Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Karyological comparison between Iranian garlic (*Allium sativum*) ecotypes and foreign specimens

Elham Yaghoobi

M.Sc Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail address: elham.yaghoobi@alumni.um.ac.ir

Saeid Malekzadeh Shafaroudi

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail address: malekzadeh-s@um.ac.ir

Mohammad Farsi

Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail address: farsi@um.ac.ir

Abstract

Objective

The first step in understanding a species' genome is to study the number and shape of its chromosomes. Determining the relationship between species of a genus, traits such as chromosome morphology, absolute chromosome size, diversity in coloring, centromere position chromosome base number, and numbers of satellites must be considered. This study aimed to investigate cytogenetic diversity and to determine the relationship between native garlic ecotypes of Iran (Shahroud, Bojnurd, Mashhad, Birjand, Talish) with foreign specimens (originated from Turkmenistan, Azerbaijan, Tajikistan) and to prepare genome analysis based on chromosomal information.

Materials and methods

From the mitotic cells in the metaphase stage, which were prepared from the terminal meristem of the root and stained with acetoorcein, five suitable metaphase cells were selected and the length of short and long arms and the total length of chromosomes were measured using Karyotype Analysis Software (ver.1.5). Data were analyzed by JMP8 statistical software in an unbalanced completely randomized design. Mean comparisons were performed by Duncan test. To classify ecotypes, based on all chromosomal parameters, cluster analysis was performed using the Ward method.

Results

The results showed that the basic number of chromosomes in Turkmenistan and Bojnurd ecotypes was x=7, 2n=2x=14, and in other ecotypes x=8, 2n=2x=16. Short arm length, long arm length, and total chromosome length were significantly different (P≤0.01) between ecotypes. Cluster analysis divided the ecotypes into two groups. Minimum Euclidean distance observed between Azerbaijan and Talish ecotypes, the smallest chromosome belonged to Mashhad and the largest chromosome belonged to Shahroud. The most symmetric karyotype was Azerbaijan and the most asymmetric karyotype was the Shahroud ecotype.

Conclusions

The results showed that the differences in the number of chromosomes could be explained by Robertsonian translocations. It seems that the ecotypes with 2n=2x=14 chromosomes had more antiquity, and the ecotypes with 16 chromosomes originated from them. Considering that the Bojnourd ecotype with 14 chromosomes this region could be possibly introduced as the oldest origin or nuclear center of variation for garlic in Iran. Chromosomes also differ in the size and location of the centromere, which is due to chromosomal breakdown and the formation of a new structure in their reconnections. This study revealed which ecotypes are distant among the studied ecotypes, and also showed to produce possible future hybrids, in which direction will be more successful.

Keywords: Chromosomal diversity, Cluster analysis, Garlic, Karyotype analysis.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Yaghoobi E, Malekzadeh Shafaroudi S, Farsi M (2022) Karyological comparison between Iranian garlic (*Allium* sativum) ecotypes and foreign specimens. *Agricultural Biotechnology Journal* 14 (3), 21-40.

Agricultural Biotechnology Journal 14 (3), 21-40. DOI: 10.22103/jab.2022.19436.1401

Received: May 1, 2022. Received in revised form: June 10, 2022.

Accepted: June 11, 2022. Published online: August 10, 2022

Publisher: Faculty of Agriculture and TechnologyInstitute of Plant Production, ShahidBahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۲۲۲۸-۶۷۰۵ شاپا الکترونیکی: ۲۲۲۸-۶۵۰۰

مقایسه کاریولوژیکی بین اکوتیپ‌های سیر (*Allium sativum*) بومی ایران با نمونه‌های خارجی

الهام یعقوبی

دانش‌آموخته کار شنا سی‌ار شد، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دان شکده ک شاورزی دان شگاه فردو سی م شهد، م شهد، ایران.

رایانامه: elham.yaghoobi@alumni.um.ac.ir

سعید ملک‌زاده شفارودی

*نویسنده مسئول: دانشیار اصلاح نباتات – ژنتیک مولکولی وبیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی وبه‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: malekzadeh-s@um.ac.ir

محمد فارسی

ا ستاد ا صلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی وبه‌نژادی گیاهی، دان شکده ک شاورزی دان شگاه فردو سی م شهد، م شهد، ایران. رایانامه: mohfarsi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۱/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱

چکیده

هدف: اولین قدم در شـــناخت ژنوم یک گونه، مطالعه تعداد و شـــکل کروموزوم‌های آن اســـت. در تعیین روابط خویشـــاوندی بین گونه‌های یک جنس، صفاتی از قبیل مورفولوژی کروموزوم‌ها، اندازه مطلق کروموزوم‌ها، موقعیت سانترومرها، عدد پایه کروموزومی و تعداد ماهواره‌ها مورد بررســـی قرار می‌گیرد. هدف این پژوهش بررســـی تنوع ســـیتوژنتیکی و تعیین روابط خویشـــاوندی بین اکوتیپ‌های سیر بومی ایران با چند نمونه خارجی و تجزیه و تحلیل ژنوم برا ساس اطلاعات کروموزومی و مقایسه نتایج حا صل از بررسی قرابت و نزدیکی اکوتیپ‌ها براساس اطلاعات کاریوتایپی است.

مواد و روش‌ها: ۸ اکوتیپ سیر شامل: شهرهای بجنورد، شاهرود، م شهد، بیرجند، تالش و از ک شورهای آذربایجان، ارمنستان و تاجیکستان جمع‌آوری شد، از سلول‌های میتوزی مریستم انتهایی ریشه در مرحله متافاز و رنگ‌آمیزی با استواورسئین استفاده شد، تعداد پنج ســـلول متافازی مناســـب انتخاب و با اســـتفاده از نرم‌افزار(*1.5*) Karyotype Analysis طول بازوهای کوتاه و بلندکروموزوم و طول کل کروموزوم‌ها اندازه‌گیری و سـایر شـاخص‌ها نظیر شـکل کلی کاریوتایپ، شـاخص سـانترومری، شـاخص

نامتقارن بودن درون کروموزومی، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی، شاخص تقارن کاریوتایپ، ضریب عدم تقارن، انحراف معیار طول کروموزوم، انحراف معیار شاخص سانترومری محاسبه شد. داده‌ها در نرم‌افزارآماری JMP_8 در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین به روش دانکن انجام شد و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward صورت پذیرفت.

نتایج: نتایج نشان داد عدد پایه کروموزومی در اکوتیپ‌های ترکمنستان و بجنورد x=7، 2n=2x=14 و در سایر اکوتیپ‌ها x=8 ، 2n=2x=16 است و اختلاف معنی‌داری ($P<0.01$) بین طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند، طول کل کروموزوم مشاهده شد. در تجزیه خوشه‌ای مشخص شد کمترین فاصله اقلیدسی مربوط به دو اکوتیپ کشورآذربایجان و شهر تالش است. کوچکترین کروموزوم‌ها مربوط به اکوتیپ مشهد و بزرگترین کروموزوم‌ها مربوط به شاهرود است. متقارن‌ترین کاریوتایپ اکوتیپ آذربایجان و نامتقارن‌ترین کاریوتایپ شاهرود بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد اختلاف در تعداد کروموزوم‌ها می‌تواند به علت تغییرات رابرتسونین باشد و به نظر می‌رسد اکوتیپ‌های 2n=2x=14 قدمت بیشتری دارند و اکوتیپ‌های 16 کروموزومی از آنها بوجود آمده‌اند. با توجه به اینکه در اکوتیپ بجنورد ۱۴ کروموزوم مشاهده شد، می‌توان قدمت منشا این گیاه را در این منطقه از ایران تایید کرد. همچنین کروموزوم‌ها از نظر اندازه و محل قرارگیری سانترومر با یکدیگر تفاوت دارند که این تفاوت به علت شکست کروموزومی و ایجاد ساختار جدید، در دوباره بهم متصل شدن آن‌ها است. این تحقیق نشان داد نژادهای دور در میان اکوتیپ‌های مورد بررسی کدامند و امکان انجام تحقیقات برای تهیه هیبریدهای احتمالی بعدی در کدام مسیر، امکان موفقیت بیشتری را فراهم می‌کند.

