

Expression Pattern of *AsFLC* Gene and Its Relationship with the *AsSOC1*, *AsAPI* and *AsAP2* Genes during Vernalization in Bolting, Semi- and Non-bolting Iranian Garlics

Fahimeh Ghaemizadeh¹, Farshad Dashti^{2*}

* Corresponding author: fdashti@basu.ac.ir

Introduction

At present, garlic production is completely dependent on asexual propagation, but a wide diversity of bolting and scape formation is observed in garlic. Based on their ability to produce flowering stem (scape), garlic clones are classified into non-bolting, semi-bolting, and bolting clones. In non-bolting clones, scape is not formed or abort at early stages. In semi-bolting clones, cessation of scape development often results in the formation of very short scape between the leaves and development of the elongated leaf-like bracts in the center of the inflorescence. In bolting clones after exposure to low temperature during autumn and winter (vernalization) and long day during spring, long and thick scape is formed which contains inflorescence with flowers. Transition from vegetative to reproductive phase and formation of scape, inflorescences and flowers in plants includes a series of continuous stages which control by several gene groups. Vernalization reduces the expression of the flowering inhibitors like *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, resulting in increased flowering integrators expression like *SUPPRESSOR OF OVER EXPRESSION OF CONSTANT 1 (SOC1)*, *APETALA 1 (API)* and *ARETALA 1 (AP2)*. So, a correct understanding of the vernalization control genes expression pattern will improve garlic flowering and breeding programs. The aim of this study is to investigate the relative expression of *AsFLC*, *AsSOC1*, *AsAPI* and *AsAP2* before and after vernalization in Iranian bolting, semi-bolting and non-bolting garlic clones.

Material methods

In this study, three garlic clones including, bolting (Mazand Zabol), semi-bolting (Langrud), and non-bolting (Hamedan) garlic clones were selected from vegetable collection of Bu-Áli Sina university (Hamedan, Iran). At first, RNA extracted from meristems of three clones monthly, from 4 to 20 weeks after planting (for *AsFLC*, *AsSOC1*, *AsAPI* and *AsAP2* expression analysis) and from inflorescence of semi-bolting and bolting clones at 24 weeks after planting (for *AsSOC1*, *AsAPI* and *AsAP2* expression analysis) at 2 biological replicates. Then, cDNA synthesized using Oligo d(T) primer and relative expression pattern of the mentioned genes were analyzed using quantitative Real time- PCR.

Results and dissection

The highest expression of the *AsFLC* in all three clones were observed at 4 weeks after culture (before vernalization). Its expression in non-bolting clone at 4 weeks after planting was 2.03 and 1.13 times more than bolting and semi-bolting garlic, respectively. After vernalization *AsFLC* expression decreased in the meristem of the all three clones. The decrease in the relative expression of *AsFLC* in bolting garlic occurred at a faster rate compared to the other two garlic clones. Then the relative expression of the *AsSOC1* was increased in the meristem during vegetative to reproductive transition phase (12 weeks after planting). The highest *AsSOC1* expression was observed in the meristem of bolting garlic at 12 weeks after planting which was 10.98 and 18.41 times more than the meristem of semi-bolting and non-bolting garlic, respectively. *AsAPI* was expressed in the meristem of three clones in the vegetative to reproductive phase, but its highest expression was in bolting clone at 12 weeks after planting and was 1.22 and 3.64 times more than the meristem of semi-bolting and non-bolting clone respectively. *AsAP2* was just expressed in the meristem of semi-bolting and bolting clones and after reproductive transition. The highest expression of the *AsAP2* was observed at 16 weeks after planting in the meristem of semi-bolting and bolting garlic, which was higher in bolting garlic (2.33 times) in comparison to semi-bolting garlic. Decreases in the expression of the *AsFLC* during vernalization and increases in the expression of the *AsSOC1* and *AsAPI* during vegetative to reproductive phase in the meristem may lead to scape formation in bolting garlic. But the higher *AsFLC* and the lower *AsSOC1* and *AsAPI* expression in the meristems of non- and semi bolting garlics in comparison to bolting garlic inhibit scape formation. So that in non-bolting garlic scape aborts and in semi-bolting garlic short and thin scape formed in the middle of leaves. According to the results *AsSOC1* and *AsAPI* were expressed in the inflorescence of semi-bolting and bolting garlic. *AsSOC1* and *AsAPI* relative expression in the inflorescence of bolting garlic were 4.28 and 11.25 times more than semi-bolting garlic, respectively. *AsAP2* was just expressed in the inflorescence of the bolting clone but wasn't expressed in the inflorescence of semi-bolting garlic. The differences in the expression pattern of *AsSOC1*, *AsAPI* and *AsAP2* in the inflorescence of the garlic clones could be the reason of the abnormal inflorescence in semi-bolting garlic.

Conclusion:

Finally, it seems that *AsFLC* is as a flowering inhibitor and *AsSOC1* and *AsAP1* are as flowering integrators in bolting garlic. As *AsFLC* expression decreased after vernalization and *AsSOC1* and *AsAP2* were expressed highly in the time of vegetative to reproductive transition in the meristem of all clones, and there was difference in the bolting of clones, it is suggested that these genes may influence flower induction but their low relative expression cause incomplete bolting in semi-bolting garlic and forbid bolting in non-bolting garlic.

Key words: *Allium sativum*, Flowering inhibitor gene, Flowering integrator gene, Real-Time PCR

مجله علمی پژوهشی
پایه علمی
انتشارات

بررسی الگوی بیان ژن *AsFLC* و ارتباط آن با بیان ژنهای *AsAPI*، *AsSOC1* و *AsAP2* در مسیر بهارش سیرهای گلده، نیمه گلده و غیر گلده ایرانی

فهیمة قائمی‌زاده، فرشاد دشتی*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

