Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University Gorgan Branch
Iranian Society of Medical Plants

Evaluation biochemical diversity of *Allium Sativum* native populations in different regions of Hamadan province

Leila Akbari[1*], Mehdi Kakaei[2]

1 Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Engineering Sciences, Razi University Agriculture and Natural Resources Campus, Kermanshah-Iran. Email: L.akbari@razi.ac.ir

2 Faculty of Engineering, Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University, Tehran-Iran.

Article type:
Research article

Article history
Received: 26-03-2024
Revised: 17-06-2024
Accepted: 17-06-2024

Keywords
Bulb
Diversity
Flavonoid
Soluble sugar
Total phenol

Abstract

Considering the importance of the garlic plant in the medicinal and industrial field and also the existence of little information about the distribution, diversity and biochemical characteristics of native populations, this research was carried out as a factorial experiment based on completely randomized design and three replications was carried out in the central laboratory of Razi University in 2023to group six ecotypes from different parts of Hamedan province based on their place of growth and determine their biochemical traits. The results of variance analysis of the studied traits showed a significant difference between the ecotypes in the traits of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, soluble sugar, total phenol, flavonoid, and the two leaf and seed samples. The results of examining the interaction effect of native populations in the samples indicated the significance of the total phenol content index among native populations. The native populations were grouped based on the cluster diagram and decomposition into main components, and they were placed in different groups considering their biochemical traits. Considering the geographical conditions of the samples and their presence in the same geographic latitudes, the difference between the samples may be attributed to the difference in the genotypes of the populations. There was a positive and significant correlation between chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll. There was also a positive and significant correlation between total phenol and flavonoid content. Based on the traits studied, Maryanj, Asad-abad and then Bahar-2 native populations can be introduced as desirable examples in clinical studies and can also be used for breeding programs.

Cite this article as: Akbari, L., Kakaei, M. (2024). Evaluation biochemical diversity of Allium Sativum native populations in different regions of Hamadan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.,* 12(1): 119-134.

©The author(s)
Doi:
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor:

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

ارزیابی تنوع بیوشیمیایی توده‌های بومی *Allium sativum* در مناطق مختلف استان همدان

لیلا اکبری[1*]، مهدی کاکایی[2]

[1] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم مهندسی و کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
رایانامه: L.akbari@razi.ac.ir

[2] دانشکده فنی مهندسی، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، تهران-ایران.

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۰۱/۰۷،
تاریخ بازنگری : ۱۴۰۳/۰۳/۲۸
تاریخ انتشار : ۱۴۰۳/۰۳/۲۸

واژه‌های کلیدی:
تنوع
سیر
فلاوونوئید
فنل کل
قند محلول

چکیده

با توجه به اهمیت گیاه سیر در حوزه‌ی داروئی و صنعتی و هم‌چنین وجود اطلاعات اندکی در خصوص پراکندگی، تنوع و صفات بیوشیمیائی توده‌های بومی، این تحقیق با هدف تعیین تنوع جغرافیائی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی در بین توده‌های مختلف سیر انجام شد. در این خصوص شش توده از نقاط مختلف استان همدان بر اساس محل رویش آن‌ها و با توجه به طول و عرض جغرافیائی مناطق مورد مطالعه جمع-آوری و خشک گردیدند. جهت تعیین صفات بیوشیمیائی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه رازی در سال ۱۴۰۲ اجرا گردید. پس از آنالیز داده‌های حاصل نتایج حاکی از آن است اختلاف معنی‌داری بین توده‌ها و هم‌چنین در دو نمونه برگ و سیر در صفات کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، قند محلول، فنل کل و فلاوونوئید بر اساس رویشگاه‌های مختلف وجود دارد. در بررسی اثر متقابل توده در نمونه‌ها نیز نتایج حاکی از معنی‌دار بودن شاخص محتوای فنل کل در بین توده‌ها می‌باشد. در گروه‌بندی توده‌ها بر اساس نمودار خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نمونه ها از نظر صفات بیوشیمیائی در گروه‌های مجزا قرار گرفتند. گروه‌بندی بر اساس صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه تأییدی بر گروه‌بندی آن‌ها بر اساس ارزیابی جغرافیایی حاصل از داده‌های GPS است. با توجه به شرایط جغرافیائی نمونه‌ها و حضور آن‌ها در عرض‌های جغرافیائی یکسان اختلاف بین نمونه‌ها می‌تواند ناشی از اختلاف بین ژنوتیپ نمونه‌ها باشد. در بررسی همبستگی بین صفات نیز، همبستگی مثبت و معنی-داری بین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل وجود دارد. هم‌چنین در بررسی همبستگی بین سایر صفات نیز، محتوای فنل کل و فلاوونوئید همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان دادند. در گروه‌بندی اکوتیپ‌ها بر اساس صفات مورد مطالعه می‌توان نمونه‌های اکوتیپ مریانج، بهار ۲ و سپس اسد آباد را به عنوان نمونه-های مطلوب با توجه به محتوای فلاوونوئید، کلروفیل و فنل کل با توجه به دارابودن خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها در مطالعات بالینی معرفی و هم‌چنین می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی و کشت نیز بهره برد.

استناد: اکبری، لیلا؛ کاکایی، مهدی. (۱۴۰۳). ارزیابی تنوع بیوشیمیائی توده‌های بومی *Allium sativum* در مناطق مختلف استان همدان. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۲(۱)، ۱۳۴-۱۱۹.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi:
Dor:

مقدمه

سیر (Garlic) با نام علمی (*Allium sativum* L.) گیاهی از خانواده پیاز (Alliaceae) و به عنوان دومین محصول پر مصرف پس از پیاز محسوب می‌شود. سیر یک گونه استریل دیپلوئیدی(2n=2x=16) است که به دلیل آپومیکسی اجباری عمدتاً به صورت غیرجنسی از طریق پیازهایش تکثیر می‌شود (Poljuha et al., 2021). یکی از سبزیجات غنی و حاوی مواد مغذی و خواص دارویی بالا است که برای کاهش کلسترول خون، تنظیم فشار خون و درمان اختلالات قلبی عروقی و بیماری‌های سرماخوردگی و آنفولانزا توصیه می‌گردد (Heidarzadeh and Modarres-Sanavy, 2023).

پیاز منبع غنی کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، مواد معدنی (Ca، P و Fe)، ویتامین ها (B و C) است. علاوه بر این، Quercetin نیز به عنوان یک عامل آلاکریماتیک در این گیاه می‌باشد، سیر دارای خواص ضد کلسترول، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضد سرطان و سایر خواص پیاز نیز می باشد، هم‌چنین می‌تواند برای کسب ارز در کشورها مورد ارزش گذاری قرار گیرد (Bal et al., 2021). طبق آمار سازمان غذا و کشاورزی آمریکا سطح زیر کشت تولید سیر در دنیا ١/٦٦٢/٣٨٤ میلیون هکتار و میزان تولید آن ٢٩/١٤٩/٤٣٧/٦٦ میلیون گزارش شده است. قاره آسیا بیشترین سطح زیر کشت و تولید را به خود اختصاص داده است. تولید کنندگان برتر این محصول در دنیا شامل، چین، هند، جمهوری کره، ایالت متحده آمریکا، بنگلادش، روسیه، اسپانیا و اوکراین می باشند(FAO, 2023).

