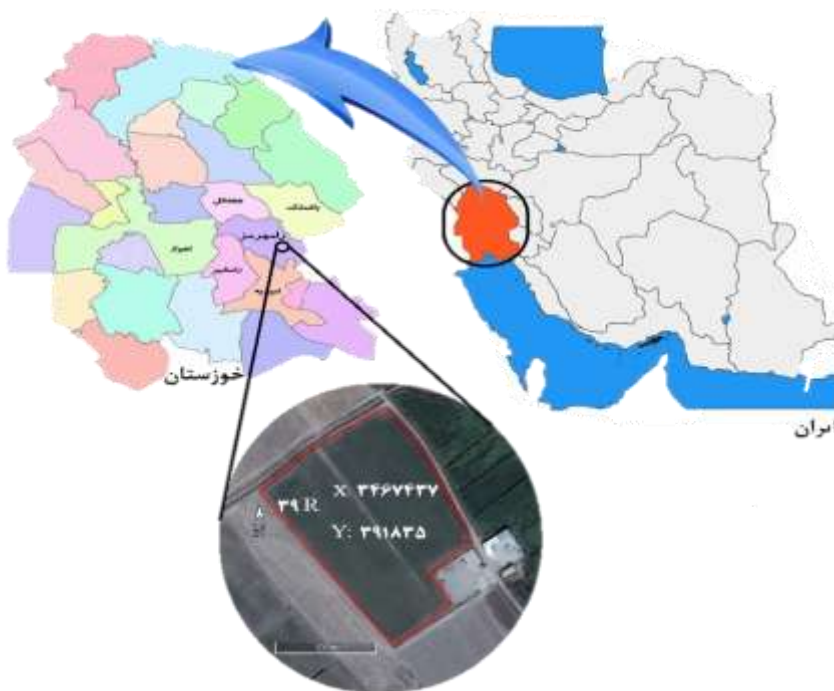
منطقه اجرای طرح

این تحقیق در شرایط مزرعه در استان خوزستان و در شهرستان رامهرمز با مختصات جغرافیایی زون ۳۹ ۳۶۶۷۳۴۷ X:

۳۹۱۸۳۵ Y: طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد (شکل ۲). شهرستان رامهرمز دارای میانگین ارتفاع ۱۷۹ متر از سطح دریا و دارای آب هوای مرطوب و معتدل می‌باشد. میانگین دمای سالانه ۲۲ درجه سانتی‌گراد، بارش سالانه آن به مقدار ۳۴۸/۹ میلی‌متر و میزان رطوبت نسبی سالانه ۴۱/۸ درصد است. درجه حرارت آن در طی سال از ۲- درجه تا ۴۹ درجه سانتی‌گراد در نوسان است. بارندگی‌ها عمدتاً در فصل پاییز و زمستان رخ می‌دهد. قبل از انجام عملیات آماده‌سازی زمین و اجرای نقشه آزمایش، به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی از عمق ۰-۲۵ سانتی-متری خاک مزرعه نمونه‌برداری به صورت تصادفی صورت گرفت و جهت آماده‌سازی زمین کودهای ازت، فسفات و پتاسیم به ترتیب به میزان ۲۰۰، ۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان کود پایه استفاده شد که با توجه به نیاز زیاد گیاه سیر به گوگرد این کودها به صورت ترکیبات سولفات به خاک داده شد. نتیجه تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول (۲) نشان داده شده است.

انجام شد و با توجه به نیاز آبی گیاه و البته بارندگی‌های صورت گرفته، پنج دور آبیاری نیز صورت گرفت که جهت مدیریت آب از بندهای پلاستیکی در وسط جوی و پشته‌ها استفاده شد. جهت اعمال تیمار سلنیوم در دی‌ماه وقتی گیاه به شش برگگی رسید، محلول‌پاشی به‌صورت دستی و به‌طوری که تمام گیاه مرطوب شود، به‌وسیله محلول حاصل از سلنات پتاسیم (K_2SeO_4) صورت گرفت.

کاشت بذر در تاریخ ۴ مهرماه ۱۳۹۶ بافاصله ۱۵ سانتی‌متر در ردیف و فاصله ۲۵ تا ۳۰ سانتی‌متر بین ردیف‌های کشت انجام شد. مایه تلقیح میکوریزا که به صورت اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و ریشه) بود از ریشه‌های شبدر همزیست با قارچ گلوموس اسر تهیه شد. در هر گرم از ماده تلقیح حدود ۳۰ اسپور قارچ وجود داشت. ماده تلقیح قارچ، به میزان ۱۰ گرم در دو سانتی‌متر پایین‌تر از بذر در خاک قرار گرفت. در طی فصل رشد عملیات داشت شامل تنک کردن و وجین علف‌های هرز