کلیدواژه‌ها: تجزیه خوشه‌ای، تنوع کروموزومی، سیر، تجزیه و تحلیل کاریوتایپ.

نوع مقاله: پژوهشی

استناد: یعقوبی الهام، ملک‌زاده شفارودی سعید، فارسی محمد (۱۴۰۱) مقایسه کاریولوژیکی بین اکوتیپ‌های سیر (*Allium sativum*) بومی ایران با نمونه‌های خارجی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۴(۳)، ۲۱-۴۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, ShahidBahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

گیاه سیر *Allium sativum* با نام لاتین *Garlic* از *تیره Alliaceae* گیاهی دیپلوئید با فرمول کروموزومی 2n=2x=16 است. سیر گیاهی علفی دائمی، بعد ازپیاز دومین و پرمصرف‌ترین گیاه ازجنس آلیوم است که به علت داشتن مواد معدنی از اهمیت غذایی بالایی برخوردار است. استفاده از این گیاه دارویی برای کاهش کلسترول خون، تنظیم فشارخون، درمان

ناراحتی‌های قلبی وعروقی، سرماخورگی و آنفلوانزا توصیه شده است (Baghalianet 2005). برخی ازمحققان زیستنگاه این گیاه دارویی را به آسیای مرکزی نزدیک مغولستان یا افغانستان مرتبط می‌دانند که پس از آن توسط مهاجرین اولیه به شرق اروپا و آسیا منتقل شده و فلات ایران از مهمترین مراکز تنوع این گیاه محسوب می شود (Mollafilabi et al. 2005). یکی ازروش‌های بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی و کاریوتایپی است. در حقیقت اولین قدم در شناخت ژنوم یک گونه، مطالعه تعداد، شکل و رفتار کروموزم‌های آن است. یکی از قدیمی‌ترین و بزرگترین شاخه‌های علم ژنتیک، سیتوژنتیک است که، به مطالعه رفتار کروموزوم‌ها در طی تقسیم‌های میتوزی و میوزی و نحوه انتقال آن در سطح سلول می‌پردازد. تغییر در ساختار و اندازه کروموزوم‌ها، صفات فنوتیپی متفاوتی را بروز می‌دهد. اختلاف در اندازه کروموزوم‌ها، نشان دهنده اختلاف موجود در انواع محصولات ژنی یا پروتئینی آن‌ها است و اختلاف در تعداد کروموزوم‌ها، معرف اختلاف‌های موجود در آرایش ژن یا مضاعف شدن ژن و یا هر دو می‌باشد. به کمک اطلاعات کروموزومی، امکان مقایسه گونه‌ها و جمعیت‌های آنها فراهم می‌گردد (Alishah and Omidi 2008).

یکی از مباحث مهم در مطالعات سیتوژنتیکی، بحث تکامل کاریوتایپی است. کاریوتایپ مجموعه‌ای از اختصاصات مربوط به تعداد کروموزوم‌ها، سطح پلوئیدی و شکل کروموزوم‌ها از جمله محل قرارگیری سانترومر و اندازه کروموزوم می‌باشد که در تشخیص بین‌گونه‌ای بکار می‌رود. به کلی عامل‌های اندازه طول کل کروموزوم‌ها، تعدادکروموزم‌ها و شکل کروموزوم‌ها بعنوان سه عامل مهم در بررسی تکامل هستند (Alishah and Omidi 2008). مطالعات کاریوتایپی به منظور مقایسه اختلافات موجود طور بین افراد یک گروه و آشکار شدن سیر تکاملی تغییرات در کروموزوم‌های تشکیل دهنده‌ی ژنوم انجام می‌گیرد. در بیان اهمیت مطالعه کاریوتایپی یادآوری این نکته لازم است که مورفولوژی کروموزوم‌ها می‌تواند به عنوان یکی از مفیدترین معیارها جهت بررسی روابط تاکسونومی مورد استفاده قرار گیرد. در تعیین روابط خویشاوندی بین گونه‌های یک جنس، تنها تعداد کروموزوم کافی نیست، بلکه باید صفاتی از قبیل مورفولوژی کروموزوم‌ها، اندازه مطلق کروموزوم‌ها، تنوع در رنگ‌پذیری، موقعیت سانترومرها، عدد پایه کروموزومی، تعداد و موقعیت ماهواره‌ها و رفتار کروموزومی نیز مورد بررسی قرار گیرد (Stebbins 1971). امروزه به خوبی مشخص شده است که در به‌نژادی گیاهی، داشتن اطلاعات کافی در خصوص سطح پلوئیدی و ویژگی‌های کاریوتایپی از مهمترین نیازهای اولیه اصلاح‌گران می‌باشد. بررسی کاریوتایپی نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفا می‌کند و بعنوان اولین قدم در تجزیه فیلوژنی و تکامل گروه‌های خویشاوند مطرح است (Sheidai et al. 2002). وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز می‌تواند بیانگر وجود تنوع ژنتیکی باشد (Bauchn and Hossain 1998). مشخص شده است که، تعداد کروموزوم پایه سیر از ۶ تا ۸ تغییر می‌کند. مطالعات صورت گرفته بر روی سلول‌های متافازی گیاه سیر تعداد 2n=2x=16 کروموزوم را گزارش نموده است (Saensouk and Saensouk 2021) در حالیکه بانرجی2n=2x=12 و 2n=2x=18 گزاش کرد (Banerjee 1980). همچنین شمارش تعداد کروموزم‌ها و تهیه کاریوتایپ، برخی از توده‌های سیر بومی ایران عدد پایه

کروموزومی 2n=2x=16 و 2n=2x=14 را نشـان داد (Yaghoobi and Malekzadeh Shafaroudi 2014). مطالعات کاریوتایپی بر روی سیر، در کشورهای چین و تایلند نشان داد، در سیر چین کروموزوم‌های شماره۲ ،۳ و ۶ ساب‌متا سانتریک و در سیر تایلند کروموزوم‌های شماره ۲، ۳، ۴ و ۶ ساب‌متا سانتریک و بقیه کروموزوم‌ها متا سانتریک ا ست و طول کروموزم‌ها از ۱۵/۱۲ تا ۲۳/۴۴ میکرومتر گزارش شـده اسـت (Saensouk and Saensouk 2021)، در حالی‌که دیگران در آزمایشـی بر روی ۱۹ اکوتیپ سیر بومی ایران، طول مطلق کروموزوم‌های این گیاه را از ۱۷/۰۴ تا ۳۵/۳۳ میکرومتر و طول نسبی کروموزوم‌ها را از ۶/۲۵ تا ۷/۱۴ گزارش کرده‌اند (Yaghoobi and Malekzadeh Shafaroudi 2014).