با توجه به اینکه ایران از نظر غنای گیاهی به‌عنوان کشوری ممتاز و با تنوع زیستی بالا و هم‌چنین دارای ١١ اقلیم از ١٣ اقلیم شناخته شده جهانی است. می‌توان بیان داشت که گیاه سیر نیز در کشور ایران دارای کیفیت، طعم و عطر مناسب به حساب می‌آید. بعداز پیاز، سیر پراستفاده‌ترین گیاه از جنس آلیوم می‌باشد که به لحاظ ارزش بالینی و تغذیه‌ای از اهمیت بالایی برخوردار است. ایران از لحاظ کشت و مصرف سیر قدمت طولانی دارد و استان همدان یکی از مناطق مهم تولید سیر در ایران می‌باشد که همواره مورد توجه زارعین و محققین حوزه کشاورزی و دارویی نیز بوده است. بشر در ابتدا برای علاج آلام و بیماری‌های خود داروهای مورد نیاز را از طبیعت و به خصوص از گیاهان تهیه می‌نمود. در حدود ١٥٠ است که داروهای شیمیایی به دنیا عرضه می‌شوند. مقایسه مصرف داروهای گیاهی و شیمیایی نشان می‌دهد که داروهای شیمیایی علاوه بر تأثیر خوب دارای عوارض جانبی نیز می‌باشند که علائم برخی از آن‌ها تا آخر عمر باقی می‌ماند. در مقابل آن‌ها عوارض داروهای گیاهی به نسبت کمتر و در خیلی موارد بدون عارضه می‌باشند. در برنامه‌های اصلاحی مجموعه‌های ژرم‌پلاسم منبع خوبی برای تنوع هستند. برای گونه‌های تکثیر شده رویشی مانند سیر و موسیر، شناسایی مجموعه های ژرم‌پلاسم بر اساس مورفولوژی و هم‌چنین محتوای فیتوشیمیایی آن‌ها برای تعیین و هم‌چنین انتخاب کلون‌هایی که دارای ارزش زراعی، بیولوژیکی و سلامتی برتر هستند بسیارمهم است (Bhausal et al., 2019; Barboza et al., 2020). سیرها به دلیل دارابودن متابولیت‌های ثانویه از ارزش غذایی بالایی برخوردار هستند و هم‌چنین از طریق تولیدات مختلف بر اساس اجزای زیست فعال خود برای محافظت از گیاهان نیز استفاده می‌شوند. اعتقاد بر این است که منشأ سیر از آسیای مرکزی و قزاقستان بوده است. هم‌چنین برای مدت طولانی بیش از ٥٠٠٠ سال در چین و هند به عنوان غذا و دارو مور استفاده قرار می‌گرفته است، در حالی ٢٠٠ سال قبل از میلاد مسیح در مصر نیز مورد کشت قرار می‌گرفته است (Bizuayehu et al., 2021). امروزه بسیاری از کشورها مانند برزیل،

کره، کنیا، ژاپن، تانزانیا و ایتالیا از جمله اتیوپی از سیر به عنوان چاشنی در بسیاری از فرهنگ‌های تهیه غذا و طب مدرن استفاده می‌کنند (Panthee et al., 2006). از طرفی کلروفیل به‌عنوان رنگدانه سبز موجود در گیاهان عاملی جهت جذب نورخورشید و تبدیل آن به انرژی گیاه است، هم‌چنین مصرف غذاهای حاوی کلروفیل باعث پاک شدن جریان خون، از بین رفتن بوی بد دهان و بدن، بی اثر شدن مواد سرطان زا و جلوگیری از فساد دندان ها می‌شود. هم چنین به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان قوی باعث کاهش تخریب سلول‌ها به وسیله عوامل سرطان زای محیطی می‌شود.

امروزه ترکیبات فنلی گیاهان، یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند (Shahidi, 2000). یک گروه ویژه از متابولیت‌های ثانویه آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنلی هستند که نقش بسیار مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند. وجود تنوع به عنوان ماده خام و اولیه در علم اصلاح نباتات برای حیات سیستم‌های بیولوژیکی بسیار ضروری می‌باشد. ادامه کشاورزی رایج به مرور سبب کاهش تنوع شده است. پیازهای سیر حاوی رطوبت (٦٢/٣٨- ٦٨/٣٣ درصد)، خاکستر (١/١٦- ١/٨٧ گرم در ١٠٠ گرم وزن تر)، کربوهیدرات (٢٣/١٣-٣٦/٠٣ درصد)، چربی (٠/٣٧- ٠/١٢ گرم / ١٠٠ گرم در وزن تر)، پروتئین (٤/٦٢-٧/٤٥ گرم در وزن تر) است. علی‌رغم وجود چند ژنوتیپ وحشی بارور، بیشتر مجموعه‌های ژرم پلاسم در سراسر جهان از گیاهان غیرگلدار تشکیل شده است و بنابراین انتخاب کلونال روش انتخابی مؤثر در پرورش سیر است (Parreno et al., 2023; Benke et al., 2021). با وجود مدت زمان طولانی آپومیکسی اجباری در سیر، کولتیوارهای آن تنوع بزرگی را از تفاوت‌های بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی را نشان می‌دهند (Ammarellou et al., 2014).

در ارزیابی برخی خصوصیات بیوشیمیائی گیاه سیر در مناطق شمال و شمال غرب ایران ارقام مورد مطالعه در سه گروه آماری متنوع دسته‌بندی شدند. در این مطالعه صفات بیوشیمیائی تطابق بسیار بالایی با مناطق جغرافیایی مورد کاشت نشان داده‌اند (Ammarellou et al., 2022). در مطالعه‌ای دیگر با هدف بررسی همبستگی فنوتیپی توده‌های بومی سیر ایرانی در شرایط دیم نتایج بیانگر آن بوده است که استفاده از تجزیه همبستگی برای گزینش جهت بهبود یک یا چند صفت نتایج مطلوب و مناسبی را به همراه دارد. لذا همبستگی و نحوه اثر صفات بر یکدیگر می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی مورد توجه اصلاحگران قرار گیرد (Kakaei, 2023). هم‌چنین در مطالعه برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو اکوتیپ سیر نتایج حاکی از عدم تغییر معنی‌دار مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، نسبت کلروفیل a/b، کلروفیل کل و نسبت کاروتنوئید به کلروفیل تحت شرایط تنش است. ولیکن تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در مقدار کاروتنوئید شده است که این می‌تواند به سبب اکسید شدن کاروتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن و صدمه دیدن ساختار ترکیبی آن‌ها باشد. هم‌چنین مقدار قندهای محلول در شرایط تنش خشکی افزایش یافته در حالی که تغییر معنی‌داری در محتوای پرولین تحت تنش خشکی مشاهده نگردیده است (Akbari et al., 2017). در پژوهشی خواص بیوشیمیایی گیاه سیر از حیث مواد معدنی و مواد بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که نتایج حاصل از این مطالعه جهت مطالعات گسترده‌تر دارای ارزش بسیار است (Snirc et al., 2023). هم‌چنین در گروه‌بندی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیائی در پیاز بر اساس روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، چهار مؤلفه‌های اصلی اول

به خوبی توانسته‌اند گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را انجام دهند (Bal et al., 2022).