شکل ۲- محل اجرای پروژه در استان خوزستان شهرستان رامهرمز

جدول ۲- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

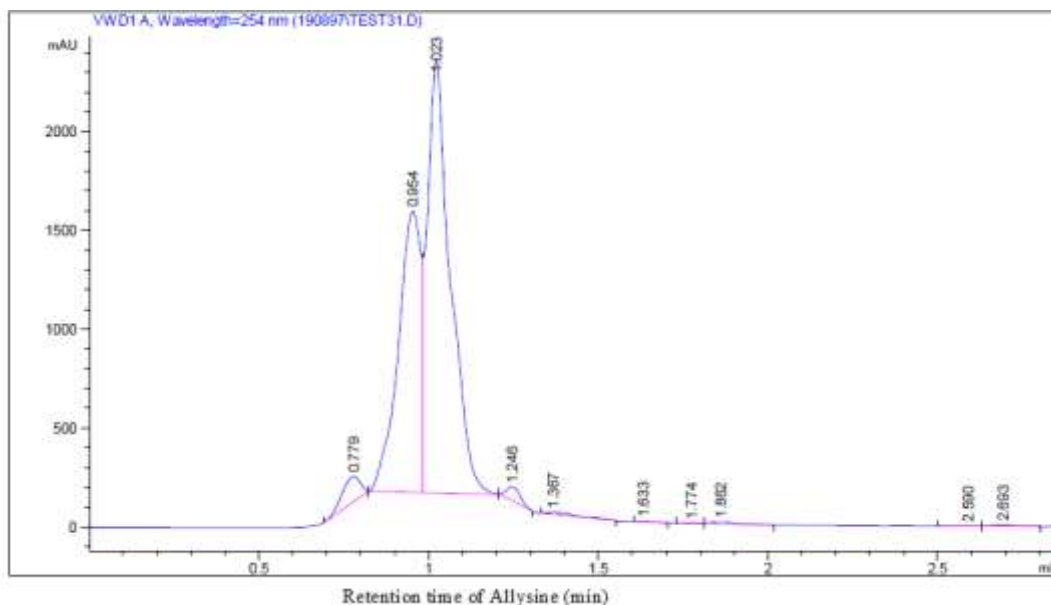
S	Zn	Cu	Mn	Fe	K	P	T.N.V	pH	N	OC	Clay	Silt	Sand
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	-	%	%	%	%	%
kg-1	kg-1	kg-1	kg-1	kg-1	kg-1	kg-1							
۲/۱۲	۰/۹۵	۰/۷	۲/۲۳	۳/۴۵	۶۰۶/۸	۱۸/۴۳	۱۲/۲	۸/۴	۰/۲۶	۱/۲۳	۳۴/۲	۳۹/۶	۲۶/۲

دامنه غلظتی ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دستگاه تزریق شد و منحنی کالیبراسیون استاندارد برای این محلول‌ها رسم شد. در پایان غلظت آلپسین در نمونه‌های سیر مجهول با استفاده از منحنی کالیبراسیون استاندارد تخمین زده شد. برای استخراج آلپسین از دستگاه HPLC مدل Agilent 1260 Infinity استفاده شد. فاز متحرک آن ترکیبی از ۵۰ درصد متانول و ۵۰ درصد آب با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه بود. قرائت دستگاه در طول موج ۲۵۴ نانومتر و در درمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با سه بار تزریق ۲۰ میکرولیتر انجام شد (Arzanlou and Bahloo, 2010). کروماتوگرام HPLC-UV به دست آمده از یکی از تیمارها

اندازه‌گیری آلپسین

ابتدا هر نمونه سیر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شد. سپس نمونه‌های خشک‌شده سیر با آسیاب پودر گردید. حدود نیم گرم سیر پودر شده با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط حلال (متانول: آب) عصاره‌گیری شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سونیک شد و سپس با استفاده از سانتریفیوژ، محلول رویی از رسوبات جدا شد. در پایان به دلیل غلظت بالای نمونه‌ها، همه نمونه‌ها تا شش برابر رقیق شدند و سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه به دستگاه تزریق شد. قبل از آنالیز نمونه‌ها، محلول استاندارد در

جهت اندازه‌گیری آلپسین در شکل (۳) مشاهده می‌شود.



شکل ۳- کروماتوگرام HPLC-UV از عصاره استخراجی از سیر جهت اندازه‌گیری آلپسین

بررسی جذب روزانه سلنیوم

میزان جذب روزانه فلزات از چرخه غذایی تحت تأثیر پارامترهایی همچون میزان فلز موجود در غذای مصرفی، مقدار مصرف ماده غذایی در بر گیرنده فلز مورد نظر و وزن متوسط افراد جامعه مورد مطالعه بستگی دارد. لذا برآورد جذب روزانه سلنیوم^۱ (EDI) در مطالعه حاضر به شرح زیر محاسبه شد:

$$EDI = \frac{C \times Cons}{Bw}$$

پارامتر C در این فرمول غلظت سلنیوم اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف سیر می‌باشد و Cons مقدار سرانه مصرف روزانه سیر می‌باشد که بر اساس آمار غیررسمی سازمان غذا و داروی ایران و بررسی میدانی محققین هم تحقیق حدوداً ۱۰ گرم در روز می‌باشد و در نهایت Bw وزن متوسط جوامع مورد مطالعه می‌باشد که به طور میانگین ۶۰ کیلوگرم در نظر گرفته شده است (Chamannejadian *et al.*, 2013).