در مطالعـات کاریوتایپـی سـیر ترکیه مشخص شـد کروموزوم‌های ۵ و ۷ دارای ستلایت با طول ۲/۳۱ و ۲/۸۷ میکرومتر ا ست در حالی‌که محل ستـــلایت‌ها در مطالعـــات Wajahatullah and Vahidy (1990)، Cortes et al. (1983) و Cortes and Escalza (1986) بر روی کروموزم‌های ۶ و ۷ قرار دا شت. هدف از انجام این تحقیق برر سی تنوع سیتوژنتیکی برخی اکوتیپ‌های خارجی و بومی گیاه سیر، تجزیه و تحلیل ژنوم برا ساس اطلاعات کروموزومی و مقایسه نتایج حا صل از برر سی قرابت و نزدیکی اکوتیپ‌ها براســاس اطلاعات کاریوتایپی اســت. بدین منظور جهت بررســی تنوع ســیتوژنتیکی و کاریوتایپی اکوتیپ‌های سیر ایران با نمونه‌های خارجی تعداد ۵ اکوتیپ سیر بومی ایران با ۳ نمونه خارجی مورد مطالعه و مقایسه قرارگرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیـــاهی مورد مطالعـــه در این پژوهش، ۸ اکوتیپ سیر شامل: شهرهای بجنورد، شاهرود، مشهد، بیرجند، تالش و کشورهای آذربایجان، ارمنستان و تاجیکستان (جدول ۱) است. غده‌های سیر با محـــلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شـدند، سپس ازهر نمـونه تعدادی سیرچـه درون گلـدان‌های حـاوی، ۵۰ درصدکوکوپـیت،۴۰ درصد پیت‌ماس و ۱۰ درصد پرلایت کشت شد و بعـــد از این‌که اولـــین برگچه‌ها ظاهر شدند، گلدان‌ها درون سطل حاوی آب قرار داده شدند و مواد اطراف ریشه به آرامی جدا شد، سپس ریشه‌های ظریف و جوان (بین ساعات ۸ تا ۱۰صبح) از سیرچه‌ها جدا شد. برای مطالعه میتوز در سـلول‌های در حال تقسـیم، لازم اسـت که فعالیت‌های رشـته‌های دوک مختل گردد تا از حرکت کروموزوم‌ها به قطبین سـلول جلوگیری شـود و کروموزم‌ها در صـفحه متافازی قرارگیرند این کار در مرحله پیش‌تیمار انجام می‌شـود. در این مرحله ریشـه‌های با طول یک تا دو سانتی‌متر در محلول ۸- هیدروکسی‌کوئینولین با غلظت ۰/۰۰۲ مولار، به مدت ۴ ساعت در محل تاریک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال قرار گرفتند (Alishah and Omidi 2008). پس از خارج کردن ریشه‌ها از مرحـــله پیش‌تیمار، ریشه‌ها شسته و با استفاده از کاغـذ صافی خشک شدند. به منظـور تثبیت تقسیم سلـولی و حفظ شـکل کروموزم‌ها بـدون آمـاس و چـــروکیدگی، ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در محتلول تثبیت کننده (فیـــکساتور) شامـــل ۳ قســـمت اتانـول ۹۶ درصـد و ۱ قسمت اسید استیک گلاسیال قرار گرفتند (Farsi et al. 2010). سپس ریشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با آب

مقطر شستشو و آب‌گیری شدند. مرحله هیدرولیز با محلول یک نرمال هیدروکسید سدیم، در بن‌ماری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. پس از هیدرولیز، ریشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند سپس ریشه‌ها درون شیشه ساعت حاوی رنگ استواور سئین قرار داده شدند، بطوری‌که ریشه‌ها کاملاً در رنگ غوطه‌ور بودند و به مدت ۱۵ دقیقه به ملایمت و بطور متناوب روی حرارت قرار می‌گرفتند .پس از تهیه اسلاید به روش اسکواش، مشاهدات میکروسکوپی توسط میکروسکوپ Olympus DP12 Digital Microscope Camera، انجام شد. سلول‌ها با عدسی شیئی ۱۰۰ میکروسکوپ شناسایی شدند و از سلول‌های متافازی مناسب، عکس گرفته شد.

تعداد ۵ عکس کاملاً واضح از هر اکوتیپ (اکوتیپ‌های بجنورد ۳ عکس و بیرجند، ترکمنستان و تاجیکستان۴ عکس) انتخاب شد تا جهت مراحل اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل نرم‌افزاری به برنامه‌ی Karyotype Analysis (*1.5*) منتقل شود، در این نرم‌افزار، طول بازوهای کروموزوم‌ها اندازه‌گیری و محل سانترومر مشخص شد. کروموزوم‌های همتا بر اساس محل سانترومر (نسبت طول بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم) ، وجود یا عدم وجود ماهواره شناسایی و جهت تهیه کاریوگرام به ترتیب از بزرگ به کوچک و از چپ به راست در کنار هم چیده شدند. جهت بررسی تقارن کاریوتایپ‌ها، با استفاده از نرم‌افزار Excel پارامترهای، شکل کلی کاریوتایپ (TF%)[1]، شاخص سانترومری (CI)[2]، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی(A_1)[3]، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)[4]، شاخص شباهت اندازه کروموزومی (Rec)[5]، ضریب عدم تقارن (AI)[6]و نسبت بازوهای کوتاه به بلند به همراه سایر پارامترها محاسبه شد که در معادلات شماره ۱ تا ۸ آورده شده است (Kumari et al. 2010) و معادلات شماره‌های ۷ و ۸ شاخص‌های ابداعی و پیشنهادی هستند (Yaghoobi and Malekzadeh Shafaroudi 2014). تجزیه آماری توسط نرم‌افزار آماری JMP_8 انجام شد. تجزیه و تحلیل‌های انجام شده در این تحقیق شامل تجزیه واریانس در قالب طرح کاملا تصادفی نامتعادل (کلیه اکوتیپ‌ها ۵ تکرار، بجنورد ۳ تکرار و بیرجند، ترکمنستان و تاجیکستان در ۴ تکرار) ، محاسبه ضریب همبستگی بین شاخص‌ها، مقایسه میانگین به روش دانکن و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و ترسیم نمودارها بود.

معادله (۱) شکل کلی کاریوتایپ%TF:

$$TF\% = \frac{\text{مجموع طول کل بازوهای کوتاه}}{\text{مجموع طول کل کروموزومها}} * 100$$

معادله (۲) شاخص سانترومری :

$$CI\ \% = \frac{\text{طول بازوی کوتاه کروموزوم}}{\text{طول کل کروموزوم}} * 100$$

معادله (۳) شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی:

$$A1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{qi}{pi}}{N}$$

[1]Total form percent
[2]Centromer index
[3]Intra chromosomal asymmetry index
[4]Inter chromosomal asymmetry index
[5]Index of chromosomal size resemblance
[6]Asymmetry index

Agricultural Biotechnology Journal;Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

معادله (۴) شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی $A2 = \frac{Scl}{Xcl}$

Scl انحراف استاندارد طول کروموزوم‌ها برای هر توده و Xcl میانگین طول کروموزوم‌ها

معادله (۵) ضریب عدم تقارن: $AI = \frac{CVcl * CVci}{100}$

معادله (۶) شاخص شباهت اندازه کروموزومی:[۷] $Rec = \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{CLi}{LC}}{n} * 100$