عملکرد پایین این محصول به دلیل عوامل زیستی و غیرزیستی فراوان از جمله کمبود ارقام پرمحصول، در دسترس نبودن بذر مرغوب، نامتعادل بودن مصرف کود، نبود امکانات آبیاری، عدم وجود مدیریت مناسب در درمان بیماری‌ها، آفات و اقدامات زراعی، قابلیت ذخیره سازی کم و نبود امکانات بازاریابی مناسب می‌باشد (Amin et al., 2014). با توجه به اینکه هیچ پیاز یا بذر دارای شناسنامه‌ای در کشور در مورد سیر وجود ندارد و از سوی دیگر به دلیل عدم وجود ارقام سیر اصلاح شده و سازگار با عملکردهای زراعی بهبود یافته، کشاورزان فقط از رقم محلی با تولید سنتی خود استفاده می کنند. بنابراین غربال تنوع بیوشیمیایی و حتی مورفوفیزیولوژیکی بسیار ضرورت دارد. به نظر سلایق انتخاب منطقه‌ای در مراکز سیر کار کشور و هم‌چنین انتخاب طبیعی بلند مدت و نیز موتاسیون‌های ژنی ایجاد شده بر روی ارقام مورد تحقیق و سازگاری‌های اپی‌ژنتیکی اقلیمی توانسته است اثرات تأثیرگذار خود را بر صفات مورد ارزیابی بگذارد (Ammarellou et al., 2014). با وجود موقعیت مناسب منطقه و اهمیت محصول سیر از نظر تجاری و هم‌چنین درآمد پایین کشاورز از تولید و بهره‌وری هنوز رضایت بخش نیست. بنابراین با توجه به پتانسیل بالای استان همدان و هم‌چنین اهمیت این گیاه از نظر طب سنتی و دارویی، این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی توده‌های مختلف سیر مناطق مختلف استان همدان از جنبه بیوشیمیایی و پراکنش جغرافیائی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ارزیابی رویشگاه‌های مورد بررسی: این تحقیق با هدف ارزیابی جغرافیائی، شناسایی و تنوع برخی پارامترهای بیوشیمیایی در توده‌های مختلف جمع-آوری شده سیر در اواخر خردادماه ١٤٠٢ انجام شد. اطلاعات حاصل از شش موقعیت جغرافیائی از توده‌ها بر اساس GPS ارائه شده است(جدول ١).

جدول ١: مشخصات جغرافیائی محل‌های جمع‌آوری توده‌های مورد مطالعه

ردیف	محل جمع‌آوری	طول جغرافیائی Longitude	عرض جغرافیائی Latitude	ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude above sea level
١	مریانج (Maryanj)	٤٨/٤٥٧٩٢	٣٤/٨٢٩٩٤	١٧٨٧
٢	بهار ١ (Bahar 1)	٤٨/٤٥٦٥٤	٣٤/٩١٠٠٢	١٧٣٥
٣	بهار ٢ (Bahar2)	٤٨/٤٤٨٠٤	٣٤/٩٢٣٠٢	١٧٣٥
٤	سلولان (collulan)	٤٨/٤٣٠٣١	٣٤/٨٢٦٤٠	٢٠٣٠
٥	اسد آباد (Asad Abad)	٤٨/٣٩٠٧٢	٣٤/٨٠٤٩٠	١٥٠٠
٦	امامزاده کوه-توئیجین (Toeejiin)	٤٨/٠٨٤٨٤	٣٤/٧٧٤٦٧	٢١٠٠

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی: پس از جمع‌آوری توده‌های مورد بررسی از مناطق مختلف استان همدان و تعیین موقعیت جغرافیائی نمونه‌ها، جهت تعیین محتوای ترکیبات بیوشیمیائی و گروه‌بندی نمونه‌ها آزمایشی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور توده در شش سطح (روستای مریانج، دو نمونه شهر بهار، سلولان، اسد اباد و امامزاده کوه توئیجن) و فاکتور نمونه در دو سطح (برگ و سیر) بر پایه طرح کاملاً

تصادفی با سه تکرار در سال ١٤٠٢ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده علوم و مهندسی پردیس کشاورزی دانشگاه رازی انجام شد. بخش‌های هوائی و سیرهای هر یک از نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به منظور خشک کردن به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه-ها به مدت ٧٢ ساعت در آون با دمای ٥٠ درجه‌سانتی گراد قرار داده شدند. سپس هر یک از نمونه‌ها به صورت جداگانه پودر و آسیاب شدند (شکل١). جهت تهیه عصاره‌های گیاهی (یک گرم) پودر از هر یک از نمونه‌های جمع‌آوری شده (برگ و ساقه، سیر) با استفاده از ١٠ میلی‌لیتر حلال متانول به مدت ٢٤ ساعت خیسانده و در چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس با استفاده از سانتریفیوژ مدل (Hettick) هر یک از آن‌ها به مدت ١٥ دقیقه با سرعت ٣٠٠٠ دور در دقیقه جهت حذف ناخالصی‌های موجود در عصاره‌ها سانتریفیوژ شدند، جهت تعیین محتوای مواد مؤثره و تعیین ترکیبات بیوشیمیائی مایع رویی آن‌ها جمع‌آوری و در ویال‌های جداگانه تا زمان اندازه‌گیری صفات بیوشیمیائی ریخته شدند. سپس جهت تعیین محتوای فنل کل موجود در عصاره‌ها، معرف (Folin-Ciocalteu) که به نسبت ١٠:١ رقیق شده بود به هر یک از عصاره‌های گیاهی افزوده شد. سپس به محلول حاصل ١ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار اضافه گردید و به مدت یک ساعت در دمای اتاق و در شرایط تاریکی شیک گردید. با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٧٦٥ نانومتر جذب محلول‌ها قرائت گردید. با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید، جهت تعیین محتوای فنل کل برحسب میلی‌گرم اکی والان‌های گالیک اسید در ١٠٠ گرم عصاره استفاده گردید (Barboza et al., 2020). جهت تعیین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b وکلروفیل کل نیز از روش (Lichtenthaler, 1983) استفاده گردید. تعیین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز بر اساس ($mgr.ml^{-1}$) با استفاده از الکل اتانول ٩٦٪ انجام شد و محاسبه مقادیر هر یک از آن‌ها بر اساس عدد جذب مربوطه و با استفاده از روابط ریاضی ذکر شده محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1983).

$$\text{Chlorophyll a} = (13.95 \times A_{665}) - (6.88 \times A_{649})$$
$$\text{Chlorophyll b} = (24.96 \times A_{649}) - (7.32 \times A_{665})$$
$$\text{Total chlorophyll} = (\text{Chlo a} + \text{Chlo b})$$