تحلیل آماری

این تحقیق در قالب فاکتوریل و بلوک‌های کامل تصادفی طراحی و اجرا شد و جهت بررسی آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد تجزیه قرار گرفت و بررسی همبستگی با آزمون پیرسون^۲ در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد صورت پذیرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید

جهت اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به نیم لیتر از عصاره اضافه شد. به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شده و سپس در طول موج ۴۱۵ نانومتر، مقدار جذب مخلوط قرائت شد. در این آزمایش کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد و سپس میزان کل فلاونوئید بر اساس میزان معادل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) ثبت شد (Braca *et al.*, 2002).

اندازه‌گیری سلنیوم

نمونه‌های سیر در سه بار تکرار با آب شسته شد و سپس با فریز درایر خشک و کاملاً پودر و هموژن شدند. سپس ۰/۳ گرم از نمونه‌ها در ظرف PTFE قرار گرفت و به آن ۵ میلی‌لیتر HNO₃ اضافه شد. سپس درب تیوب را بسته و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه بر روی حمام شن حرارت داده شد. در ادامه ۵ میلی‌لیتر از مخلوط ۱:۴ HNO₃ و HClO₄ به نمونه اضافه شد و حرارت دادن روی حمام شن زیر انکیباتور به مدت ۳ ساعت تا هضم کامل ادامه پیدا کرد. در نهایت میزان سلنیوم توسط دستگاه جذب اتمی مدل (Agilent technologies 200 series AA) قرائت شد (Juana *et al.*, 1994).

نتایج و بحث

میزان آلپسین موجود در سیر

همان گونه که در جدول (۴) مشاهده می‌شود، میزان آلپسین موجود به‌طور معنی‌دار در سطح ($p > 0/01$) با میزان کاربرد کود سلیوم دارای رابطه عکس می‌باشد و رابطه مستقیم و معنی‌دار در سطح ($p > 0/05$) با اعمال تلقیح میکوریزا دارد. دامنه تغییرات این ترکیب گوگردی بین ۲/۴۷۱ تا ۵/۳۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اکوتیپ رامهرمز و ۱/۱۹۷ تا ۴/۸۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اکوتیپ دزفول می‌باشد که میزان بیشتر در هر دو اکوتیپ متعلق به تیمار دارای تلقیح میکوریزا و فاقد سلیوم بود (شکل‌های ۴ و ۵). مقادیر بیشینه از حد توصیه‌شده و استاندارد سازمان بهداشت جهانی (۴/۵ میلی‌گرم بر گرم) بیشتر است. کمترین مقدار نیز برای هر دو اکوتیپ در تیمار فاقد تلقیح میکوریزا و با سطح سلیوم ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۳). (Poldma et al., 2011) بیان کردند که محلول‌پاشی گیاه سیر با سلیوم موجب کاهش غلظت گوگرد گیاه می‌شود. کاهش میزان گوگرد سیر در تیمارهای سلیوم نشان می‌دهد که عنصر سلیوم می‌تواند جایگزین گوگرد در متابولیسم گیاه شود (Poldma et al., 2011). جایگزینی آمینواسیدهای سولفوری توسط آمینواسیدهای سلیومی مانند سلنومتیونین و سلنوسیتین می‌تواند واکنش‌های شیمیایی را مختل کند (Spallholz and Hoffman, 2002). گیاهانی که مقاومت بالایی نسبت به تجمع سلیوم دارند، می‌توانند سلیوم را در ترکیب آمینواسیدها غیرپروتئینی وارد کنند (Whanger, 2002). طبق اظهار (Hlusek et al., 2002) سیر بالاترین نیاز به گوگرد را در بین گیاهان پیازی دارد. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که کاهش میزان گوگرد گیاه بر اثر افزایش سلیوم می‌تواند اثر منفی بر رشد گیاه و ترکیبات مؤثر گوگردی سیر مانند آلپسین داشته باشد. هرچند به نظر می‌رسد این اثر منفی در غلظت‌های بیش از اندازه سلیوم و به دلیل اختلال در کار آمینواسیدهای گوگرددار (سیستین و متیونین) حاصل شود. با این وجود محققان هیچ اثر منفی در اندازه سیرهای محلول‌پاشی شده با سلیوم گزارش نکردند (Poldma et al., 2011).