معادله (۷) انحراف معیار طول کروموزوم [۸]

$$\sigma_{L+S} = \frac{\sqrt{\sum f_i \left(\text{میانگین طول کروموزوم ها} - \text{هرطول کروموزوم}\right)^2}}{\text{تعداد کروموزومها}}$$

معادله (۸) انحراف معیار شاخص سانترومری[۹]

$$\sigma_{CI} = \frac{\sqrt{\sum f_i \left(\text{میانگین} - \text{شاخص سانترومری}\right)^2}}{\text{تعداد}}$$

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس در جدول شماره ۲ آورده شده است. این نتایج نشان داد اکوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری را در سطح معنی‌داری یک درصد از نظر شاخص‌های طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، درصد نسبی طول بازوی بلند، درصد نسبی طول بازوی کوتاه، شاخص سانترومری، شکل کلی کاریوتایپ و نسبت بازوی بلند به کوتاه دارند (علت بالا بودن ضریب تغییرات در سه شاخص اول به این دلیل است که، آنالیز این شاخص‌ها بر اساس طول مطلق است و سایر شاخص‌های بر اساس درصد نسبی آنالیز شده است). تصاویر متافاز میتوزی (A) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه همراه با کاریوگرام (B) و آیدیوگرام (C) هر اکوتیپ در شکل شماره ۱ آورده شده است. از لحاظ تعداد کروموزوم پایه، عدد پایه کروموزومی متفاوت X=7,8 مشاهده شد. مشخص شد اکوتیپ‌های بجنورد و ترکمنستان دارای 2n=2x=14 و سایر اکوتیپ‌ها 2n=2x=16 کروموزومی می‌باشند. نتایج حاصل از آنالیز شاخص‌های کاریوتایپی مشخص نمود بین اکوتیپ‌ها از نظر میزان و درجه تاثیر این شاخص‌ها تفاوت‌هایی وجود دارد. بطوری‌که کمترین مقدار TF% مربوط به اکوتیپ تاجیکستان با ۴۰/۵۳ و بیشترین مقدار آن مربوط به اکوتیپ تالش با ۴۳/۹۹ درصد است. کمترین مقدار شاخص سانترومری مربوط به اکوتیپ تاجیکستان با ۴۰/۳۹ و بیشترین مقدار آن مربوط به اکوتیپ تالش با ۴۳/۴۶ درصد است که با توجه به این دو شاخص مشخص می شود اکوتیپ تالش دارای تقارن کاریوتایپی است. کمترین

[7]Index of chromosomal size resemblance
[8]standard deviation total length of chromosom
[9]Standard deviation of centromer index

مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی مربوط به تالش با ۰/۲۱ و بیشترین مقدار آن مربوط به تاجیکستان با ۰/۳۰ است و مشخص می‌شود که کروموزوم‌های اکوتیپ تالش از نظر نوع و اندازه مشابه یکدیگر هستند.

جدول۱. اطلاعات مربوط به اکوتیپ‌های سیر مورد مطالعه

Table1.Details information of garlic ecotypes used in the study

اکوتیپ (Ecotype)		منطقه (Region)	عرض جغرافیایی (Latitude)	طول جغرافیایی (Longitude)	ارتفاع از سطح دریا (AMSL)	آب و هوا (Climate)
بجنورد	Bojnurd	درخواست شخصی از مزرعه محلی Private	57°31'43"E	37°47'02"N	1070	سرد- معتدل (Cold-Humid)
شاهرود	Shahroud	درخواست شخصی از مزرعه محلی Private	55°01'67"E	36°41'67"N	1345	نیمه خشک-معتدل (Semi arid-Humid)
مشهد	Mashhad	مزرعه کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد Ferdowsi university	59°57'83"E	36°30'57"N	995	سرد- خشک (Cold-Dry)
تالش	Talish	درخواست شخصی از مزرعه محلی Private	49°58'91"E	37°26'82"N	1	مرطوب-معتدل (Wet-Humid)
بیرجند	Birjand	مزرعه کشاورزی دانشگاه بیرجند Birjand University	59°22'62"E	32°86'49"N	1491	گرم- خشک (Hot-Dry)
کشور آذربایجان	Azerbaijan	مزرعه کشاورزی دانشگاه دولتی آذربایجان[10] Azarbaijan State Agricultural University	47°57'69"E	40°14'31"N	28	مرطوب - معتدل (Wet-Humid)
کشور ترکمنستان	Turkmenistan	مزرعه کشاورزی دانشگاه ترکمن نیازف [11] Turkmen Agricultural Univresity	59°55'63"E	38°96'97"N	220	بیابانی -سرد (Desert- Cold)
کشور تاجیکستان	Tajikistan	درخواست شخصی از مزرعه اطراف دوشنبه Private	71°27'61"E	38°86'10"N	7495	کوهستانی (Mountainous)

[10] Azarbaijan State Agricultural University

[11] Turkmen Agricultural Univresity Named After S.A.Niyazov

Agricultural Biotechnology Journal;Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

جدول۲. تجزیه واریانس صفات کاریوتایپی برمبنای طرح کاملاتصادفی نامتعادل

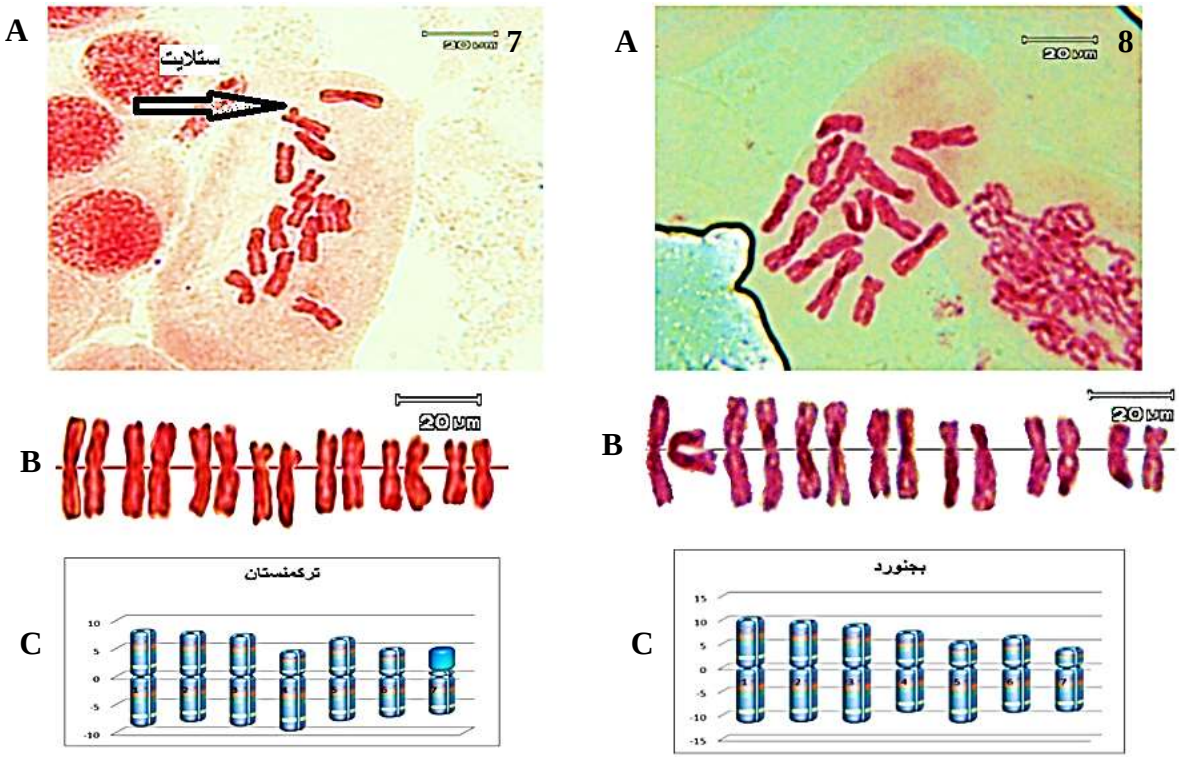
Table 2. Analysis of variance of karyotype properties based on completely unbalanced randomized design