* نویسنده مسئول fdashti@basu.ac.ir

چکیده

درک الگوی بیان ژن‌های مسیر بهارش در همگروه‌های (کلون‌های) مختلف سیر جهت نیل به گلدهی و بهبود برنامه‌های اصلاحی این گیاه حائز اهمیت است. بدین منظور الگوی بیان ژن‌های *AsFLC* (بازدارنده گلدهی)، *AsSOC1*، *AsAPI* و *AsAP2* (محرک‌های گلدهی) در سیر گلده، نیمه گلده و غیر گلده ایرانی با استفاده از Real-Time PCR ارزیابی شد. برای این منظور استخراج RNA و سپس ساخت cDNA از مریستم انتهایی هر سه همگروه (ماهیانه پس از کشت) و گل آذین سیر گلده و نیمه گلده صورت گرفت. بیشترین بیان *AsFLC* در هر سه همگروه در ۴ هفته پس از کاشت (قبل از بهارش) مشاهده شد و در سیر غیر گلده در مقایسه با سیر گلده و نیمه گلده به ترتیب ۲/۰۳ و ۱/۱۳ برابر بیشتر بود. پس از بهارش بیان *AsFLC* در هر سه همگروه کاهش و بیان *AsAPI* و *AsSOC1* در مرحله تبدیل مریستم رویشی به زایشی افزایش یافت. بیشترین میزان بیان *AsAPI* و *AsSOC1* در ۱۲ هفته پس از کاشت در سیر گلده مشاهده شد که به ترتیب ۱۸/۴۱ و ۲/۲۱ برابر بیشتر از سیر غیر گلده بود. بیان *AsAP2* با کمی تاخیر و در ۱۶ هفته پس از کاشت در سیر گلده و نیمه گلده به بیشترین میزان خود رسید و در سیر گلده ۲/۳۳ برابر سیر نیمه گلده بود. در مجموع این احتمال وجود دارد که کاهش بیان *AsFLC* طی بهارش و افزایش بیان *AsSOC1* و *AsAPI* طی انتقال مریستم به فاز زایشی در سیر گلده منجر به تشکیل ساقه گلدهنده شود. اما بیان بالای *AsFLC* و سپس بیان پایین *AsSOC1* و *AsAPI* ممکن است به عدم تشکیل ساقه گلدهنده در سیر غیر گلده و ساقه کوتاه و غیر طبیعی در سیر نیمه گلده منجر شود. همچنین به نظر میرسد بیان پایین *AsAPI* و عدم بیان *AsAP2* در گل آذین سیر نیمه گلده از دلایل تشکیل گل آذین ناقص در این همگروه باشد.

واژگان کلیدی: ژن بازدارنده گلدهی، ژن محرک گلدهی، *Allium sativum*، Real-Time PCR

مقدمه

سیر یک گونه دیپلوئید ($2n=2x=16$) از خانواده آماریلیداسه و با ارزش اقتصادی فراوان است. امروزه تولید سیر بطور کامل وابسته به تکثیر غیر جنسی آن است. با این حال تنوع وسیعی از نظر گلدهی در این گیاه مشاهده شده است. ژنوتیپ‌های سیر بر اساس تشکیل ساقه گلدهنده به سه گروه غیر گلده، نیمه گلده و گلده طبقه بندی می‌شوند. در انواع غیر گلده ساقه گلدهنده تشکیل نشده و یا در مراحل اولیه سقط می‌شود. در انواع نیمه گلده، توقف نمو ساقه گلدهنده اغلب باعث

ایجاد ساقه گلدهنده بسیار کوتاه حاوی اسپات توخالی می‌گردد. در انواع گلده، ساقه گلدهنده همراه با گل آذین حاوی گل و سوخیزه‌های هوایی تشکیل می‌شود (Takagi, 1990; Simon & Jenderek, 2003). در انواع گلده بسته به ژنوتیپ پس از تشکیل تعداد برگ مشخص، گیاه به بلوغ فیزیولوژیکی رسیده و بعد از قرار گرفتن در شرایط القاء کننده گلدهی (بهارش)، مریستم رویشی به زایشی تبدیل می‌شود. گلدهی به شدت تحت تاثیر ژنتیک است به طوری که برخی همگروه‌ها با وجود شرایط القایی هرگز گل نمی‌دهند (همگروه‌های غیرگلده)، در حالی که همگروه‌های دیگر به سهولت گل می‌دهند (Takagi, 1990). در سیر پس از القا گلدهی، ساقه گلدهنده به تدریج طویل شده و پس از آن گل آذین تمایز می‌یابد (Rotem et al., 2011).

گلدهی مسیری پیچیده است و محرک‌های محیطی یا درونی با تنظیم بیان مجموعه‌ای از ژن‌های بازدارنده و محرک گلدهی این مسیر را کنترل می‌کنند (Medard & Yanofsky, 2001). اغلب این ژن‌ها از خانواده ژنی *MADS-BOX* بوده و فاکتورهای نسخه برداری کد می‌کنند. در گیاهان دولپه‌ای نیازمند به بهاره‌سازی، ژن (*FLC*) نظیر *FLOWERING LOCUS C* به میزان قابل توجهی در فاز رویشی بیان شده و از بیان ژن‌های محرک گلدهی نظیر *SUPPRESSOR OF OVER EXPRESSION OF CONSTANT 1 (SOC1)* و *LOCUS T (FT)* جلوگیری می‌کند. در این گیاهان پس از بهارش بیان ژن *FLC* کاهش و ژن‌های محرک گلدهی بیان و گلدهی را القا می‌کنند (Kim & Sung, 2014). این بیان ژن‌های هویت مریستم گل نظیر *APETALA1 (API)* و *APETALA1 (API)* را منجر شده که در تبدیل مریستم رویشی به زایشی و تشکیل مریستم گل آذین موثر می‌باشند. برخی از ژن‌های این گروه دارای عملکرد دوگانه بوده و به عنوان ژن محرک گلدهی نیز عمل می‌کنند (Hepworth et al., 2002). الگوی بیان ژن‌های طی بهارش در تک‌لپه‌ای‌ها می‌تواند از دو مسیر مختلف صورت گیرد. در گذشته تصور بر این بود که در این گیاهان فعالیت سه ژن *VRN1* (محرک گلدهی)، *VRN2* (بازدارنده گلدهی)، *VRN3* (محرک گلدهی) را تنظیم می‌کند. اما تحقیقات نشان داد که همولوگ *FLC* در تک‌لپه‌ای‌ها نیز وجود دارد و طی بهارش بیان آن کاهش یافته و گلدهی القا می‌گردد (Sharma et al., 2020).

مطالعات وسیعی در ارتباط با ساختار و الگوی بیان ژن‌های بازدارنده و محرک گلدهی در طیف وسیعی از گیاهان صورت گرفته است. ژن *FLC* به عنوان مهمترین بازدارنده گلدهی برای اولین بار در آرآیدوبسیس شناسایی شده است (Searle et al., 2006; Helliwell, 2006; Deng et al., 2011). در جو دو نسخه از ژن مشابه با *FLC* تحت عنوان *BdMADS37* و *HvOS2* شناسایی شده است. بیان این ژن‌ها طی بهارش کاهش یافته و به دنبال آن بولتینگ و افزایش طول ساقه صورت می‌گیرد (Greenup et al., 2010; Ruelens, 2013).

بیان *SOC1* به عنوان یک ژن محرک گلدهی با بهارش و طی کاهش بیان ژن *FLC* در آرآیدوبسیس افزایش می‌یابد. در انواع جهش یافته این ژن، تاخیر در گلدهی دیده می‌شود (Yoo et al., 2005; Brunner et al., 2002). در بسیاری از گیاهان تک‌لپه‌ای، ژن‌های مشابه *SOC1* نظیر *HvSOC1* در جو، *TrCMADS1* در سوسن، *DoSOC1* و *DnAGL19* در ارکید شناسایی شده است. در تمامی موارد گفته شده بیان این ژن‌ها باعث انتقال گیاه از فاز رویشی به زایشی می‌شوند (Nakamura et al., 2005; Yoo et al., 2005; Papaefthimiou et al., 2012; Ding et al., 2013; Liu et al., 2016).