که در این فرمول‌ها A جذب نوری نمونه‌ها، Chl a کلروفیلa، Chl b کلروفیل b

در تعیین محتوای قند کل($mgr.L^{-1}$) با استفاده از ازت مایع نمونه‌های مورد نظر پودر و سپس ٠/٢ گرم درون ویال ٢ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ١/٥ میلی-لیتر اتانول ٩٦ درصد اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ٥ دقیقه ورتکس شده و سپس در ٣٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بخش رویی حاصل از سانتریفیوژ جدا و درون ویال‌های جدید ریخته شد. سپس از هر یک از نمونه‌ها مقدار مشخص برداشت شده و به آن‌ها محلول فنل پنج درصد اضافه و سپس یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ٩٨٪ (v/v) به محلول بالا اضافه گردید. در نهایت پس از ٤٥ دقیقه، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤٨٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. جهت تعیین مقادیر قند محلول نمونه‌ها از منحنی استاندارد رسم شده با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز استفاده شد.جهت تعیین مقدار ترکیبات فلاوونوئیدی ($mgr.gr^{-1}$) نیز از روش نور سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (Lemma et al., 2022). به این ترتیب که، به ٥٠٠ میکرولیتر عصاره گیاهی، ١/٥ میلی‌لیتر متانول، ١٠٠ میکرولیتر محلول یک درصد کلرید آلومینیوم، ١٠٠ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ٢/٨ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از نیم ساعت

نگه‌داری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ٤١٥ نانومتر قرائت گردید.

توده‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان همدان

شکل ۱: تهیه عصاره حاصل از پودر نمونه‌ها و آماده سازی جهت تعیین محتوای صفات بیوشیمیائی

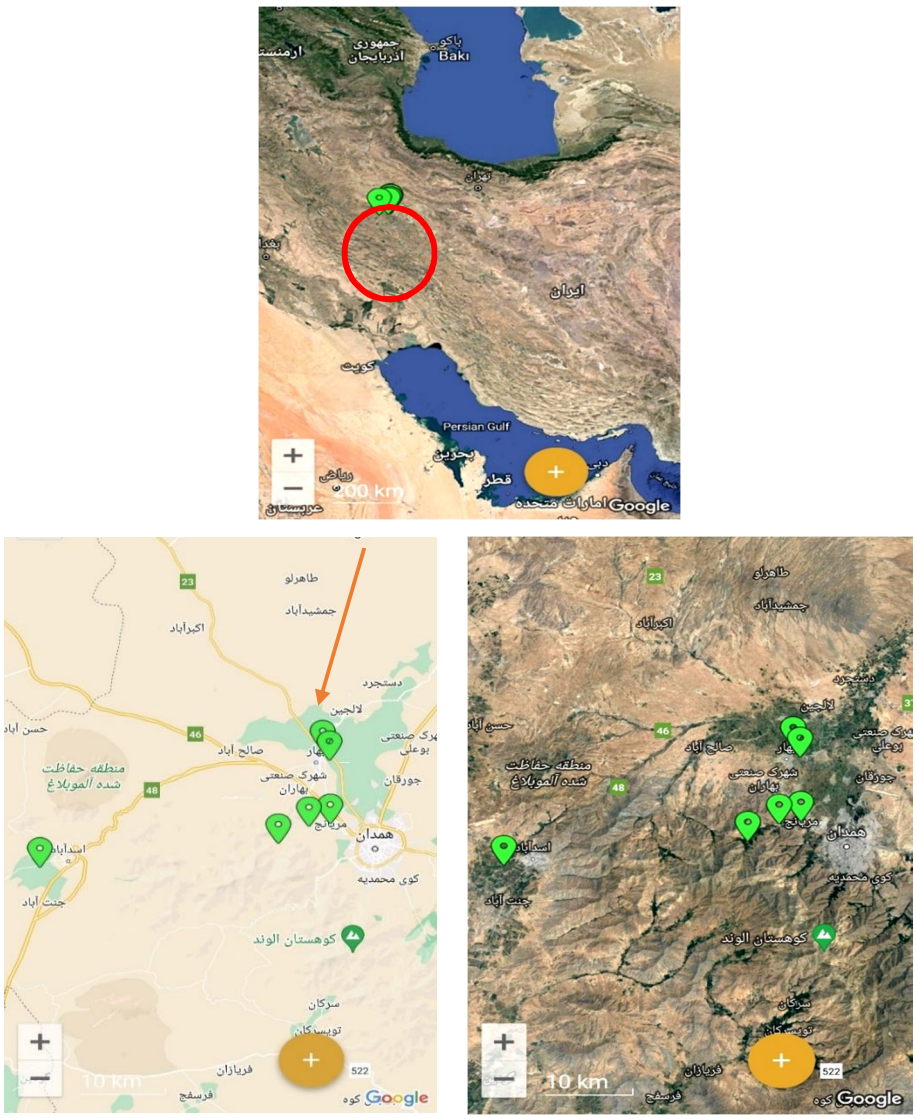
تجزیه و تحلیل‌های آماری

پس از تعیین صفات مورد نظر، داده‌های حاصل جمع‌آوری و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS در سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از برنامه اکسل، PAST، Graphpad و Heatmaper استفاده گردید.

نتایج

موقعیت جغرافیائی توده‌ها بر روی نقشه: نتایج حاصل از ارزیابی پراکندگی جغرافیائی شش توده‌ی جمع آوری شده بر اساس طول جغرافیائی، عرض جغرافیائی و ارتفاع از سطح دریا با توجه به داده‌های حاصل از GPS، موقعیت‌های مکانی و پراکندگی نمونه‌ها را با استفاده از نرم‌افزار GPS Fields Area Measure نشان داد که، توده‌های مورد بررسی در طول جغرافیائی مشابه و عرض‌های جغرافیائی و ارتفاع از سطح دریای متفاوت قرار دارند و بر روی نقشه نتایج ارائه شده است (شکل ۲). با توجه به تعیین موقعیت توده‌ها بر روی نقشه می‌توان بیان داشت که نمونه‌های مورد بررسی در طول‌های

جغرافیائی مشابه و با شرایط آب و هوائی یکسان قرار دارند که سایر تفاوت‌های بیوشیمیائی می‌تواند ناشی از تفاوت در ژنتیک توده‌ها باشد.



شکل ۲: موقعیت جغرافیائی محل‌های جمع‌آوری توده‌های مورد مطالعه براساس داده‌های GPS توسط نرم افزار GPS Fields Area Measure

تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در بین توده-های سیر: در نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات بیوشیمیائی مورد بررسی نتایج نشان داد که بین توده‌های مورد بررسی و همچنین نمونه‌ها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد، که می‌تواند نشان دهنده اختلاف بین توده‌های مورد مطالعه باشد که هر یک دارای منشأ متفاوتی هستند (جدول ۲). بنابراین اختلاف بین نمونه‌ها می‌تواند ناشی از اثر ژنوتیپ در بین توده‌ها باشد.

در نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات اصلی صفات بیوشیمیائی مورد مطالعه نیز نتایج نشان داد که در تعیین توده‌ها با بالاترین و پائین‌ترین محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و فلاوونوئید نمونه‌های مریانج، بهار۲ و اسدآباد به ترتیب بیشترین

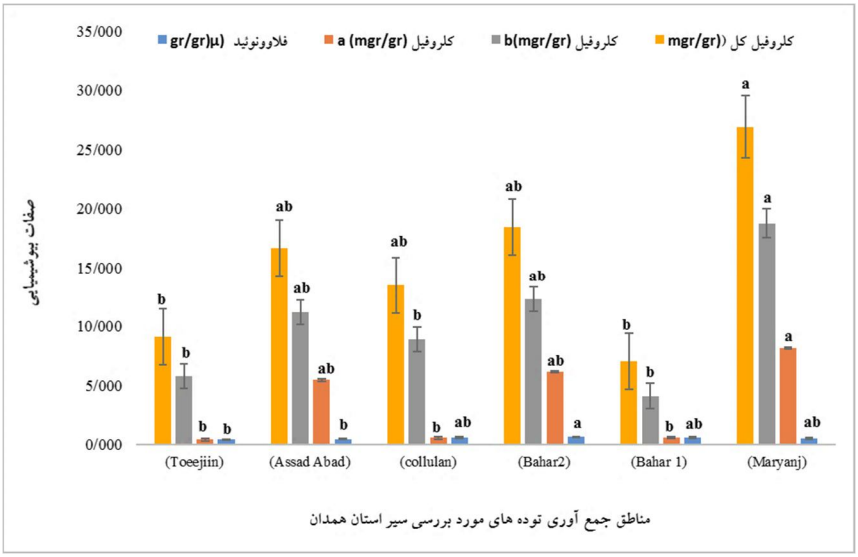
و سپس نمونه‌های سلولان، توئیجن و بهار۱ کمترین مقادیر را دارا بوده‌اند. در اینجا نمودارهای ستونی مربوط به هر یک از توده‌ها سهم و میزان شرکت هر یک از صفات مورد مطالعه را به درستی نشان داده است(شکل ۳). هم‌چنین بیشترین و کمترین محتوای قند محلول مربوط به نمونه‌ی مریانج (۱۲۷۵/۲۹۸ میلی‌گرم بر لیتر) و نمونه اسد آباد (۱۰۹۵/۷۱۹ میلی-گرم بر لیتر) بوده است. در بررسی محتوای فنل کل بیشترین میزان مربوط به برگ‌ها و سپس سیر در هر یک از نمونه‌های مورد بررسی بوده است. بالاترین میزان فنل کل در برگ‌ها به ترتیب در نمونه برگ سلولان، اسدآباد و سپس امامزاده کوه توئیجن است.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات بیوشیمیائی مورد مطالعه در توده‌های مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	قند محلول soluble sugar	فنل کل phenol	فلاوونوئید flavonoids
توده	٥	١٢/٥٩٨**	٩٧/٠٦٥*	١٧٨/٨٥٧*	٠/٠١٣*	١٠/٩٨٦**	٠/٠٤٣**
نمونه	١	٤٧٥/٤٤٣**	١٤٨٣/٠٥٣**	٣٦٤٨/٩٥٩**	٤/٩٤٤**	١٦٤/٧٧٨**	٢٣/٦٦٩**
توده×نمونه	٥	١١/١٣١^{ns}	٨٣/٩٧٣^{ns}	١٥٥/٤٩٩^{ns}	٠/٠١٨^{ns}	١٢/١٤٦**	٠/٠٣٦^{ns}
خطای آزمایشی	٢٤	١٠/٥٠٨	٥٥/٥٣٢	١١٣/٧١٥	٠/٠١٦	٢/٣٠١	٠/٠١٨

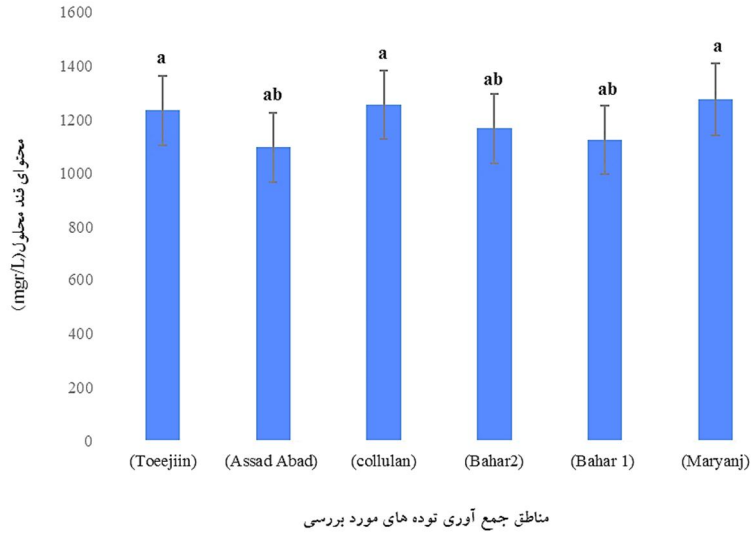
ns غیر معنی‌دار، *، ** معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns: non-significant, *, ** significant at 5 and 1 percent probability level



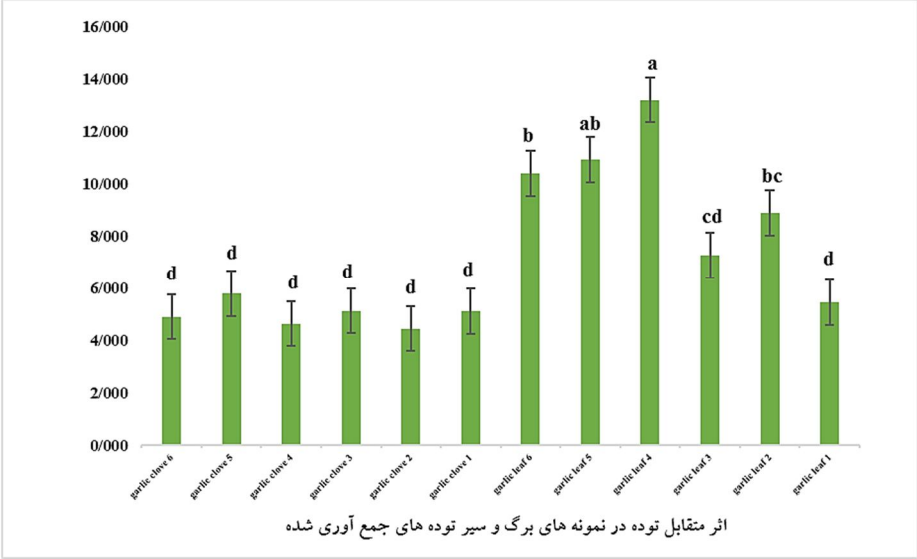
شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین اثرات اصلی صفات بیوشیمیائی حاصل از بررسی توده‌های مورد مطالعه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین در صفات مورد بررسی نیز نشان داد که توده روستای مریانج و سپس بهار ۲ از محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار هستند.



شکل ٤: نمودار مقایسه میانگین اثر اصلی محتوای قند محلول($mgr.L^{-1}$) در توده‌های مورد مطالعه

در بررسی مقایسه میانگین اثرات اصلی صفات مورد مطالعه نتایج نشان داد که به ترتیب بیشترین مقادیر ترکیبات بیوشیمیائی را برگ نمونه‌ها و سپس حبه‌های سیر خود اختصاص داده‌اند. در تعیین ترکیبات بیوشیمیائی در اثر متقابل بین توده‌ها در دو نمونه مورد بررسی، بیشترین مقادیر مربوط به صفت فنل کل بوده است. در بررسی برخی از نظر صفات بیوشیمیائی مورد مطالعه در بین توده‌ها به ترتیب بیشترین مقادیر مربوط به نمونه‌های مریانج، بهار ۲ و سپس اسدآباد بوده است (شکل ٤).