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی (DF)	طول بازوی بلند (L)	طول بازوی کوتاه (S)	طول کل کروموزوم (Tl)	درصد نسبی طول بازوی بلند (%L)	درصد نسبی طول بازوی کوتاه (%S)	شاخص سانترومر (CI)	شکل کلی کاریوتایپ (%TF)	نسبت بازوی بلند به کوتاه ($\frac{L}{S}$)
اکوتیپ Ecotype	7	26.28**	16.50**	38.90**	0.186**	0.075**	5.42**	5.85**	0.035**
خطا Error	28	1.18	0.64	3.36	0.007	0.007	2.07	1.83	0.012
کل Total	35								
میانگین Average		9.96	7.39	17.34	3.66	2.70	41.98	42.47	1.48
ضریب تغییرات CV		20.48	20.70	20.82	5.73	5.62	4.08	3.92	9.19

**** اختلاف معنی‌دار در سطح معنی داری یک درصد**

کمترین مقدار شاخص ضریب عدم تقارن مربوط به آذربایجان با ۲/۱۵ و بیشترین مقدار آن مربوط به شاهرود با ۳/۳۲ است. کمترین مقدار شاخص شباهت اندازه کروموزومی مربوط به بجنورد با ۷۶/۲۸ و بیشترین مقدار آن مربوط به تاجیکستان با ۸۱/۶۸ است. کمترین مقدار شاخص انحراف معیار طول کروموزوم مربوط به اکوتیپ مشهد با ۱/۵۶ و بیشترین مقدار آن مربوط به اکوتیپ شاهرود با ۴/۵۶ است که مشخص می‌کند، کروموزوم‌های اکوتیپ مشهد از نظر طول تک‌تک کروموزم‌ها و همچنین اختلاف بین بزرگترین و کوچکترین کروموزوم، اختلاف طولی کمتر است و اندازه‌ی کروموزوم‌ها به همدیگر نزدیکتر هستند، ولی در اکوتیپ شاهرود بین اندازه طول کروموزم‌ها و نیز بین بزرگترین و کوچکترین کروموزوم اختلاف طولی بیشتری وجود دارد. کمترین مقدار شاخص، انحراف معیار شاخص سانترومری مربوط به آذربایجان با ۵/۹۴ و بیشترین مقدار آن مربوط به شاهرود با ۸/۱۲ است. که با توجه به این شاخص، متقارن‌ترین اکوتیپ آذربایجان و نامتقارن‌ترین اکوتیپ شاهرود است. ضریب همبستگی بین شاخص‌ها مشخص کرد شاخص‌های TF% با Syi رابطه مستقیم و مثبتی با یکدیگر دارند که محاسبه یکی از آنها جهت مشخص نمودن نوع تقارن کفایت می‌کند. جهت دسته‌بندی ۸ اکوتیپ سیر بر مبنای میانگین صفات پایه، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد (جدول ۳) . بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها مشخص شد از نظر طول نسبی بازوی کوتاه، طول نسبی بازوی بلند، شکل کلی کاریوتایپ و اختلاف دامنه طول نسبی کروموزم‌ها تفاوت وجود دارد. جهت دسته‌بندی اکوتیپ‌ها از نظر کلیه شاخص‌های کاریوتایپی، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward توسط نرم‌افزار JMP8 انجام شد.

A
1
20 µm
B
20 µm
C
مشهد
A
2
20 µm
B
20 µm
C
تاجیکستان
A
3
20 µm
B
20 µm
C
آذربایجان
A
4
20 µm
B
20 µm
C
تالش
A
ستالایت
20 µm
5
B
20 µm
C
شاهرود
A
6
B
50.0 µm
C
بیرجند



شکل ١. سلول متافازی (A)، کاریوگرام (B) و آیدیوگرام (C) در اکوتیپ‌های مطالعه شده سیر. ١-مشهد ٢-تاجیکستان ٣-آذربایجان ٤-تالش ٥- شاهرود ٦-بیرجند ٧-ترکمنستان ٨-بجنورد

Figure 1. Metaphase cells (A),karyogram (B) and ideogram (C) in studied garlic ecotypes. 1-Mashhad 2-Tajikistan 3-Azerbaijan 4-Talish 5-Shahroud 6-Birjand 7-Turkmenistan 8-Bojnurd