میزان فلاونوئید موجود در سیر

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده (جدول ۳) مشخص شد دامنه تغییرات میزان فلاونوئید در اکوتیپ‌های مختلف متفاوت است. در اکوتیپ رامهرمز حداقل و حداکثر فلاونوئید به ترتیب ۲۱/۷۱۳ و

۲۶/۸۵۰ و در اکوتیپ دزفول به ترتیب ۲۰/۳۸۴ و ۲۷/۶۱۸ میلی‌گرم در گرم است. البته این تغییرات مقادیر بر اساس عامل اکوتیپ معنی‌دار نیست. در هر دو اکوتیپ کمترین مقدار فلاونوئید در تیمار سلیوم صفر میلی‌گرم در لیتر و فاقد میکوریزا (شاهد) اتفاق افتاد و بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار دارای میکوریزا و سلیوم ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل‌های ۴ و ۵). این نتایج با تحقیق (Conversa et al., 2019) که به بررسی تأثیر اسپری سلیوم و همزیستی میکوریزا بر مقدار سلیوم و آنتی-اکسیدان‌های موجود در مارچوبه سبز (*Asparagus officinalis* L.) پرداختند، شباهت دارد. نتایج نشان‌دهنده تأثیر عوامل مدیریت زراعی بر فلاونوئید موجود پیاز است؛ به طوری که میزان کاربرد کود سلیوم به طور معنی‌دار و در سطح ($p > 0/05$) درصد بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیق صورت گرفته دیگر که تأثیر کود سلیوم و مواد هیومیک اسید را بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های موجود در سیر مورد بررسی قرار دادند، نیز شباهت دارد (Ghasemi et al., 2014). در تحقیق دیگری (Golubkina et al., 2019) در بررسی تأثیر سلیوم بیوفورتیزه^۱ و تلقیح میکروارگانسیم‌های مفید بر عملکرد، کیفیت و خاصیت آنتی‌اکسیدانی پیاز موسیر پی بردند که سلیوم تأثیر بر افزایش فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارد. میزان فلاونوئید موجود در سیر با همزیستی میکوریزا به‌طور معنی‌دار در سطح یک درصد ($p > 0/01$) رابطه مستقیم دارد (جدول ۴). مطالعات مختلف نیز نشان می‌دهد که در نتیجه همزیستی میکوریزا، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد که البته این مقدار افزایش بستگی به نوع همزیستی، قارچ و گیاه میزبان می‌تواند متفاوت باشد (Evelin et al., 2009). (Zhan et al., 2018) گزارش کردند که همزیستی قارچ میکوریزا آربکسولار با گیاه ذرت باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه و در نتیجه مقاومت آن به آلودگی عناصر سنگین شده است. همچنین همزیستی میکوریزا آربکسولار باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه آویشن باغی شد که دلیل این امر، افزایش تجمع ترکیبات فنلی (فنل‌های کل و فلاونوئیدها) همراه با تحریک فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز عنوان شده است (Zayova et al., 2018).

میزان سلیوم موجود در سیر

با توجه به اهمیت سلیوم در چرخه غذایی و تأثیر آن در سلامتی انسان به بررسی تغییرات آن در سیر و عوامل تأثیرگذار بر آن پرداخته و مشخص شد که در اکوتیپ رامهرمز حداقل و حداکثر

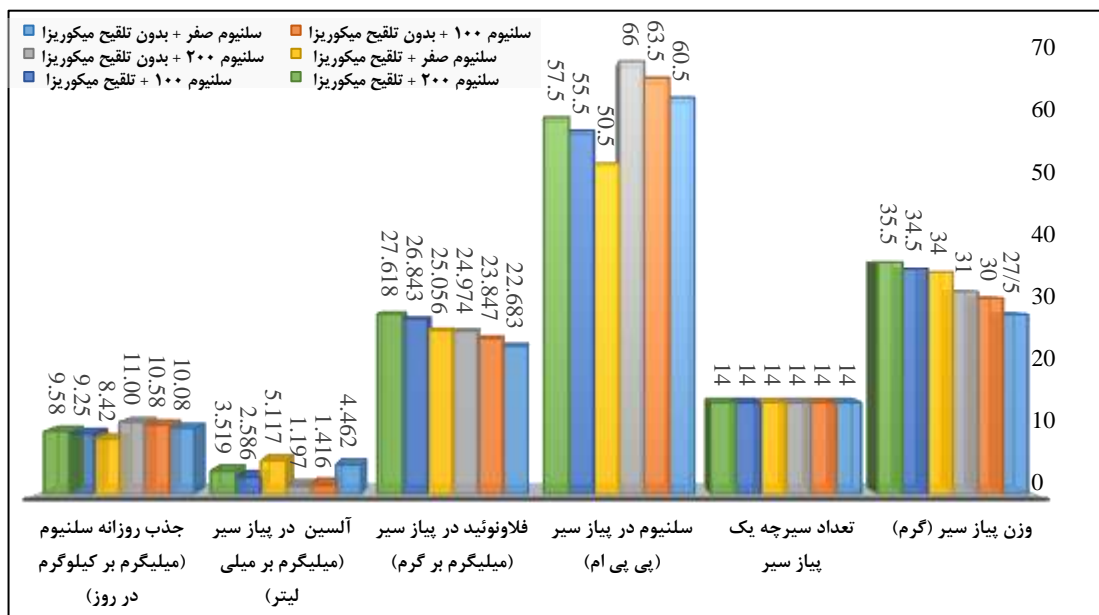
(سرانه مصرف روزانه سیر در ایران) از آن، حداقل سلیوم توصیه شده برای جذب روزانه تأمین می‌شود (۱۱ میکروگرم در روز) و برای کفایت در جذب سلیوم در تیمارهای دیگر حتماً در کنار مصرف سیر باید مکمل‌های غذایی حاوی سلیوم نیز استفاده شود.