شکل ٥: مقایسه میانگین اثر متقابل محتوای فنل کل ($mgr.ml^{-1}$) در بررسی توده‌های مورد مطالعه

در بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل توده‌ها و نمونه برگ و سیر نیز نتایج حاکی از آن است که محتوای فنل کل در برگ‌ها بیشتر از محتوای فنل کل در حبه‌های سیر بوده است و تقریباً

میزان فنل محلول در بین توده‌ها در نمونه سیر بین توده‌های مورد بررسی مشابه بوده، بیشترین میزان فنل کل مربوط به نمونه برگ در توده سولان و سپس اسدآباد بوده است (شکل ٥).

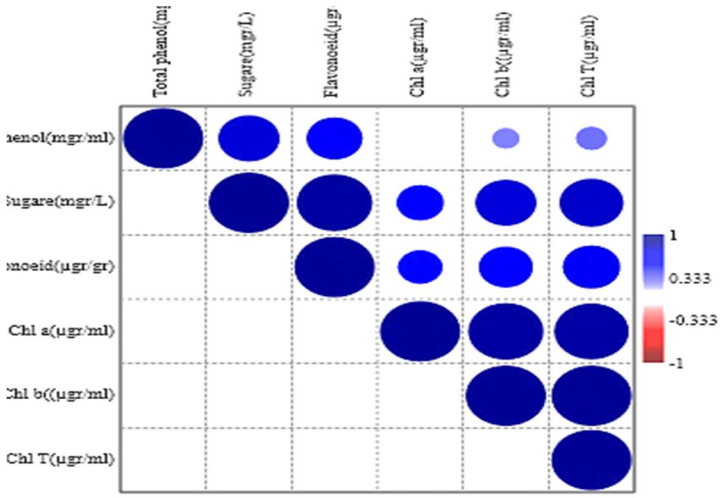
در نتایج حاصل از همبستگی بین صفات مورد بررسی (جدول ٣) نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار بین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نشان داده شده است. در بررسی محتوای فنل کل و فلاوونوئید نیز همبستگی منفی و معنی‌دار فلاوونوئید با کلروفیل کل و همبستگی مثبت و معنی‌دار بین فنل کل و محتوای کلروفیل کل نشان داده‌اند. محتوای فنل و فلاوونوئید نیز دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار است.

جدول ٣: همبستگی بین صفات مورد بررسی در گروه‌بندی توده‌های سیر

	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Flavonoid	total phenol	Sugare
Chlorophyll a	١	٠/٩٧٨**	٠/٩٩١**	−٠/٩١٩**	−٠/٩٥٢**	−٠/٣٨
Chlorophyll b		١	٠/٩٩٨**	−٠/٧٨٠**	−٠/٩١٢**	٠/٢٢٤
Total Chlorophyll			١	٠−/٨٤٦**	٠/٩٥٧**	٠/١٧٨
flavonoid				١	٠/٦٤٧**	٠/٠٨٣
total phenol					١	٠/٦٩١**
Sugare						١

ns غیر معنی‌دار، *، ** معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

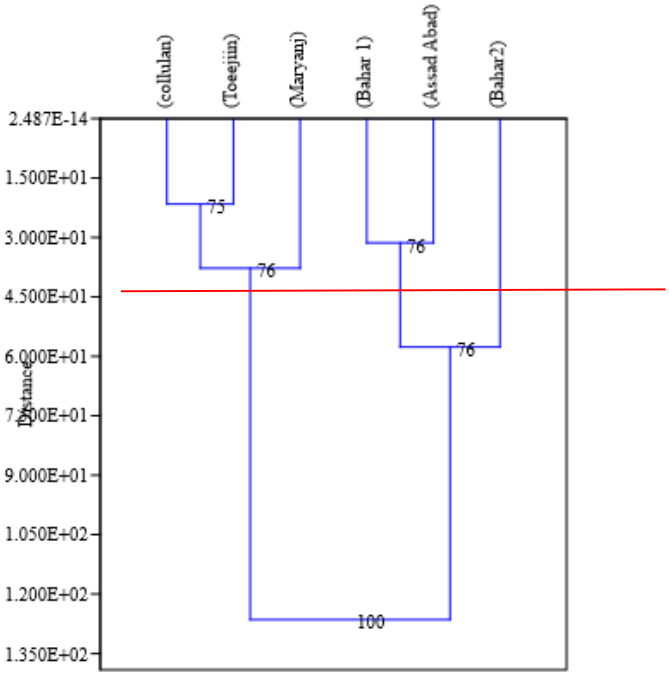
ns: non-significant, *, ** significant at 5 and 1 percent probability level



شکل ٦: نمودار همبستگی بین صفات مورد بررسی در مطالعه صفات بیوشیمیائی توده‌های سیر (Allium)

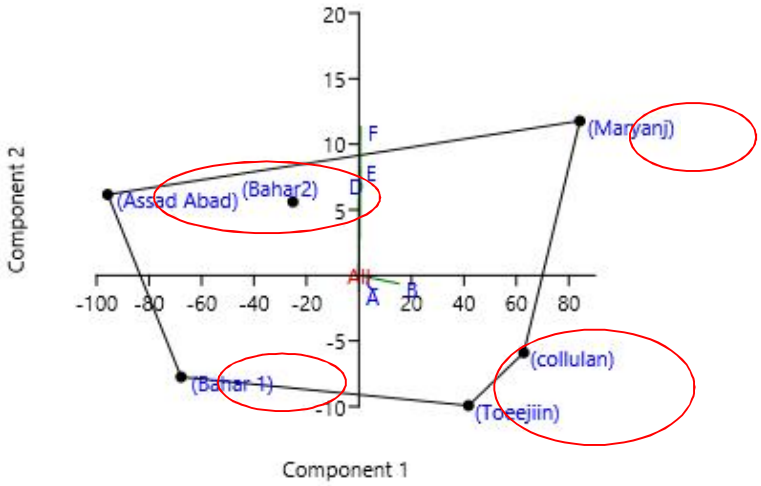
با توجه به تصویر حاصل از همبستگی بین صفات با استفاده از نرم افزار Heat map نتایج حاصل از جدول همبستگی با نتایج حاصل از میزان همبستگی در جدول ٣ مطابقت دارد. میزان معنی‌داری و نوع ارتباط بین صفات توسط رنگ‌ها مشخص شده است بنابراین این شکل از ارتباط می‌تواند توجیه مناسبی برای میزان همبستگی بین صفات را نشان دهد (شکل ٦). در گروه‌بندی توده‌ها بر اساس صفات بیوشیمیائی مورد بررسی نیز نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد، نمونه‌های سولان و توئیجن در یک گروه، نمونه

مریانج در گروه دوم، نمونه‌های بهـار ۱ و اسـدآباد در گروه سوم و نمونه بهار ۲ در یـک گـروه مجـزا قـرار گرفتند (شکل ۷).