API برای اولین بار در آرآیدوبسیس و به عنوان ژن هویت مریستم گل و ژن هویت اندام گل در کاسبرگ و گلبرگ شناسایی شد. اما همولوگ آن در گیاهان تک‌لپه‌ای مانند گندم، برنج و لولیوم تمیولتوم به عنوان محرک گلدهی نیز عمل می‌کند (Irish & Litt, 2005). در گیاه لولیوم تمیولتوم دو ژن *LtMADS1* و *LtMADS2* با بیشترین میزان شباهت ساختاری به ژن *API* شناسایی شده‌اند. اما در لولیوم تمیولتوم ابتدا در مقادیر کم در مریستم انتهایی در فاز رویشی بیان شده و پس مواجه با طول روز بلند (شرایط القا گلدهی) گلدهی

افزایش قابل توجهی می‌یابد (Gocal et al., 2001; Murai et al., 2003; Fornar et al., 2004; Yalovsky et al., 2000;). در تک لپه‌ای‌های پتالوئیدی نظیر ارکید و لیلیوم بیان *API* مشابه گندم، برنج و چچم به هنگام انتقال از فاز رویشی به زایشی در مریستم انتهایی افزایش یافته و مشابه با آرابیدوسیس در مراحل اولیه تشکیل گل‌آذین و گل‌های منفرد نیز بیان می‌شود (Chen et al., 2008; Yu & Goh, 2000).

AP2 در آرابیدوسیس دارای نقش دوگانه بوده و به عنوان ژن هویت مریستم گل و ژن هویت اندام گل عمل می‌کند. همچنین بیان ژن *LFY* و *API* را در مریستم تنظیم می‌کند (Ohto et al., 2005; Yant et al., 2010). در ذرت نیز دو ژن مشابه *AP2* به نام‌های *ids1* و *sid1* شناسایی شده است. این ژن‌ها در مریستم انتهایی، سرآغاز گل‌آذین و گل‌های منفرد بیان شده و باعث ایجاد گل‌آذین و آغازش مریستم گل در گل‌آذین ذرت می‌شود (Chuck et al., 2008).

همانطور که گفته شد اکثر ارقام تجاری سیر عقیم بوده، بذر تولید نکرده و از طریق رویشی تکثیر می‌شوند. این مساله امکان تلاقی هدفمند و تولید بذر با هدف فعالیت‌های اصلاحی را غیر ممکن می‌کند. از این رو شناسایی ژن‌های مسیر گلدهی و مقایسه بیان آن‌ها در کلون‌های سیر اطلاعات مفیدی را به منظور انواع دستوری ژنتیکی، اعمال تیمارهای خاص هورمونی، همزیستی با قارچ و... (با هدف کاهش یا افزایش میزان بیان ژن‌ها) در جهت بهبود گلدهی و انواع فعالیت‌های اصلاحی در سیر میسر می‌کند.

تاکنون پژوهش‌هایی در ارتباط با برخی از ژن‌های کنترل کننده مسیر گلدهی در سیر صورت گرفته است. ساختار و الگوی بیان ژن *gaLFY* در یک ژنوتیپ گلده سیر شناسایی و نقش آن به عنوان یک ژن محرک گلدهی و ژن هویت مریستم مشخص شده است (Rotem et al., 2011). در پژوهشی دیگر توالی‌های رونوشت ژن‌های مرتبط با گلدهی در اندام‌های رویشی و زایشی یک ژنوتیپ گلده سیر و با کمک تکنیک *RNA sequencing* تعیین شده است (Kamenetsky et al., 2015). الگوی بیان ژن‌های موثر در تشکیل اندام‌های گل (ژن‌های مدل ABCDE نظیر *API-3*، *AG*، *PI*، *SEP1-3*)، ساختار و الگوی بیان ژن *AGL6* به عنوان ژن موثر بر گلدهی و باروری گل در سیر گلده و ژن‌های محرک گلدهی (*gaLFY*، *AsFT*) در اندام‌های مختلف برخی از همگروه‌های سیر ایرانی نیز مشخص شده است (Ghaemizadeh et al., 2018, 2019, 2024). با این حال تاکنون هیچ پژوهشی در ارتباط با الگوی بیان ژن بازدارنده گلدهی *FLC*، و ژن محرک گلدهی *SOC1* در سیر صورت نگرفته است. همچنین الگوی بیان *API-2* طی نمو زایشی مریستم و نقش آن‌ها به عنوان ژن محرک گلدهی و هویت مریستم گل در سیر مشخص نشده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی الگوی زمانی بیان ژن‌های *FLC*، *SOC1*، *API* و *AP2* در مریستم انتهایی سیر گلده، نیمه گلده و غیر گلده ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و نمونه برداری

برای انجام این تحقیق سه هم‌گروه سیر گلده (مازند زابل)، نیمه گلده (لنگرود) و غیر گلده (همدان) از کلکسیون بخش سبزیکاری گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انتخاب و سوخچه‌ها در ۳۰ آبان ماه ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی کشت شدند. به منظور بررسی الگوی بیان ژن *FLC* (بازدارنده گلدهی) و ژن‌های *SOC1* و *API-2* نمونه گیری از مریستم انتهایی (۴ تا ۵ میلی‌متر) هر سه همگروه از آذر ۱۴۰۱ تا فروردین ۱۴۰۲ (به صورت ماهیانه) صورت گرفت. همچنین برای ژن‌های *SOC1* و *API-2* نیز نمونه‌گیری از گل‌آذین سیر گلده و نیمه

گلدۀ در اردیبهشت انجام شد. تمام نمونه برداری‌ها در دو تکرار بیولوژیکی صورت گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری در ازت مایع قرار داده شده و تا قبل از استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

استخراج RNA و ساخت cDNA

استخراج از مریستم انتهایی و گل آذین با استفاده از کیت تجاری RNXplus (سینا ژن، ایران) صورت گرفت. کمیت RNA استخراج شده با روش اسپکتوفوتومتری (نانودرآپ مدل ۲۰۰۰، ترمو ساینٹیفیک، آمریکا) سنجیده شدند. ساخت cDNA با استفاده از کیت تجاری 2 Step-RT-PCR (Vivantis، مالزی) و آغازگر *oligo d(T)* انجام شد. محصول cDNA بدست آمده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آنالیز بیان نسبی ژن با تکنیک Real-Time PCR