بررسی عملکرد گیاه سیر

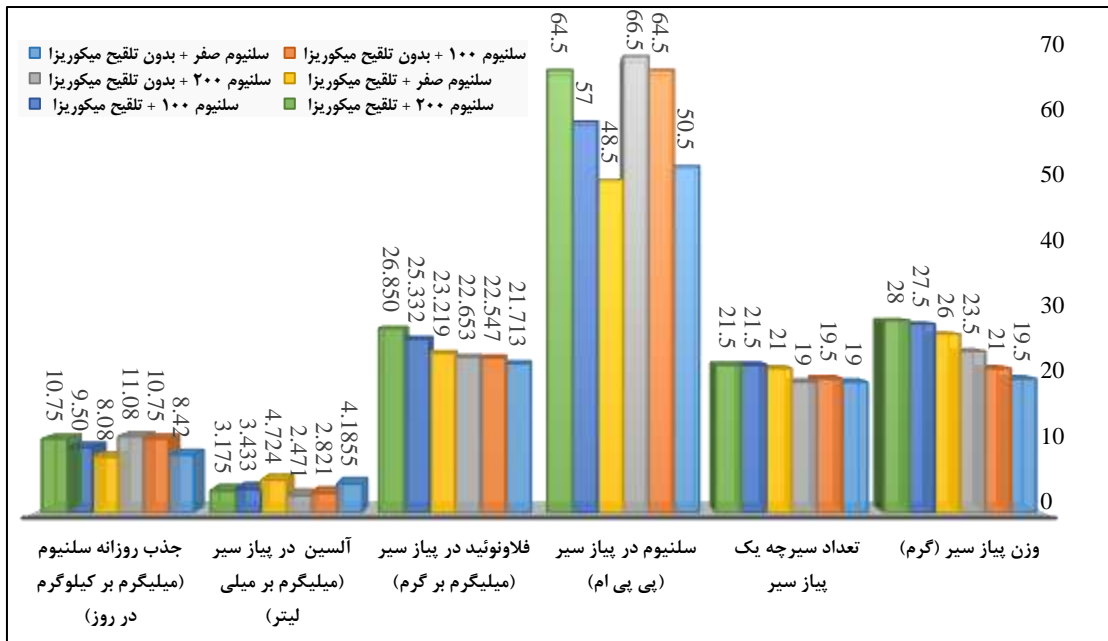
با توجه به نتایج به دست آمده (جدول ۴) مشخص شد که وزن پیاز سیر، تعداد سیرچه‌ها (به جز اکوتیپ دزفول) و متوسط وزن سیرچه‌ها تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده تغییر می‌کنند؛ به طوری که وزن پیاز سیر همبستگی مستقیم و معنی‌دار در سطح پنج (p > ۰/۰۵) با تلقیح میکوریزا دارد. مطالعات بسیاری بر تأثیر مثبت همزیستی میکوریزا در افزایش خصوصیات فیزیکی و شیمیایی گیاهان گزارش شده است (Zayova, et al., 2018, Zhan, et al., 2018, Varma, et al., 2012, and Evelin, et al., 2009). اعمال تیمار کود سلیوم همبستگی مستقیم با وزن پیاز سیر، تعداد سیرچه و وزن متوسط یک سیرچه داشت اما این ارتباط در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار نشد. نقش اکوتیپ در افزایش وزن پیاز سیر و همبستگی آن با این پارامتر در سطح یک درصد (p > ۰/۰۱) معنی‌دار شد که دلیل آن نیز اختلاف وزن ژنتیکی بیشتر اکوتیپ دزفول نسبت به اکوتیپ رامهرمز می‌باشد. نکته‌ای که در خصوص اکوتیپ دزفول باید اشاره شود، عدم تغییر تعداد سیرچه‌ها در تیمارهای مختلف است که با توجه به بررسی وزن متوسط سیرچه‌ها، تأثیر تیمارها در این اکوتیپ نیز مشخص شد و دامنه تغییرات وزن متوسط سیرچه‌ها بین ۲/۱۴ تا ۲/۵۴ گرم بدست آمد (جدول ۳).

سلیوم به ترتیب ۴۸/۵ و ۶۶/۵ و در اکوتیپ دزفول به ترتیب ۵۰/۵ و ۶۶ میکروگرم بر گرم است (جدول ۳). White (2016) تجمع سلیوم در گیاهان را بررسی کرد و تأیید نمود در اکوتیپ-های مختلف مقادیر انباشت می‌تواند متفاوت باشد. همچنین مطابق جدول (۴) کاربرد کود سلیوم به طور معنی‌دار و در سطح یک درصد (p > ۰/۰۱) بر میزان سلیوم موجود در سیر تأثیر مستقیم دارد و میکوریزا به‌طور معنی‌دار در سطح پنج درصد (۰/۰۵) رابطه عکس با آن دارد. با توجه به کاربرد خاکی کودهای پایه به صورت سولفات، میکوریزا در کلات نمودن و انتقال ترکیبات گوگردی به گیاه مؤثر است. اما نکته مهم که در بسیاری از مطالعات در نظر گرفته نمی‌شود، ضریب جذب روزانه عناصر در بدن انسان است که به اشتباه غلظت عناصر موجود در مواد غذایی را به عنوان میزان جذب در نظر می‌گیرند.