شکل ۷: دندروگرام خوشه‌ای حاصل از گروه‌بندی اکوتیپ‌ها بر اساس صفات مورد بررسی

هم‌چنین در گروه‌بندی توده‌ها بر اساس تجزیه بـه مؤلفه‌های اصلی نیز، نتایج گـروه‌بنـدی نشـان داد کـه نمونه‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مورد بررسـی در گروه‌های مجزا قرار می‌گیرند (شکل ۸). گروه‌بندی بر اساس دو مؤلفه اول توجیه بیشتری را برای گـروه-بندی توده‌ها انجام داده‌اند (جـدول ٤). در تجزیـه بـه مؤلفه‌های اصلی نمونه اسدآباد، بهار ۲ در یک گـروه، توده مریانج در گروه دوم، نمونه بهار ۱ در گروه سوم و نمونه‌های سولان و امامزاده کوه (توئیجین) در گروه چهارم قرار گرفتند.



شکل ۸: گروه‌بندی توده‌ها بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توده‌ها در صفات اندازه‌گیری شده

جدول ٤: درصد واریانس مربوط به گروه‌بندی توده‌ها با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

PC	Eigenvalue	% variance
١	٥٤٣٦/٣٦٠	٩٨/٥١٣
٢	٨٠/٣٣٩	١/٤٥٥
٣	١/٥٦٨	٠/٠٢٨٤
٤	٠/١٣٤٣	٠/٠٠٢٤
٥	٠/٠٠٩٧	٠/٠٠١

گروه‌بندی بر اساس مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که دو مؤلفه‌ای اول و دوم بر اساس میزان کلروفیل‌ها و محتوای فنل به ترتیب (٩٨/٥١٣ و ١/٤٥٥) سهم را در تأئید گروه‌بندی‌ها داشته‌اند (جدول ٤). در مطالعه ١٤ خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیائی ژنوتیپ-های مختلف پیاز بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، گروه بندی بر اساس چهار مؤلفه اول با واریانس تجمعی ٧١/٥٣ درصد انجام شده و در نمودار بای پلات نیز این گروه‌بندی تأئید گردیده است (Bal et al., 2021). با توجه به اطلاعات گروه‌بندی‌ها می‌توان بیان داشت که تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نقش بسزایی در پیشبرد پژوهش‌های بوم شناختی، حفاظت و نگه‌داری بانک‌های ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی دارد. به طوریکه پیشرفت ژنتیکی در طبقه‌بندی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌هامی‌تواند درصد خطای یک برنامه اصلاحی تا را مقدار قابل توجهی کاهش دهد(Hashemi et al., 2012). بنابراین می‌توان بیان داشت که یک اصلاح‌گر در هنگام انتخاب در یک برنامه هیبریداسیون سیر باید بر گروه بندی‌های دو بعدی توجه ویژه‌ای داشته باشد.

بحث

با توجه به اهمیتداروئی، اقتصادی و تجاری-صنعتی سیر، علاقه به افزایش تولید، عملکرد و توسعه واریته‌های جدید به سرعت در حال افزایش است (Cunha et al., 2012). در این خصوص اطلاعات بسیار اندک و ناقصی در خصوص پراکندگی، تنوع و طبقه‌بندی آن وجود دارد و این مورد علاوه بر ایران بلکه در سراسر جهان به گزارش-هایی شده است. ایران از لحاظ کشت و مصرف سیر قدمت طولانی دارد و استان همدان یکی از مناطق مهم تولید سیر در ایران می‌باشد. با توجه به اینکه توده‌های مورد مطالعه در یک عرض جغرافیائی قرار گرفته‌اند و از آب و هوای تقریباً مشابهی برخوردار هستند. می‌توان بیان داشت که اختلاف بین توده‌ها از نظر صفات بیوشیمیائی مربوط به ژنوتیپ نمونه-هاست. اختلاف ارتفاع بین نمونه‌ها نیز می‌تواند بر محتوای این ترکیبات اثر گذار باشد. با توجه به درجه اهمیت گیاه سیر، کاربرد آن در مطالعات بالینی و هم-چنین اصلاحی، با توجه به اهداف مورد نظر می‌توان گونه‌های مختلف را انتخاب کرد. از طرفی با توجه به اهمیت ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی می‌توان توده-هایی که حاوی مقادیر بیشتری هستند را جهت تولید نمونه‌های هیبرید مورد استفاده قرار داد. هم‌چنین در ارزیابی ترکیبات فیتوشیمیایی، محتوای فنلی و فلاوونوئیدی گیاه سیرموک، محتوای فنل و فلاوونوئیدی عصاره آبی گیاه به ترتیب ١١٨/٠٦±٠/٠٢ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره ی خشک و ٩٠/٦±٠/٠٣ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره خشک محاسبه شده است (Asadi et al., 2022). هم‌چنین در استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، می‌توان بیان داشت که استفاده از این روش

می‌تواند در گروه‌بندی توه‌ها و صفات بیوشیمیایی و تعیین بهترین نمونه بر اساس رویشگاه جهت اهداف اصلاحی و هم‌چنین کاربرد دارویی مؤثر باشد. هم‌چنین نتایج نشان داد که ویژگی‌های اقلیمی می‌تواند تأثیر مثبتی بر محتوای ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان دارویی سیر داشته باشد. در نقاط مختلف جهان، کشت و تکثیر متوالی گیاه سیر سبب پیدایش توده‌های متعددی شده است که از لحاظ بیوشیمیائی و ریخت‌شناختی تفاوت‌های قابل توجهی با یکدیگر دارند. شناخت محتوا و سطح تنوع ژنتیکی منابع گیاهی هر محصول، اولین و مهم‌ترین گام در جهت برآورد اهداف اصلاحی می‌باشد(Etoh et al., 2002) که در ارتباط با برنامه‌های اصلاحی گیاه سیر، نژادهای محلی و توده‌های بومی به‌دلیل سازگاری خاص با شرایط محیطی و دارا بودن ژن‌های مفید از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج حاصل از صفات بیوشیمیائی و هم‌چنین ارزیابی جغرافیائی و موقعیت مناطق مختلف جهت کشت این محصول اقتصای، می‌توان توده اسدآباد و هم‌چنین بهار را با توجه به شرایط اقلیمی منطقه، طول و عرض جغرافیائی و هم‌چنین محتوای بالای میزان فنل، فلاوونوئید با توجه به دارابودن خاصیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات و اهمیت آن‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه مهم و هم‌چنین خواص درمانی ارزشمند گیاه سیر و نیز با توجه به وجود سایر پارامترها در نمونه‌های برگ و پیاز آن نسبت به سایر توده‌ها به عنوان نمونه‌ای مؤثر در مطالعات بیشتر آزمایشگاهی، بالینی و هم‌چنین مطالعه جهت درمان‌های داروئی معرفی نمود. بر اساس محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شاخص مانند فنل و فلاوونوئید و هم‌چنین اهمیت این ترکیبات در گیاه داروئی سیر، توده‌های برتر را در مطالعات بالینی جهت آنالیزهای بیشتر آزمایشگاهی معرفی کرد. با تعیین محتوای ترکیبات موثره مانند آلیسین و تأثیر آن بر درمان می‌توان از توده‌های بومی در مطالعات بالینی و درمانی به عنوان یک گیاه داروئی پرکاربرد بهره برد. هم‌چنین می‌توان در کاشت این محصول نیز جهت حفظ توده‌های بومی به عنوان ذخایر ارزشمند ژنتیکی جهت مطالعات اصلاحی و کشت در سطح وسیع‌تر در منطقه همدان و هم‌چنین مناطق با موقعیت جغرافیایی مشابه بهره برد. علاوه بر این مناطق غرب کشور و به خصوص استان همدان دارای پتانسیل قابل توجهی از محیط زیست کشاورزی است که برای تولید این گیاه پرکاربرد می‌تواند مناسب باشد.