واکنش Real-Time PCR با استفاده از کیت تجاری SYBR green YTA (یکتا تجهیز آزما، ایران) و با دستگاه تشخیص Light-Cycler 98 Real-Time PCR (Roche، آلمان) انجام شد. در این تحقیق از ژن رمزکننده *Actin* به عنوان ژن مرجع (Shalome et al., 2015) استفاده شد. آغازگرهای مناسب برای تکثیر ژن‌های *SOCI* و *API 2* از توالی‌های جمع‌آوری شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI و با برنامه *Primer Quest* موجود در پایگاه اینترنتی *IDT* به نشانی اینترنتی <http://www.eu.idtdna.com/PrimerQuest/home> طراحی شدند. همچنین به منظور بررسی الگوی بیان ژن *FLC* از آغازگر طراحی شده توسط (Ruelens et al., 2013) استفاده شد. مشخصات آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است. مخلوط واکنش شامل مستر میکس *SYBR green (1x)* (یکتا تجهیز آزما، ایران)، ۱۰۰ نانوگرم cDNA، ۰/۲ میکرومولار از هر یک از آغازگرهای مستقیم و معکوس در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد. برنامه دمایی شامل ۵ دقیقه واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۴۰ چرخه شامل ۵ ثانیه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. تمامی واکنش‌ها در دو تکرار بیولوژیکی و دو تکرار تکنیکی انجام و برای هر ژن در هر آزمایش یک کنترل منفی (بدون cDNA) در نظر گرفته شد. پس از استخراج نتایج خام از دستگاه Real-Time PCR، تکرارهایی که دارای تکثیر غیر اختصاصی (بیش از یک پیک در منحنی ذوب) بودند از داده‌های آزمایش حذف شدند. در این پژوهش نمونه با بالاترین میزان CT (کمترین میزان بیان ژن) به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. لذا نمونه شاهد برای هر ژن به صورت جداگانه انتخاب و میزان بیان نسبی ژن‌ها در نمونه‌های مختلف با روش $\Delta\Delta CT$ و نرم افزار REST® محاسبه گردید (Pfaffle et al., 2001; Livak and Schmittgen, 2001).

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

Table 1- Characteristics of primers used for real-time RT-PCR

نام پرایمر Primer name	توالی Sequences
<i>AsFLC</i>	F-CAA-TCTGAGGATGAAGGTGTCACA R-GCTTGACAAGTTGTTTCGCTTTCT
<i>AsSOCI</i>	F-TGTCCGCGTTTCATTCTTCT R-AATTCCAGCAAAAGAC
<i>AsAPI</i>	F-TCCATGGAGGCAACAAATTC R-CGTAATCCAAATATCAGCATTGG

AsAP2

F-CTCTTCTCTGCCGCACTTTC

R-AATTCGGATTGGTCATCCAC

Actin

F-ACTCCGTGTTGCTCCTGAAG

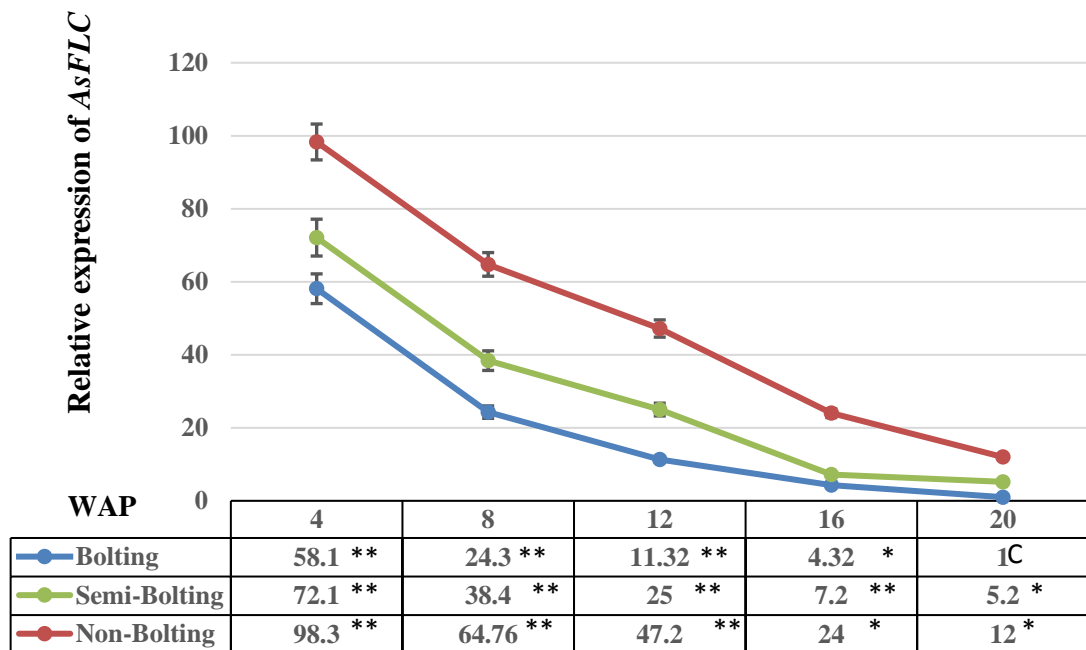
R-GCATACAGGGAAAGCACAGC

نسخه چاپی انتشار

نتایج و بحث

الگوی بیان ژن *AsFLC*

بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان سی تی برای ژن *AsFLC* (کمترین میزان بیان ژن) در مریستم سیر گلده (۲۰ هفته پس از کاشت) صورت گرفت. از این رو این مرحله به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در هر سه همگروه بالاترین میزان بیان نسبی *AsFLC* در هفته چهارم پس از کاشت مشاهده شد. در سیر غیر گلده بالاترین میزان بیان ژن *AsFLC* در ۴ هفته پس از کاشت (۹۸/۳ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. سپس بیان ژن روند نزولی داشت تا جایی که در غیر گلده در ۲۰ هفته پس از کاشت به کمترین میزان خود رسید (۱۲ برابر نسبت به شاهد). این روند نزولی در سیر گلده و سیر نیمه گلده نیز مشاهده شد اما کمترین بیان *AsFLC* در سیر گلده در مقایسه با شاهد در ۱۶ هفته پس از کاشت (۴/۳۲ برابر نسبت به شاهد) صورت گرفت (شکل ۱). کاهش بیان ژن *AsFLC* همزمان با تداوم دمای پایین طی پاییز و زمستان در هر سه همگروه مشاهده شد. با این تفاوت که میزان بیان *AsFLC* در تمامی زمان‌های مورد بررسی در سیر غیرگلده از گلده و نیمه گلده بالاتر بود (جدول ۲).



شکل ۱- بیان نسبی *AsFLC* در مریستم سیر گلده، نیمه گلده و غیرگلده طی چهار تا ۲۰ هفته پس از کاشت. شاهد (C) مریستم سیر گلده در ۲۰ هفته پس از کاشت می‌باشد، (*معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱).

Figure 1- Relative expression of *AsFLC* in the meristem of non-, semi- and bolting garlic clones. WAP (weeks after planting), Control: meristem of bolting clone 20 weeks after planting (c). ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively).

جدول ۲- مقایسه بیان نسبی ژن *AsFLC* در مریستم سیر نیمه گلده و گلده با سیر غیر گلده

Table 2- Relative expression of *AsFLC* in the meristem of semi- and bolting garlic in comparison to non- bolting garlic.

زمان نمونه گیری (هفته پس از کاشت) Sampling time (weeks after planting)	بیان نسبی در مقایسه با سیر غیر گلده Relative expression in comparison to non- bolting garlic	
	سیر گلده Bolting garlic	سیر نیمه گلده Semi-bolting garlic
4	-2.03*	-1/13 ^{ns}
8	-2.66**	-1.67 ^{ns}
12	-4.17**	-1.86*
16	ne	-2.33*

(*ne* نشان دهنده عدم بیان ژن در اندام مورد بررسی، - نشان دهنده کاهش بیان ژن در مقایسه با شاهد، *ns* غیر معنی دار، ** معنی دار در سطح ۰/۰۱ و * معنی دار در سطح ۰/۰۵).