در این تحقیق در کنار میزان عناصر در تیمارهای مختلف، میزان جذب روزانه نیز اندازه‌گیری شد و در اکوتیپ رامهرمز و دزفول دامنه این تغییرات به ترتیب ۸/۰۸-۱۱/۰۸ و ۸/۴۲-۱۱ میکروگرم بر کیلوگرم بدست آمد (جدول ۳). در حالی که بالاترین غلظت سلیوم در پیاز سیر و به دنبال آن میزان جذب روزانه در هر دو اکوتیپ در تیمار بدون میکوریزا و سلیوم ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل‌های ۴ و ۵). همچنین با در نظر گرفتن جذب روزانه و مطابقت حد مجاز توصیه‌شده (میکروگرم در روز) برای رده‌های مختلف سنی (جدول ۱) مشاهده می‌شود که در تمام تیمارها با مصرف روزانه ۱۰ گرم، هیچ مشکلی برای تمام رده‌های سنی به وجود نمی‌آید و حد مجاز توصیه‌شده رعایت شده است. بررسی مقادیر جذب روزانه سلیوم در تیمارهای مختلف نشان داد (جدول ۳) که تنها یک تیمار است که با مصرف ۱۰ گرم



شکل ۴ - نمودار میانگین متغیرها بر اساس تیمارهای سلیوم و میکوریزا در اکوتیپ دزفول



شکل ۵ - نمودار میانگین متغیرها بر اساس تیمارهای سلینیوم و میکوریزا در اکوتیپ رامهرمز

جدول ۳- میانگین مقادیر برخی خصوصیات اندازه‌گیری شده سیر تحت تیمار سلینیوم و میکوریزا در دو اکوتیپ رامهرمز و دزفول

تیمار	وزن پیاز سیر (گرم)	وزن پیاز سیر (گرم)	جذب روزانه سلینیوم (میلیگرم بر کیلوگرم در روز)	آلپسین (میلیگرم بر میلی لیتر)	فلاونوئید (میلیگرم بر گرم)	سلینیوم (میکروگرم بر گرم)	تعداد سیرچه یک پیاز سیر
سلینیوم صفر میکوریزا صفر	۱۹/۰ ^D	۱۹/۵ ^F	۸/۴۴ ^D	۵۰/۵ ^D	۲۱/۷۱ ^E	۴/۱۹ ^B	۱۹/۰ ^D
سلینیوم ۱۰۰ میکوریزا صفر	۱۹/۵ ^C	۲۱/۰ ^E	۱۰/۷۵ ^B	۶۴/۵ ^B	۲۲/۵۴ ^{DE}	۲/۸۲ ^E	۱۹/۵ ^C
سلینیوم ۲۰۰ میکوریزا صفر	۱۹/۰ ^D	۲۳/۵ ^D	۱۱/۰۸ ^A	۶۶/۵ ^A	۲۲/۶۵ ^D	۲/۴۷ ^F	۱۹/۰ ^D
سلینیوم صفر تلقیح میکوریزا	۲۱/۰ ^B	۲۶/۰ ^C	۸/۰۸ ^E	۴۸/۵ ^E	۲۳/۲۲ ^C	۴/۷۲ ^A	۲۱/۰ ^B
سلینیوم ۱۰۰ تلقیح میکوریزا	۲۱/۵ ^A	۲۷/۰ ^B	۹/۵۰ ^C	۵۷/۰ ^C	۲۵/۳۳ ^B	۳/۴۳ ^C	۲۱/۵ ^A
سلینیوم ۲۰۰ تلقیح میکوریزا	۲۱/۵ ^A	۲۸/۰ ^A	۱۰/۷۵ ^B	۶۴/۵ ^B	۲۶/۸۵ ^A	۳/۱۸ ^D	۲۱/۵ ^A
سلینیوم صفر میکوریزا صفر	۱۴/۰ ^A	۳۲/۰ ^C	۱۰/۰۸ ^C	۶۰/۵ ^C	۲۲/۶۸ ^F	۴/۴۶ ^B	۱۴/۰ ^A
سلینیوم ۱۰۰ میکوریزا صفر	۱۴/۰ ^A	۳۰/۲ ^D	۱۰/۵۸ ^B	۶۳/۵ ^B	۲۳/۸۵ ^E	۱/۴۲ ^{EF}	۱۴/۰ ^A
سلینیوم ۲۰۰ میکوریزا صفر	۱۴/۰ ^A	۳۱/۸ ^{CD}	۱۱/۰۰ ^A	۶۶/۰ ^A	۲۴/۹۷ ^D	۱/۲۰ ^F	۱۴/۰ ^A
سلینیوم صفر تلقیح میکوریزا	۱۴/۰ ^A	۳۴/۱ ^{BC}	۸/۴۲ ^F	۵۰/۵ ^F	۲۵/۰۶ ^C	۵/۱۸ ^A	۱۴/۰ ^A
سلینیوم ۱۰۰ تلقیح میکوریزا	۱۴/۰ ^A	۳۴/۵ ^B	۹/۲۵ ^E	۵۵/۵ ^E	۲۶/۸۴ ^B	۲/۵۹ ^D	۱۴/۰ ^A
سلینیوم ۲۰۰ تلقیح میکوریزا	۱۴/۰ ^A	۳۵/۵ ^A	۹/۵۸ ^D	۵۷/۵ ^D	۲۷/۶۹ ^A	۳/۵۲ ^C	۱۴/۰ ^A