جدول ١. مقایسه میانگین صفات کاریوتایپی در اکوتیپ‌های گیاه سیر

Table 3. Karyotype mean comparisons in garlic ecotypes

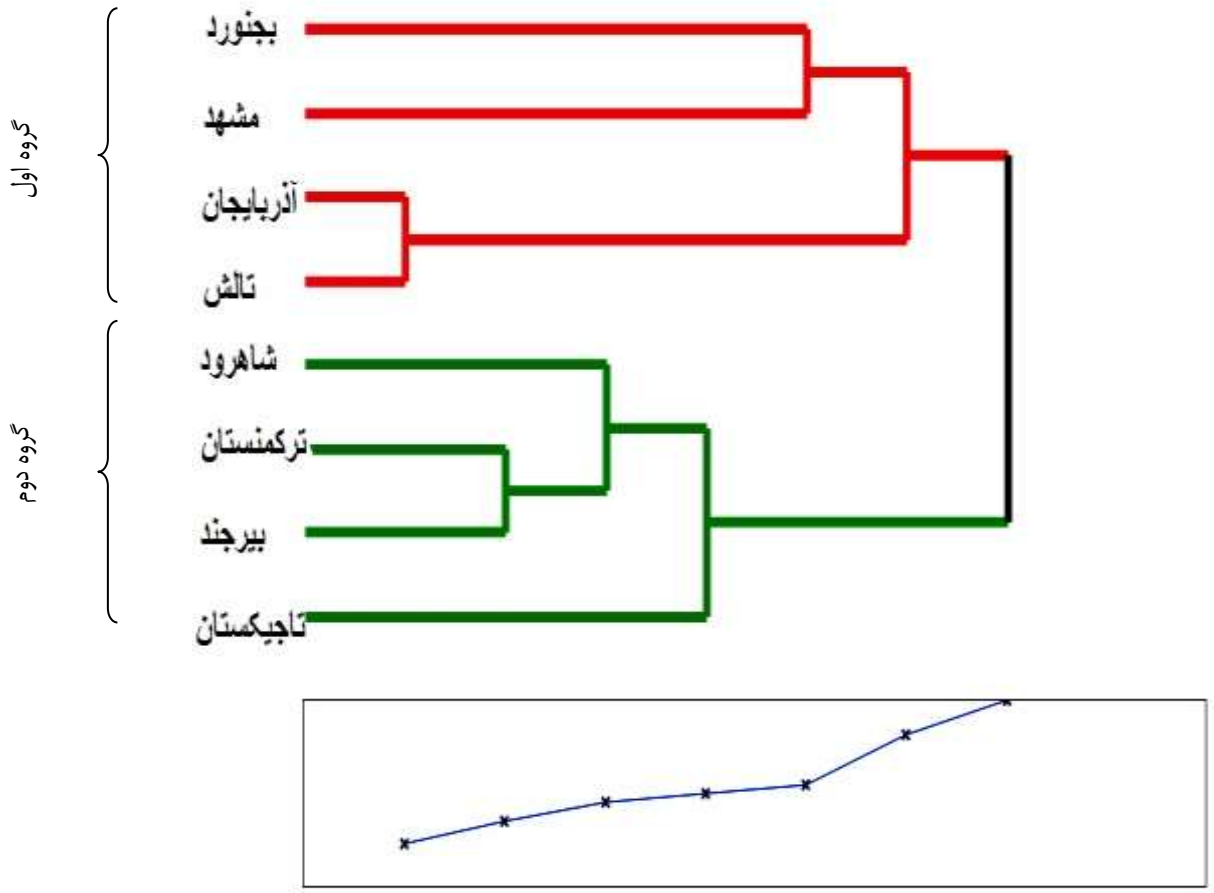
اکوتیپ	Ecotype	طول نسبی بازوی کوتاه کروموزوم (%S)	طول نسبی بازوی بلند کروموزوم (%L)	شکل کلی کاریوتایپ (%TF)	اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم ها (%DRL)
ترکمنستان	Turkmenistan	2.99 ^{a}	4.14 ^{a}	41.92 ^{bc}	3.24 ^{ab}
تاجیکستان	Tajikistan	2.53 ^{b}	3.71 ^{b}	40.53 ^{c}	3.23 ^{ab}
مشهد	Mashhad	2.62 ^{bc}	3.62 ^{bc}	41.92 ^{bc}	3.03 ^{b}
بجنورد	Bojnurd	2.63 ^{bcd}	3.61 ^{bcd}	42.19 ^{abc}	4.09 ^{a}
بیرجند	Birjand	2.65 ^{bcd}	3.59 ^{bcd}	42.51 ^{abc}	3.05 ^{b}
شاهرود	Shahroud	2.65^{bcd}	3.59 ^{bcd}	42.51^{abc}	3.21 ^{ab}
آذربایجان	Azerbaijan	2.72^{cd}	3.52 ^{cd}	43.57 ^{ab}	3.19 ^{ab}
تالش	Talish	2.74 ^{d}	3.50 ^{d}	43.98 ^{a}	3.52 ^{ab}

اختلاف معنی‌دار در سطح معنی داری یک درصد

در این کلاستر ۲۷ شاخص کاریوتایپی دخیل است و شامل: نسبت بازوی کوتاه به بلند، نسبت بازوی بلند به کوتاه، شاخص سانترومری، طول نسبی بازوی بلند، طول نسبی بازوی کوتاه، ضریب تغییرات شاخص سانترومری[۱۲]، طول کل کروموزوم، انحراف معیار نسبت بازوی بلند به کوتاه، انحراف معیار نسبت بازوی کوتاه به بلند، انحراف معیار اختلاف طول دو بازو[۱۳]، انحراف معیار شاخص سانترومری[۱۴] ، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی، شاخص شباهت اندازه کروموزومی، ضریب تغییرات طول کل کروموزوم ها[۱۵]، انحراف معیار طول نسبی کروموزوم‌ها، انحراف معیار طول کروموزوم‌ها، جمع طول نسبی بازوهای بلند، جمع طول نسبی بازوهای کوتاه، شکل کلی کاریوتایپ، ضریب عدم تقارن، شاخص نامتقارن بودن کاریوتایپ[۱۶]، شاخص تقارن کاریوتایپ[۱۷]، میزان طول نسبی کروماتین[۱۸]، اختلاف حداقل و حداکثر طول نسبی کروموزوم‌ها، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی و طول نسبی بلندترین کروموزوم بود و نتایج آن در شکل شماره ۲ آورده شده است. این کلاستر بطور نسبی اکوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول این تقسیم‌بندی با ۴ اکوتیپ شامل اکوتیپ‌های: بجنورد، مشهد، آذربایجان و تالش از نظر شاخص‌هایی که، تقارن کاریوتایپ را نشان می‌دهد به یکدیگر نزدیک بودند. به‌طور مثال شاخص شکل کلی کاریوتایپ، شاخص انحراف معیار شاخص سانترومری، شاخص انحراف معیار طول کروموزوم‌ها و شاخص سانترومری که از شاخص‌های بسیار مهم در تعیین شکل کاریوتایپ و تقارن کاریوتایپی است در گروه اول بسیار به یکدیگر نزدیک بودند. و درگروه دوم شاخص‌های کاریوتایپی فوق نیز به یکدیگر بسیار نزدیک و با گروه اول اختلاف داشتند. مشخص شد کمترین فاصله اقلیدسی مربوط به دو اکوتیپ آذربایجان و تالش است و این نشان می‌دهد این دو اکوتیپ بیشترین میزان تشابه را به یکدیگر دارند و با توجه به نزدیکی جغرافیایی، احتمالاً محل پیدایش یکسانی دارند. نمودار سه بعدی بر اساس سه شاخص توسط نرم افزار JMP_8 (شکل۳) تهیه شد. این نمودار نیز اکوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم نمود. نمودار پراکندگی اکوتیپ‌ها در شکل شماره ۴ بر اساس دو شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و شاخص نامتقارن بودن بین کروموزوم (A2) تهیه شد که نشان می‌دهد اکوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ تکامل کاریوتایپی به دو گروه مجزا از یکدیگر تعلق دارند. در جدول شماره ۴ میانگین برخی از شاخص‌ها همراه با فرمول کاریوتایپی هر اکوتیپ آورده شده است. بر اساس تصاویر کاریوتایپی مشخص شد اکوتیپ‌های بجنورد و ترکمنستان 2n=2x=14و سایر اکوتیپ‌ها 2n=2x=16 کروموزومی بودند. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده بر روی گیاه سیر، که تعداد کروموزوم‌های این گیاه را از 2n=2x=12 تا 2n=2x=18 گزارش کرده‌اند مطابقت داشت (Banerjee 1980).