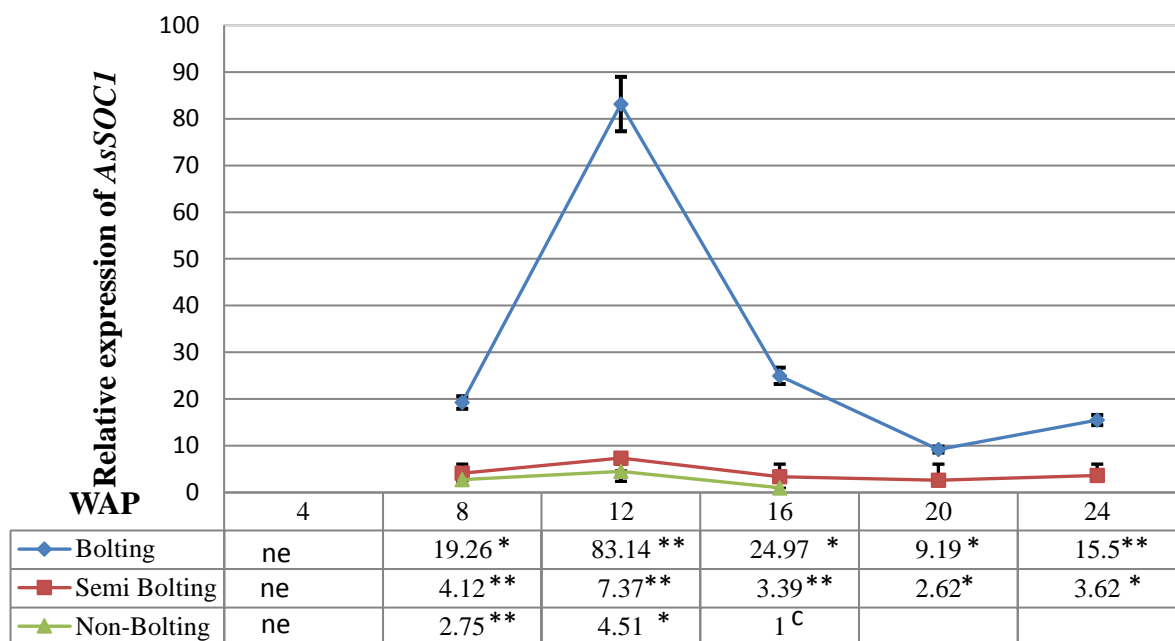
(*ne* shows that gene wasn't expressed, - shows down expression in comparison to control, ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively and *ns* shows that results aren't significant)

مطالعات متعددی در ارتباط با ژنهای بازدارنده گلدهی در تک لپه‌ای‌های نیازمند به بهاره‌سازی صورت گرفته است. در ابتدا تصور می‌شد که کنترل ژنتیکی گلدهی در گیاهان نیازمند به بهاره‌سازی از طریق نسخه‌های مختلف ژن *VRN* صورت می‌گیرد. اما بررسی ژنوم تک لپه‌ای‌ها و بررسی‌های فیلوژنتیکی نشان داد که ژنهای مشابه *FLC* نیز در غلات وجود دارند. *FLC* در این گیاهان از نوع *JIMADS DOMAIN LN PROTEIN* بوده و از نظر تعداد نسخه و عملکرد تا حدودی با دولپه‌ای‌ها تفاوت دارند (Schilling et al., 2020; Ruelens, 2013). به طوری که در نوعی چمن دو نسخه از ژن *FLC* با نام‌های *BdOS1* و *BdOS2* شناسایی شده است که طی بهارش بیان اولی افزایش و دومی کاهش می‌یابد (Sharma et al., 2017; Ruelens et al., 2013). در جو نیز دو نسخه مشابه با ژن *FLC* تحت عنوان *BdMADS37* و *HvOS2* شناسایی شده‌اند که طی بهارش بیان آن‌ها کاهش و سپس طول ساقه گلدهنده افزایش می‌یابد. (Ruelens, 2013; Greenup et al., 2010). در گندم نیز بیان ژن *TaOS2* طی بهارش کاهش می‌یابد (Winfield, 2009; Sharma, 2017). در تک لپه‌ای‌های پتالوئیدی نظیر لیلیوم (*Lilium Longiflorum*) همولوگ ژن *FLC* (*LIFLC*) به عنوان بازدارنده گلدهی شناسایی شده است. بیان این ژن پس از بهارش سوخ‌ها کاهش و گلدهی افزایش یافت (Yan et al., 2022). در پژوهش حاضر نیز بیان ژن *AsFLC* پس از مواجهه با دمای پایین طی زمستان به طور قابل توجهی در هر سه همگروه سیر کاهش یافت که با نتایج نامبردگان مطابقت دارد. هر چند روند نزولی در بیان *AsFLC* در هر سه همگروه مشاهده شد، اما بیان آن در تمامی زمان‌های مورد بررسی در سیر گلده کمتر از سیر نیمه و غیر گلده بود. همچنین کاهش بیان نسبی این ژن در سیر گلده با سرعت بیشتری در مقایسه با دو همگروه دیگر صورت گرفت. با توجه به اهمیت ژن *AsFLC* به عنوان یک بازدارنده گلدهی و کاهش شدید آن پس از رفع نیاز سرمایی، به نظر می‌رسد این ژن در تشکیل ساقه گلدهنده در سیر گلده موثر باشد. عدم تشکیل ساقه گلدهنده در سیر غیر گلده و تشکیل ساقه گلدهنده ناقص در سیر نیمه گلده نیز می‌تواند به دلیل سطوح بالای بیان این ژن حتی پس از بهارش باشد.