جدول ۴- نتایج تحلیل ضریب همبستگی اسپیرمن میان تیمارهای اعمال شده با خصوصیات اندازه‌گیری شده گیاه سیر

تیمار	آلپسین در سیر (میلی گرم بر میلی لیتر)	فلاونوئید در سیر (میلی گرم بر گرم)	سلینیوم در سیر (میکروگرم بر گرم)	وزن پیاز سیر (گرم)	تعداد سیرچه‌ها	میانگین وزن سیرچه (گرم)	جذب روزانه سلینیوم (میکروگرم بر کیلوگرم در روز)
میکوریزا	۰/۴۲۱*	۰/۷۳۰**	-۰/۵۰۱*	۰/۵۴۷**	۰/۱۶۸ ns	۰/۲۳۰ ns	-۰/۵۰۱*
سلینیوم	-۰/۶۹۸**	۰/۵۱۱*	۰/۷۱۹**	۰/۲۲۳ ns	۰/۰۱۶ ns	۰/۱۱۲ ns	۰/۷۱۹**
اکوتیپ	-۰/۱۷۶ ns	۰/۳۸۵	۰/۰۲۶ ns	۰/۷۷۹**	۰/۹۶۷**	۰/۹۵۵**	۰/۰۲۶ ns

ns و * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

فلاونوئید باشد، کاهش برخی از ارزش‌های غذایی مانند آلیسین اجتناب‌ناپذیر است. از طرفی، اگر سیر غنی از آلیسین هدف تولید باشد و غنی‌سازی سلنیوم هدف تولید نباشد، با کاهش هزینه‌های زراعی در اکوتیپ‌های مورد تحقیق می‌توان محصولی را به دست آورد که دارای غلظت بالای ترکیبات آلیسین باشد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت در صورتی که هدف تولید، سیری با غلظت بالای یک از ترکیبات سلنیوم، فلاونوئید و آلیسین باشد، کاهش برخی از ارزش‌های غذایی و تغییر نوع اکوتیپ اجتناب‌ناپذیر می‌باشد و باید مدیریت زراعی و انتخاب اکوتیپ‌ها را بر اساس هدف تولید، تعریف و برنامه‌ریزی کرد.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکترای می‌باشد که در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان انجام گرفته است. بدین وسیله از حمایت‌های به‌عمل آمده گروه علوم خاک و همکاری مسئولین محترم آزمایشگاه مرکزی این دانشگاه تشکر می‌شود.

REFERENCES

- Arzanlou, M., Bohlooli, S. (2010). Introducing of green garlic plant as a new source of allicin. *Food Chemistry*, 6, 12–15.
- Baghalian, K., Ziaei, S. A., Naghavi, M.R., Naghdiabadi, H., and Khalighi, A. (2005). Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. *Sci. hort*, 103, 155-166.
- Benkeblia, N. (2005). Free-radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 753–759.
- Braca, A., Sortino, C. Politi, M. Morelli I. and Mendez, J. (2002) Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 379-381.
- Chamannejadian, A., Sayyad, G., Moezzi, A., and Jahangiri, A. (2013). Evaluation of estimated daily intake (EDI) of cadmium and lead for rice (*Oryza sativa* L.) in calcareous soils. *Iranian J. Environ. Health Sci. Eng*, 10 (28), 1-5.
- Conversa, G., Lazzizzera, C., Chiaravalle A. E., Miedico, O., Bonasia, A., La Rotonda, P., Elia, Antonio. (2019). Selenium fern application and arbuscular mycorrhizal fungi soil inoculation enhance Se content and antioxidant properties of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) spears. *Scientia Horticulturae*, 252, 176-191.
- Cuderman, P., Kreft, I., Germ, M., Kovacevic, M. and Stibilj, V. (2008). Selenium species in selenium-enriched and drought-exposed potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9114-9120.
- Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany*, 104, 1263–1280.
- Feng, R., Wei, C. and Tu, S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58-68.
- Ghasemi, K., Bolandnazara, S., Tabatabaiea, S.J., Pirdashtib, H., Arzanlouc, M., Ebrahimzadehd, M. A., and Fathid, H. (2014). Antioxidant properties of garlic as affected by selenium and humic acid treatments. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 43(3), 173–181. <http://dx.doi.org/10.1080/01140671.2014.991743>
- Golubkina, N. A., Nadezhkin, S.M., Agafonov, A.F., Kosheleva, O.V., Molchanova, A.V., Russo, G., Cuciniello, A., Caruso, G. (2019). Seed oil content, fatty acids composition and antioxidant properties as affected by genotype in *Allium cepa* L. and perennial onion species. *Adv. Hort. Sci*, 29, 199–206.
- Gupta, M., and Gupta, S. (2017). An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-14. doi: 10.3389/fpls.2016.02074
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 280(1), 1-8.
- Hlusek, J., Richter, R. and Rigerova, L. (2002). Sulphur in the nutrition and fertilization of vegetables. *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*, 11, 1383-1390.
- Huyut, Z., Beydemir, S., Gülçin, I. (2017). Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids.