[12] Coefficient of variation of centromeric index
[13] standard deviation of difference arms
[14] Standard deviation of centromer index
[15] Coefficient of variation of chromosomes length
[16] Degree of asymmetry of karyotype
[17] Index of karyotype symmetry
[18] Value of ratio choromatin

Agricultural Biotechnology Journal;Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

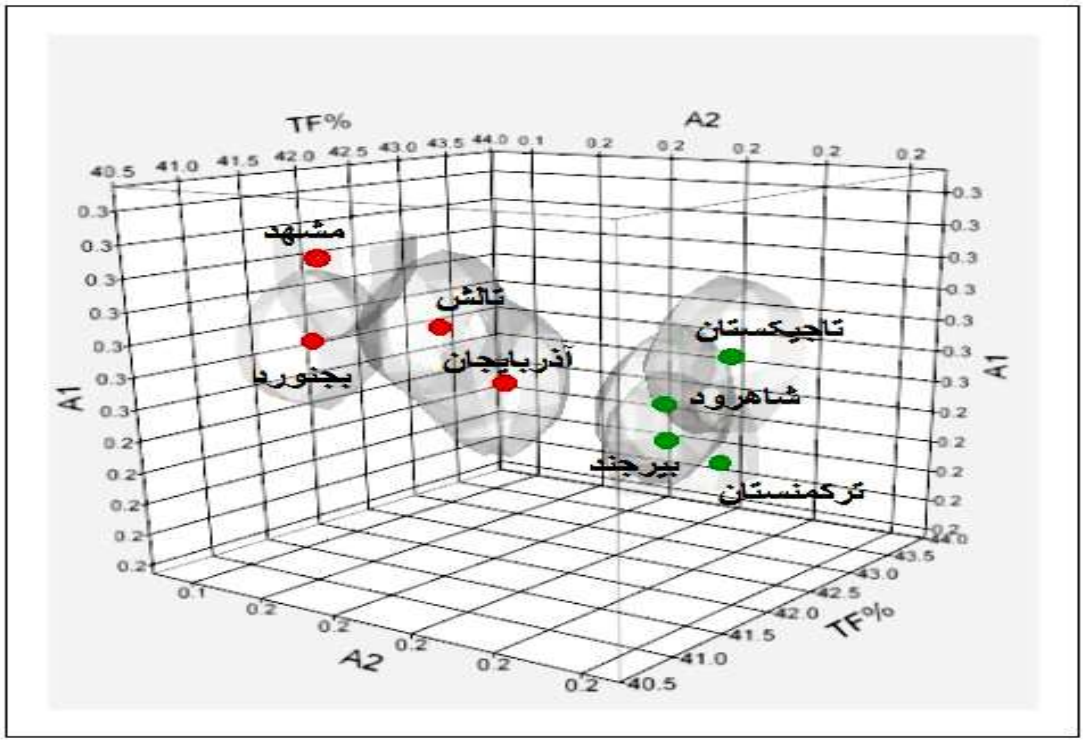


شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش Ward بر اساس ۲۷ شاخص کاریوتایپی

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis by Ward's method based on 27 Karyotype index

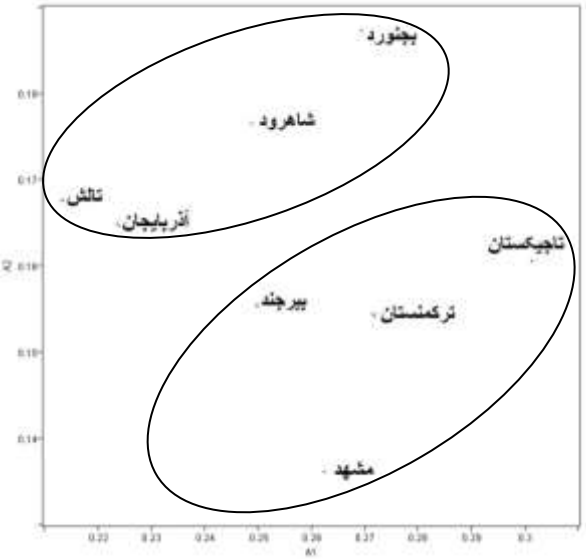
مشخص شد در اکوتیپ‌های 2n=2x=16، کروموزوم شماره ۶ ساب‌متاسانتریک و بقیه کروموزوم‌ها متاسانتریک هستند. در اکوتیپ شاهرود کروموزوم های ۷ و ۸ ساب‌متاسانتریک و۶ تلوسانتریک بود در حالیکه در اکوتیپ های 2n=2x=14کروموزوم‌های ۵ و ۷ در بجنورد و کروموزوم ۴ در ترکمنستان ساب‌متا سانتریک بودند. در مطالعات کاریوتایپی سیر ترکیه مشخص شد کروموزوم شماره ۵ ساب‌متاسانتریک می‌باشد و بقیه کروموزوم‌ها متاسانتریک هستند. وجاهت‌الهی و وحیدی، گزارش کردند کروموزوم‌های ۱و ۲ متاسانتریک هستند و بقیه کروموزوم‌ها ساب‌متاسانتریک هستند (Wajahatullah and Vahidy 1990).

Agricultural Biotechnology Journal;Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500



شکل ۳. پراکندگی اکوتیپ‌های سیر ایرانی و خارجی بر اساس مقادیر شکل کلی کاریوتایپ (TF%)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2) و شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)

Figure 3. Dispersion of Iranian garlic ecotypes and foreign specimens based on Total form percent (TF%), Inter chromosomal asymmetry index (A2) and Intra chromosomal asymmetry index (A1)



شکل ٤. پراکندگی کوتیپ‌های سیر ایرانی و خارجی بر اساس مقادیر شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2)

Figure 4. Dispersion of Iranian garlic ecotypes and foreign specimens based on Intra chromosomal asymmetry index (A1) and Inter chromosomal asymmetry index (A2)

این تفاوت در نوع و شـــکل کروموزوم‌ها به این دلیل اســـت که، در طول زمان تغییرات کروموزومی از قبیل حذف‌های کروموزومی[19]، اضافه شدگی‌کروموزومی[20] و جابه‌جایی‌های کروموزومی[21] رخ می‌دهد و باعث بروز تغییر در محل قرارگیری سانترومر و تبدیل یک نوع کروموزوم به نوع دیگر می‌شود و عامل این تغییرات ترانسپوزون‌ها هستند. در این تحقیق مشخص شد کروموزوم شـماره ۷ در اکوتیپ‌های شـاهرود و ترکمنسـتان دارای سـتلایت با طول ۶/۸ و ۳/۹۲ میکرومتر می‌باشـد. در حالیکه در مطالعات کاریوتایپی سیر ترکیه مشخص شد که کروموزوم های ۵ و ۷ دارای ستلایت با طول ۲/۳۱ و ۲/۸۷ میکرومتر می‌باشد. کوچک‌ترین کروموزوم‌ها در اکوتیپ مشهد با طول ۱۱/۴۶ و بزرگترین کروموزوم‌ها در اکوتیپ شاهرود با طول ۲۶/۰۰ میکرومتر مشاهده شد. در این تحقیق مشـخص شـد، متقارن‌ترین اکوتیپ آذربایجان و نامتقارن‌ترین اکوتیپ شـاهرود اسـت. اکوتیپ‌های آذربایجان، مشـهد، بیرجند، تاجیکســـتان و تالش دارای فرمول کاریوتایپی یکســـانی بودند و دو اکوتیپ بجنورد و ترکمنســـتان نیز فرمول کاریوتایپی یکسانی را نشان دادند و شاهرود فرمول کاریوتایپی متفاوتی را نشان داد.