References

Akan, S., Yazar, S. 2019. Evaluation and Comparison of Some Parameters in Four Garlic Varieties. Journal of the Institute of Science and Technology. 9(4): 1866 – 1875.

Akbari, Sh., Kafi, M. and Rezvan B, Sh. 2017. The Effect of Drought Stress and Plant Density on Biochemical and Physiological Characteristics of Two Garlic (*Allium sativum* L.) Ecotypes. Iranian Journal of Field Crops Research. 14 (4): 665-674.

Amin, M., Sh, Tadele and T, Selvaraj. 2014. White rot (*Scelerotium cipivorum* Berk)-an aggressive pest of onion and garlic in Ethiopia: an overview. Journal of Agricultural Biotechnology & Sustainable Development. 6 (1): 6-15.

Ammarellou A., Yousefi A.R., Heydari M., Uberti D., Mastinu, A. 2022. Biochemical and botanical aspects of *Allium sativum* L. Sowing. Biotech. 11(12):1-16.

Ammarellou, A., Kazemitabar, K., and Najafei Zarreini, H. 2014. Effects of genetic and environmental conditions on bulbing quality of 38 Iranian garlic (*Allium sativum* L.) cultivars. 3th National Congress on Medicinal Plants. Mashhad, Iran. P: 331.

Ammarellou, A., Kazemitabar, S.K. and Najafi zareni, H. 2013. Morpho-physiological and biochemical investigation of some of *Allium sativum* L. ecotypes in the north and northwest regions of the country. Eco-phytochemical of Medicinal Plants. 2 (3): 10-17. (In Persian)

Asadi M, Hadi F, Hejazi SH, Azarbani F. 2022. Effect of Aqueous Extract of Allium Canadense on the Activity of the Inhibited Acetylcholinesterase Enzyme by Organophosphate Diazinon. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 30 (1): 95 -102.

Bal S., Maity, TK, Sharangi AB, Majumdar, A. 2019. Quality assessment in association with yield attributes contributing improved yield in onion (*Allium cepa* L.). Journal Crop Weed. 15(3):107-115.

Bal, S., Tapan, M., & Sharangi, Amit. 2021. Morphological and biochemical characterization of onion (*Allium cepa* L.) germplasm by principal component analysis. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 10:121-124.

Barboza K., Salinas M.C., Acuña C.V., Bannoud F., Beretta V., García-Lampasona S., Burba J. L., Galmarini C. R., Cavagnaro P. F. 2020. Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics and solids. Scientia Horticulturae. 261: 108900.

Benke, A.P., Krishna, R., Mahajan, V., Ansari, W.A., Gupta, A.J., Khar, A., Shelke, P., Thangasamy, A., Shabeer, T.P.A., Singh, M. et al. 2021. Genetic Diversity of Indian Garlic Core Germplasm Using Agro-Biochemical Traits and SRAP Markers. Saudi Journal of Biological Sciences. 28: 4833–4844.

Bhusal R., Islam S., Khar A., Singh S., Jain N., Tomar B. S. 2019. Diversity analysis and trait association study for antioxidants and quality traits in landraces, farmers' varieties and commercial varieties of Indian short day garlic (*Allium sativum* L.). Genetic Resources and Crop Evolution. 66: 1843–1859.

Bizuayehu D., Netsanet T., Getachew A. 2021. Growth and bulb yield of garlic as influenced by clove size. The Scientific World Journal.

Etoh, T., and Simon, P.W. 2002. Diversity, Fertility and seed production of garlic. In: Rabinowitch, H.D. and Currah, L. (Eds.) Allium crop science: Recent Advances CABI international, New York. Pp: 101-117.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Statistics. 2023. "Garlic, production quantity (tons) for Ethiopia. http://www.factfish.com/statistic/garlic/.

Hashemi, M., Amirinia, S., Harki Nejad, M.T., and Banabazi, M.H. 2012. Evaluation of ancester of some Holstein cows using florsent Taged microsatellite markers. Iranian Journal of Animal Science Research. 4(2): 154-158 (In Persian).

Heidarzadeh A., Modarres-Sanavy S.A.M. 2023. Effect of amino acids combination on the quantitative and qualitative characteristics of garlic (*Allium Sativum* L.). Plant Productions 46(2): 237-249. (In Persian).

Jafar, M., Degefa, G., Wakgari, G., & Benti, G. 2021. Adaptation trail of garlic (*Allium sativum* L.) varieties in the high land of eastern hararghe zone, Oromia, Ethiopia. American Journal of Life Sciences, 9(1): 7-10.

Kakaei, M. 2023. Evaluation of the phenotypic correlation of Iranian garlic landraces under rainfed conditions. 13th Iranian Horticultural Science Congress. 18-21 September, Gorgan, Iran. (In Persian)

Lemma E., Yusuf, Z., Mulugeta, D., Sultan, S., Megersa, I., S, Mengistu, and T, Jemal. 2022. Physicochemical properties and biological activities of garlic (*Allium sativum* L.) bulb and leek (*Allium ampeloprasum* L. var. Porrum) leaf oil extracts. Hindawi. The Scientific World Journal. 6573754:1-7.

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

Panthee D.R., Kc R.B., Regmi H.N., Subedi P.P., Bhattarai S., Dhakal J. 2006. Diversity analysis of garlic (*Allium sativum* L.) germplasms available in Nepal based on morphological characters. Genetic Resources. Crop Evol. 53(1): 205–212.

Parreño, R.; Rodríguez-Alcocer, E.; Martínez-Guardiola, C.; Carrasco, L.; Castillo, P.; Arbona, V.; Jover-Gil, S.; Candela, H. 2023. Turning Garlic into a Modern Crop: State of the Art and Perspectives. Plants 12: 1212.

Poljuha, D.; Franić, M.; Kralj, I.; Weber, T.; Šatović, Z.; Ban, D.; Toth, N.; Dumičić, G.; Kereša, S.; da Cunha, C.P.; et al. 2021. Genetic Diversity and Structure Analysis of Croatian Garlic Collection Assessed by SSR Markers. Folia Horticulture. 33: 157–171.

Shahidi F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. Die Nahrung, 44(3): 158–163.

Snirc, M., Lidikova, J., Ceryova, N., Pinter, E., Ivanisova, E., Musilova, J., Vollmannova, A. and Rybnikar, S. 2023. Mineral and phytochemical profiles of selected garlic (*Allium sativum* L.) cultivars. South African Journal of Botany. 158: 319-325.