- and Phenolic Compounds. *Biochem. Res. Int.*, 2017, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2017/7616791>
- Jessie Rebecca, A., Surendra Babu, P., Chandini Patnaik, M. (2018). Effect of Sulphur and Selenium on Yield, Selenium Content and Antioxidant Properties in Sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 7(04): 283-289.
- Juana, P., Miguel, N., Herminia, L. & Maria, C. L. (1994). Determination of Selenium Levels in vegetables and Fruits by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 42 (12), 2848–2851.
- Lawrence, R., and Lawrence, K. (2011). Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, 51–54.
- Liu, C., Cooper, R.J., Bowman, D.C., (1998). Humic acid application affects photosynthesis, root development and nutrient content of creeping bentgrass, *Hortscience*, 33, 1023–1025.
- Marrelli, M., Amodeo, V., Statti, G., & Conforti, F. (2019). Biological properties and bioactive components of *Allium cepa* L.: Focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities. *Molecules*, 24(1), 119.
- Mollavali, M., Bolandnazar, S., Nazemieh, H., Zare, F., Aliasghar zad, N. (2015). The effect of mycorrhizal fungi on antioxidant activity of various cultivars of onion (*Allium cepa* L), *Int J Biosci*, 6:66–79.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M.P., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2017, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(8), 883-883.
- Poldma, P., Tonutare, T., Viitak, A., Luik, A. and Moor, U. (2011). Effect of selenium treatment on mineral nutrition, bulb size and antioxidant properties of garlic (*Allium sativum*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 5498-5503.
- Reid, M. E., Stratton, M. S., Lillico, A. J., Fakhri, M., Natarajan, R., Clark, L. C. and Marshal, J. R. (2004). A report of high-dose selenium supplementation: response and toxicities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 69-74.
- Slusarenko, A. J., Patel, A., & Portz, D. (2008). Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. In *Sustainable disease management in a European context* (pp. 313-322). Springer, Dordrecht.
- Spallholz, J. E. and Hoffman, D. J. 2002. Selenium toxicity: cause and effects in aquatic birds. *Aquatic Toxicology*, 57: 27-37.
- Suleria, H. A. R., Butt, M. S., Khalid, N., Sultan, S., Raza, A., Aleem, Abbas, M., and Abbas M. (2015). Garlic (*Allium sativum*): diet based therapy of 21st century-a review. *Asian Pacific journal of tropical disease*, 5(4), 271-278.
- Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A. and Oelmueller, R. (2012). *Piriformospora indica*: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. *Agric. Res.*, 1, 117-131
- Wallock-Richards, D., Doherty, C. J., Doherty, L., Clarke, D. J., Place, M., Govan, J. R. W., and Campopiano, D. J. (2014). Garlic Revisited: Antimicrobial Activity of Allicin-Containing Garlic Extracts against *Burkholderia cepacia* Complex. *PLOS ONE*, 9(12), 1-13. doi:10.1371/journal.pone.0112726.
- Whanger, P. D. (2002). Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American Collage and Nutrition*, 21, 223-232.
- White, P. J. (2016). Selenium accumulation by plants. *Annals of Botany*, 117(2), 217–235. doi:10.1093/aob/mcv180.
- White, P. J., Bowen, H. C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W. P., Spidy, R. E., Meacham, M. C., Mead, A., Harriman, M., Trueman, L. J., Smith, B. M., Thomas, B. and Broadley, M. R. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Astragalus thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1927-1937.
- Zayova, E., Stancheva, I., Geneva, M., Hristozkova, M., Dimitrova, L., Petrova, M., Sichanova, M., Salamon, I., Mudroncekova, S. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance antioxidant capacity of in vitro propagated garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Symbiosis*, 74(3), 177–187.
- Zhan, F., Li, B., Jiang, M., Yue, X., He, Y., Xia, Y. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance antioxidant defense in the leaves and the retention of heavy metals in the roots of maize. *Environ Sci Pollut Res Int*, 25(24), 24338- 24347.