در گیاهان نیازمند به بهاره سازی گلدهی زمانی صورت می‌گیرد که با کاهش بیان ژن‌های بازدارنده گلدهی نظیر *FLC*، بیان ژن‌های محرک گلدهی نظیر *FT* و *LFY* نیز افزایش یابد. بر اساس گزارش روتن و همکاران (Rotem et al., 2011) انتقال مریستم از فاز رویشی به زایشی در سیر طی هشت تا ۱۶ هفته پس از کاشت صورت می‌گیرد. در پژوهشی دیگر قائمی‌زاده و همکاران (Ghaemizadeh et al., 2018) نشان دادند که بیان ژن‌های محرک گلدهی نظیر *AsFT2* و *AsLFY* در سیر گلده و نیمه گلده در ۱۶ هفته پس از کاشت به بالاترین میزان خود می‌رسند. اما در مریستم سیر غیر گلده *AsFT2* بیان نشده و بیان *AsLFY* در این همگروه در مقایسه با سیر گلده و نیمه گلده بسیار کمتر است. در پژوهش حاضر بالاترین میزان بیان ژن *AsFLC* در هر سه همگروه در ۴ هفته اول کاشت و قبل از محدوده زمانی انتقال مریستم از فاز رویشی به زایشی مشاهده و بیان آن پس از بهارش در هر سه همگروه کاهش یافت. لذا کاهش بیان ژن *AsFLC* طی بهارش و به دنبال آن افزایش بیان محرک‌های گلدهی می‌تواند در تشکیل ساقه گلدهنده در سیر موثر باشد. با این حال تشکیل ساقه گلدهنده تنها در سیر گلده صورت گرفت. در سیر نیمه گلده ساقه گلدهنده ناقص و کوتاه بود و سیر غیر گلده ساقه گلدهنده تشکیل نشد. مقایسه الگوی بیان این ژن در همگروه‌های سیر نیز نشان داد که پس از بهارش بیان *AsFLC* در هر سه همگروه کاهش می‌یابد اما این روند کاهش در سیر گلده با سرعت بیشتری صورت گرفته و میزان آن در تمام زمان‌های مورد بررسی از سیر نیمه و غیر گلده کمتر است. به نظر می‌رسد هر چه میزان بیان نسبی *AsFLC* کمتر بوده و بیان آن پس از بهارش با سرعت بیشتری کاهش یابد، ژن‌های محرک گلدهی سریعتر بیان شده و منجر به تشکیل ساقه گلدهنده کامل می‌شوند. در مجموع بالاتر بودن میزان بیان *AsFLC* و به دنبال آن کاهش یا عدم بیان ژن‌های محرک گلدهی در سیر غیر گلده و نیمه گلده (Ghaemizadeh et al., 2018) به ترتیب می‌تواند از دلایل عدم تشکیل یا تشکیل ناقص ساقه گلدهنده باشد. با توجه به تفاوت‌های مورفولوژیکی مشاهده شده در همگروه‌های مختلف سیر و تفاوت در سطوح مختلف بیان ژن *AsFLC* در همگروه‌ها می‌توان گفت که این ژن می‌تواند به عنوان یک بازدارنده گلدهی در سیر موثر باشد. با این حال کنترل ژنتیکی گلدهی در گیاهان نیازمند به بهاره سازی از مسیر ژن‌های دیگری نظیر *VRN* نیز صورت می‌گیرد. در این مسیر بیان *VRN1* طی بهارش و پس از مواجهه با سرما افزایش می‌یابد. این ژن بیان بازدارنده گلدهی نظیر *VRN2* را کاهش می‌دهد (Sharma et al., 2020). لذا درک کنترل ژنتیکی ژن‌های بازدارنده گلدهی در سیر نیازمند مطالعات وسیعتری است.

الگوی بیان ژن *AsSOCI*

بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان سی‌تی برای ژن *AsSOCI* (کمترین میزان بیان ژن) در مریستم سیر غیر گلده (۱۶ هفته پس از کاشت) صورت گرفت. از این رو این مرحله به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بیان نسبی *AsSOCI* در سیر گلده طی هشت تا ۲۰ هفته پس از کاشت نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت. بیشترین میزان بیان نسبی این ژن در ۱۲ هفته پس از کاشت (۸۳/۱۴ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. سپس بیان آن در مریستم انتهایی کاهش و در ۲۰ هفته پس از کاشت به کمترین میزان خود رسید. بیان *AsSOCI* در مریستم سیر نیمه گلده نیز از هشت تا ۲۰ هفته پس از کاشت نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت و در ۱۲ هفته پس از کاشت به بیشترین میزان خود رسید (۷/۳۷ برابر نسبت به شاهد). *AsSOCI* در گل‌آذین سیر گلده و گل‌آذین تکامل نیافته سیر نیمه گلده (۲۴ هفته پس از کاشت) نیز بیان شد. در سیر غیر گلده بیان نسبی *AsSOCI* در مریستم انتهایی طی هشت و ۱۲ هفته پس از کاشت افزایش یافت و بیشترین میزان بیان آن در ۱۲ هفته پس از کاشت (۴/۵ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- بیان نسبی *AsSOC1* در سیر گلده، نیمه گلده و غیر گلده. نمونه‌ها طی چهار تا ۲۰ هفته پس از کاشت از مریستم هر سه همگروه و ۲۴ هفته پس از کاشت گل‌آذین سیر گلده و نیمه گلده تهیه شدند. شاهد (C) مریستم سیر غیر گلده در ۱۶ هفته پس از کاشت می‌باشد، (*ne* عدم بیان ژن در اندام مورد بررسی، * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱).

Figure 2- Relative expression of *AsSOC1* in non-, semi- and bolting garlic clones. Sample from 4 to 20 weeks after planting are the meristem of three clones and 24 weeks after planting are from the inflorescence of semi- and bolting clones. WAP (weeks after planting), Control: meristem of non-bolting clone 16 weeks after planting (c). ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively).

مقایسه بیان نسبی ژن *AsSOC1* در مریستم هر سه همگروه نشان داد که بیان نسبی این ژن در مریستم سیر گلده طی زمان‌های مورد بررسی به مراتب بیشتر از سیر نیمه گلده و غیر گلده است. بیشترین میزان بیان *AsSOC1* در مریستم سیر گلده در هفتمه دوازدهم صورت گرفت که ۱۱/۲۷ برابر سیر نیمه گلده و ۱۸،۴۱ برابر سیر غیر گلده بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه بیان نسبی ژن *AsSOC1* در مریستم سیر نیمه گلده و غیر گلده در مقایسه با سیر گلده
 Table 2- Relative expression of *AsSOC1* in the meristem of semi- and non- bolting garlic in comparison to bolting garlic

زمان نمونه گیری (هفته پس از کاشت) Sampling time (weeks after planting)	نسبت بیان در مقایسه با سیر گلده Relative expression in comparison to bolting garlic	
	سیر غیر گلده Non-bolting garlic	سیر نیمه گلده Semi-bolting garlic
	8	-7.33**
12	-18.41**	-11.27**
16	-24.97**	-7.36**
20	ne	-3.33**

ne نشان دهنده عدم بیان ژن در اندام مورد بررسی، - نشان دهنده کاهش بیان ژن در مقایسه با شاهد، ** معنی دار

در سطح ۰/۰۱ و * معنی دار در سطح ۰/۰۵).

(*ne* shows that gene wasn't expressed, - shows down expression in comparison to control, ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels)

SOCI به عنوان یک ژن محرک گلدهی در بسیاری از گیاهان شناخته شده است. پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که عملکرد این ژن در میان تک لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها حفاظت شده می‌باشد. با این حال تاکنون هیچ پژوهشی در ارتباط با الگوی زمانی و مکانی بیان این ژن طی گلدهی در سیر صورت نگرفته است. مطالعات صورت گرفته در ارتباط با این ژن در سیر محدود به اطلاعات حاصل از توالی‌یابی اران‌ای می‌باشد (Kamenetsky *et al.*, 2015). در آرابیدوبسیس و جو پس از بهارشان بیان *SOCI* در مریستم انتهایی افزایش و در گل‌آذین و گل‌ها نیز بیان می‌شود (Papaefthimiou *et al.*, 2012; Hepworth *et al.*, 2002). در ارکیده نیز ژن *SOCI* پس از بهاره‌سازی در مریستم بیان شده و منجر به انتقال گیاه به فاز زایشی می‌شود (Liu *et al.* 2016). نتایج حاصل از توالی‌یابی اران‌ای در سیر گلده حضور نسخه‌های از این ژن را در گل‌آذین سیر نیز نشان داده است (Kamenetsky *et al.*, 2015). در پژوهش حاضر نیز بیان نسبی *AsSOC1* در مریستم انتهایی هر سه همگروه و پس از گلدهی در گل‌آذین سیر گلده و نیمه گلده نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت. از این رو نتایج بدست آمده در این تحقیق با یافته‌های نامبردگان مبنی بر بیان *SOCI* به هنگام انتقال مریستم رویشی به فاز زایشی مطابقت دارد.