جدول ۲. میانگین برخی شاخص‌های کاریوتایپی

Table 4. Average of some karyotype indices

Karyotype formula	TF%	CI	A1	A2	Ai	Rec	2n	اکوتیپ	
10m4sm	42.19	41.5	0.27	0.19	3.11	76.28	14	Bojnurd	بجنورد
14m+2sm	43.47	43.12	0.22	0.16	2.15	79.56	16	Azerbaijan	آذربایجان
14m+2sm	41.93	41.60	0.26	0.14	2.42	80.02	16	Mashhad	مشهد
10m4sm	41.94	41.21	0.27	0.15	3.04	81.38	14	Turkmenistan	ترکمنستان
14m+2sm	40.53	40.39	0.30	0.16	2.93	81.68	16	Tajikistan	تاجیکستان
14m+2sm	43.99	43.46	0.21	0.17	2.19	92.78	16	Talish	تالش
10m+4sm+2st	42.51	41.94	0.25	0.18	3.32	80.56	16	Shahroud	شاهرود
14m+2sm	42.50	41.98	0.23	0.17	2.65	80.71	16	Birjand	بیرجند

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد عدد پایه کروموزومی بین اکوتیپ‌ها متفاوت است X=7 , 8 و با توجه به اینکه تعداد کروموزم‌های این گیاه از 2n=2x=12 تا 2n=2x=18 گزارش شـده اسـت و عدد پایه کروموزومی این گیاه در گزارشـات علمی انجام شده افزایش یافته است (Banerjee 1980). می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً اکوتیپهای 2n=2x=14 قدمت بیشتری

[19] deletion
[20] duplication
[21] Translocation

دارند و اکوتیپ‌های 2n=2x=16 از آنها بوجود آمده‌اند. و با توجه به اینکه در اکوتیپ بجنورد 2n=2x=14 مشاهده شده است به نظر می‌رسد از این منطقه جغرافیایی به سایر نقاط منتقل شده است. در رابطه با اختلاف در تعداد کروموزوم‌ها می‌توان علت را جابجایی رابرتسونین[۲۲] دانست، یعنی اینکه یک کروموزوم در گونه‌ی2n=2x=14 از محل سانترومر شکسته است و تبدیل به دو کروموزوم تلوسانتریک و یا ساب‌متاسانتریک در گونه‌ی 16 کروموزومی شده است و اساساً هدف از مطالعه تنوع از طریق روش‌های سیتوژنتیکی و کاریوتایپی، کشف همین انواع تنوع در ساختار ظاهری کروموزوم‌ها است. همچنین کروموزوم‌ها از نظر اندازه و محل قرارگیری سانترومر با یکدیگر تفاوت دارند که علت این تفاوت شکست کروموزومی و ایجاد ساختار جدید، در دوباره بهم متصل شدن آن‌ها است. اگرچه در کشاورزی تکثیر سیر عموماً به شکل غیر جنسی اتفاق می‌افتد اما وجود گل در این گیاه پتاسیل اصلاح از طریق تهیه واریته‌های هیبرید را نیز فراهم می‌کند. در تهیه واریته‌های هیبرید شناسایی دورترین والدین برای محقق شدن حداکثر هتروزیگوسیتی و بهره‌برداری حداکثر از هتروزیس از اهمیت زیادی برخوردار است. این تحقیق نشان داد نژادهای دور در میان اکوتیپ‌های مورد بررسی کدامند و امکان انجام تحقیقات برای تهیه هیبریدهای احتمالی بعدی در کدام مسیر امکان موفقیت بیشتری را فراهم می‌کند.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت معنوی در اجرای پژوهش حاضر و از داوران محترم به‌خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

حسام‌زاده‌حجازی سیدمحسن، ضیایی‌نسب مهدی (۱۳۸۵) بررسی کاریولوژیکی برخی از گونه‌های جنس شبدر (*Trifolium sp.*) موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. مجله علمی پژوهشی زیست شناسی ایران. ۱۹ (۳) ۲۹۹-۳۱۳.

عالیشاه عمران، امیدی منصور (۱۳۸۷) روشهای آزمایشگاهی سیتوژنتیک گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران

فارسی محمد، قبولی مهدی، محمودنیا محسن (۱۳۸۹) سیتوژنتیک گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

یعقوبی الهام، ملک‌زاده شفارودی سعید (۱۳۹۲) بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی سیر ایران (*Allium sativum*) براساس خصوصیات سیتوژنتیکی و کاریوتایپی. مجله علمی پژوهشی ژنتیک نوین. ۸ (۴) ۴۱۱-۴۲۲.

References

Alishah O, Omidi M (2008) Laboratory methods in cytogenetics, Tehran University Press, pp.69-82 (In Persian)

Akhavan A, Saeidi H, Zarr Sh, Rahiminejad MR (2015) Chromosome numbers and karyotype features of selected species of Allium L. (*Amaryllidaceae*) sect. Acanthoprason in Iran. The Iranian J Botany 21(2), 158-164.

[22] Robertsonian translocation

Banerjee N (1980) Chromosome studies in some species of Allium. J Indian National Science 23,35-67.

Bauchan G R, Hossain M A (1998) Karyotypic analysis of N-banded chromosomes of diploid alfalfa: *Medicago sativa ssp*. caerulea and ssp. falcata and their hybrid. J Heredity 88(6), 533-537.

Cortes F, Gonzalez-Gil G, Hazen, M J (1983) C-banding and sister chromatid exchanges in three species of the genus *Allium* (*A. cepa*, *A. ascalonicum* and *A. sativum*). J Caryologia 36(3), 203-210.

Cortes F, Escalza P (1986) Analysis of different banding patterns and late replicating regions in chromosomes of *Allium cepa, A. sativum and A. nigrum*. J Genetica 71(1), 39-46.

Donsakul T, Phornphisutthimas S (2010) Karyotypes of six species in Allium (*Alliaceae*) in Thailand. J Naresuan Univ 18, 34-39.

Farsi M, Ghaboli M, Mahmoudnia M (2010) Plant Cytogenetics. Ferdowsi University of Mashhad, (In Persian)

Hesamzadeh Hejazi S M, Ziaei Nasab, M (2007) Cytogenetic study on several species of Hedysarum in natural gene bank of Iran. J Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Research 15(2), 85-94. (In Persian)

Gunjan K, Roy B K (2010) Karyotype studies in dominant species of Aloe from eastern India. J Caryologia 63(1), 41-49.

Levan A (1935) Cytological studies in Allium, VI the chromosome morphology of some diploid species of Allium. J Hereditas 20(3), 289-330.

Oroji Salmasi K, Javadi H, Miri S M (2019) Karyotype analysis of some Allium species in Iran. J Plant Physiology and Breeding 9 (2), 115-127.

Peruzzi L, Leitch I J, Caparelli K F (2009) Chromosome diversity and evolution in *Liliaceae*. J Annals of Botany103(3), 459-475.

Mollafilabi A, Hosseini M, Moosapour S (2005) Garlic agronomy (*Allium sativum L*.).
Didactic Issue of Jihad, Iran. (In Persian)

Saensouk S, Saensouk P (2021) Karyotype analysis of three species of Allium (*Amaryllidaceae*) from Thailand Biodiversitas. J Biological Diversity 22(8)

Sheidai M, Zogagi-far S, Khanafshar S, Zehzad B (2002) Karyotypic study in some Iranian species and populations of Tulipa L. (*Liliaceae*). J Caryologia 55(1), 81-89.

Stebbins GL (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Addison Wesley Publishing Co., CA.

Wajahatullah MK,Vahidy AA (1990) Karyotyping and localization of nucleolarorganizer regions in Garlic, (*Allium sativum L).* J Cytologia 55(3), 501-504.

Yaghoobi E, Malekzadeh-Shafarodi S (2014) Genetic variation of Iranian ecotypes of Garlic (*Allium sp*.) using karyotype analysis. J Modern Genetic 4(8), 411-422. (In Persian)

Yuzbasioglu D,Unal F (2004) Karyotiping, C-and Nor banding of *Allium Sativum* inturkey. Pakistan J Botany 36(2), 343-349l.

Agricultural Biotechnology Journal;Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500