عدم و یا کاهش بیان *SOCI* در گیاهان مختلف نظیر برنج، ارکیده و آرابیدوبسیس منجر به تاخیر یا توقف در گلدهی می‌شود (Hepworth *et al.*, 2002; Ryu *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2016). در پژوهش حاضر تفاوت قابل توجهی در میزان بیان نسبی *AsSOC1* بین همگروه‌ها مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین میزان بیان نسبی *AsSOC1* در سیر گلده صورت گرفت. علاوه بر این، الگوی تشکیل ساقه گلدهنده نیز در بین همگروه‌ها متفاوت بود. نتایج نشان داد میزان بیان نسبی *AsSOC1* در سیر گلده که ساقه گلدهنده در آن به طور کامل تشکیل می‌شود در مقایسه با سیر نیمه گلده با ساقه گلدهنده ناقص به مراتب بیشتر است. همچنین در سیر غیر گلده با کمترین میزان بیان *AsSOC1*

اثری از ساقه گلدهنده دیده نشد. این نتایج تا حدودی با یافته‌های هپ ورس و همکاران (Hepworth et al., 2002)، رایو و همکاران (Ryu et al., 2009) و لیو و همکاران (Liu et al., 2016) مطابقت دارد. مجموعه‌ای از ژن‌ها گلدهی در گیاهان را کنترل می‌کنند. لذا درک صحیح از مسیر گلدهی در گیاهان نیازمند مطالعه مجموعه‌ای از ژن‌های بازدارنده و محرک گلدهی می‌باشد. در لیلیوم بیشترین بیان *SOC1* در ۸ هفته پس از کاشت (مواجه با دمای پایین) صورت گرفت. در حالیکه در این زمان بیان *LIFLC* به کمترین میزان رسید. در لیلیوم بیان سایر ژن‌های تنظیم کننده گلدهی وابسته به بهارش نیز بررسی شده است. نتایج نشان داده است که طی بهارش بیان *LIVRN1* افزایش و بیان *LIVRN2* کاهش می‌یابد. لذا در این گیاه قبل از بهارش افزایش بیان *LIVRN2* منجر به افزایش بیان *LIFLC* می‌گردد و پس از بهارش افزایش بیان *LIVRN1* از بیان *LIFLC* جلوگیری می‌کند. در غلات زمستانه نیز بیان ژن *ODDSOC2* و *VRN2* طی بهارش کاهش یافته و بیان *VRN1* به عنوان محرک گلدهی افزایش می‌یابد (Kennedy and Geuten, 2020).

ژن *FLC* به طور مستقیم مانع از بیان ژن‌های محرک گلدهی نظیر *FT* و *SOC1* و *LFY* می‌شود. پس از مواجه گیاه با دمای پایین و با کاهش بیان این ژن به تدریج بیان ژن‌های محرک گلدهی افزایش می‌یابد و منجر به تبدیل مریستم رویشی به زایشی می‌شود. بر اساس مطالعات صورت گرفته انتقال مریستم از فاز رویشی به زایشی در سیر طی هشت تا ۱۶ هفته پس از کاشت صورت می‌گیرد (Rotem et al., 2011). روتنم و همکاران (Rotem et al., 2011) گزارش کردند که در این محدوده زمانی بیان *gaLFY* به عنوان یک ژن کلیدی گلدهی افزایش می‌یابد و تغییرات مورفولوژیکی کمی دیرتر در مریستم ظاهر می‌شود. در پژوهش حاضر نیز بیان *AsFLC* قبل از این محدوده زمانی (۴ هفته پس از کاشت) در بیشترین سطح بود و پس از مواجه با دمای پایین به تدریج کاهش یافت. پس از کاهش بیان *AsFLC*، بیان نسبی *AsSOC1* در همگروه‌های سیر افزایش یافت و در ۱۲ هفته پس از کاشت به حداکثر خود رسید. افزایش بیان نسبی *AsSOC1* در طی محدوده زمانی انتقال مریستم به فاز زایشی صورت گرفت. این نتایج با یافته‌های قائمی‌زاده و همکاران (Ghaemizadeh et al., 2018) مبنی بر بیان سایر ژن‌های محرک گلدهی نظیر *AsFT2* و *AsLFY* و گزارش روتنم و همکاران (Rotem et al., 2007; 2011) مبنی بر بیان *gaLFY* در این محدوده زمانی در گیاه سیر مطابقت دارد. در مجموع با توجه به کاهش بیان *AsFLC* و سپس افزایش قابل توجه بیان *AsSOC1* در مرحله انتقال از فاز رویشی به زایشی، تفاوت در میزان بیان ژن‌های *AsFLC* و *AsSOC1* در بین همگروه‌ها و تفاوت مورفولوژیکی مشاهده شده در بین همگروه‌ها، به نظر می‌رسد *AsSOC1* به عنوان یک ژن محرک گلدهی در سیر موثر است.

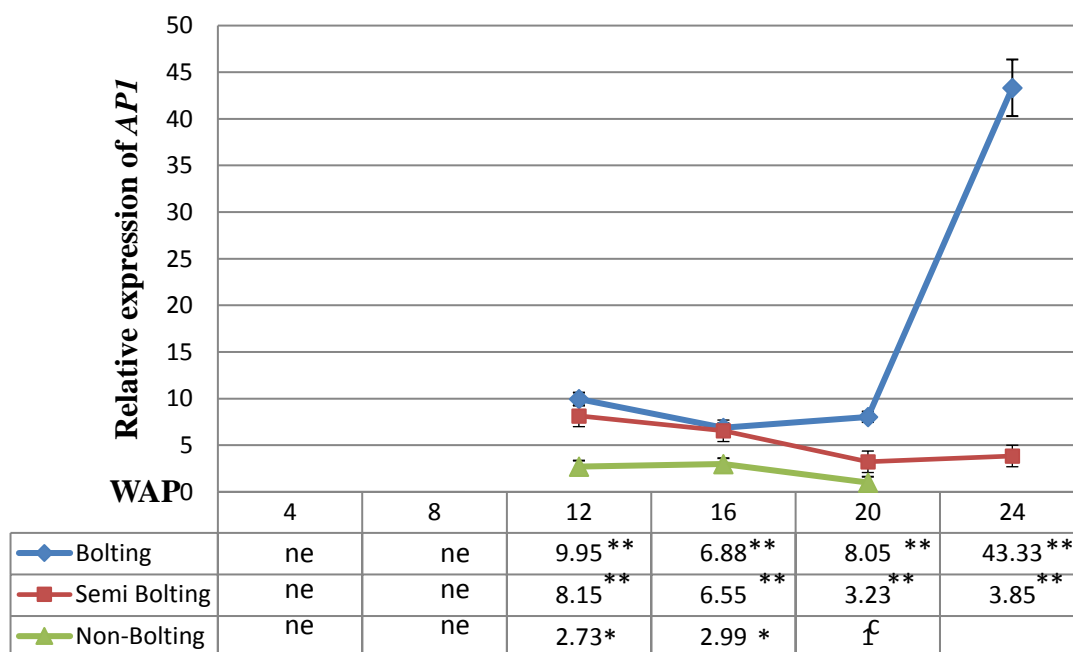
جیبرلین نیز به طور مستقیم و از طریق فعال کردن بیان ژن‌های *SOC1*، *LFY* و به طور غیرمستقیم از طریق تخریب پروتئین دلا و اثر بازدارندگی بر ژن‌های خانواده این پروتئین مانند *REPRESSOR OF GAI (RGA1)* بر گلدهی اثر گذار است (Pan et al., 2017). مطالعه اخیر نشان داده است که *FT* نیز در پاسخ به جیبرلین تنظیم می‌شود. از آنجایی که *SOC1* توسط *FT* نیز تنظیم می‌شود، بنابراین افزایش بیان *FT* از طریق سیگنال‌های جیبرلین نیز ممکن است بر تنظیم مثبت *SOC1* تأثیرگذار باشد. به عبارت دیگر افزایش *SOC1* تحت تیمار جیبرلین زمانی قابل مشاهده است که *FT* بالا باشد (Bao et al., 2019). در پیاز قرار گرفتن در معرض دماهای پایین باعث افزایش میزان جیبرلین درونی، گلدهی و افزایش عملکرد می‌شود (Lee et al., 2013). در واقع جیبرلین به تنهایی بر گلدهی گیاه پیاز تأثیر ندارد بلکه برای اثر گذاری هورمون باید نیاز سرمایی پیاز برطرف شده باشد. در شالوت نیز استفاده از ۲۰۰ پی‌پی‌ام *GA3* می‌تواند گلدهی را در نتیجه افزایش فعالیت مریستم انتهایی تحریک کند (Hantari et al., 2010).

در پژوهش حاضر میزان جیبرلین درونی در همگروه‌های سیر و پس از مواجه با دمای پایین اندازه‌گیری نشد اما این احتمال وجود دارد که افزایش میزان بیان *AsSOC1* در مریستم سیر هم به دلیل کاهش اثر بازدارندگی *AsFLC* و هم به دلیل

افزایش میزان جیبرلین درونی پس از رفع نیاز سرمایی باشد. هرچند مطالعات تکمیلی نظیر اندازه‌گیری میزان جیبرلین و بررسی تاثیر آن بر بیان محرک‌های گلدهی به منظور درک بهتر مسیر گلدهی در سیر بسیار کارآمد خواهد بود.

الگوی بیان ژن *AsAPI*

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد بیشترین میزان سی تی برای ژن *AsAPI* (کمترین میزان بیان ژن) در مریستم سیر غیر گلده (۲۰ هفته پس از کاشت) صورت می‌گیرد. از این رو این مرحله به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در سیر گلده اثری از بیان *AsAPI* در چهار و هشت هفته پس از کاشت در مریستم مشاهده نشد. سپس بیان آن در مریستم طی ۱۲ تا ۲۰ هفته پس از کاشت افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد یافت. بیشترین میزان بیان نسبی در مریستم سیر گلده، در ۱۲ هفته پس از کاشت (۹/۹۵ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. الگوی بیان این ژن در مریستم انتهایی سیر نیمه گلده مشابه با مریستم سیر گلده بود و بیشترین میزان بیان در ۱۲ هفته پس از کاشت (۸/۱۵ برابر نسبت به شاهد) صورت گرفت. *AsAPI* در ۲۴ هفته پس از کاشت در گل‌آذین سیر گلده و گل‌آذین تکامل نیافته سیر نیمه گلده نیز بیان شد. بیان نسبی این ژن در مریستم در سیر غیر گلده نیز طی ۱۲ و ۱۶ هفته پس از کاشت نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۳).



شکل ۳- بیان نسبی *AsAPI* در سیر گلده، نیمه گلده و غیر گلده. نمونه‌ها طی چهار تا ۲۰ هفته پس از کاشت از مریستم هر سه همگروه و ۲۴ هفته پس از کاشت از گل‌آذین سیر گلده و نیمه گلده تهیه شدند. شاهد (C) مریستم سیر غیر گلده در ۲۰ هفته پس از کاشت می‌باشد، (*ne* عدم بیان ژن در اندام مورد بررسی، * معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱).

Figure 3- Relative expression of *AsAPI* in non-, semi- and bolting garlic clones. Sample from 4 to 20 weeks after planting are the meristem of three clones and 24 weeks after planting are from the inflorescence of semi- and bolting clones. WAP (weeks after planting), Control: meristem of non-bolting clone 16 weeks after planting (c). ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively).

مقایسه الگوی بیان *AsAPI* در مریستم انتهایی سیر گلده و نیمه گلده در ۱۲ و ۱۶ هفته پس از کاشت تفاوت معنی داری را نشان نداد اما در ۲۰ هفته پس از کاشت بیان آن در مریستم سیر گلده ۲/۵ برابر بیشتر از مریستم سیر نیمه گلده بود. همچنین بیان نسبی *AsAPI* در گل‌آذین سیر گلده ۱۱/۲۵ برابر گل‌آذین سیر نیمه گلده بود. مقایسه بیان *AsAPI* در مریستم سیر گلده و غیر گلده، در همه زمان‌های مورد بررسی تفاوت معنی داری را نشان داد. در تمامی زمان‌های مورد بررسی بیان نسبی *AsAPI* در مریستم گلده در مقایسه با سیر غیر گلده افزایش یافت و بیشترین میزان آن در ۲۰ هفته پس از کاشت (۸/۰۵ برابر نسبت به سیر غیر گلده) مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه بیان نسبی ژن *AsAPI* در سیر نیمه گلده و غیر گلده با سیر گلده

Table 4- Relative expression of *AsAPI* in the non- and semi- bolting garlic in comparison to bolting garlic.

نوع نمونه	نسبت بیان در مقایسه با سیر گلده		
Sample type	Relative expression in comparison to bolting garlic		
زمان نمونه‌گیری	زمان نمونه‌گیری		
(هفته پس از کاشت)	(هفته پس از کاشت)		
Sampling time	Sampling time		
(weeks after planting)	(weeks after planting)		
	سیر غیر گلده	سیر نیمه گلده	
	Non-bolting garlic	Semi-bolting garlic	
12	-3.63**	-1.22 ^{ns}	Meristem
16	-2.29*	-1.05 ^{ns}	Meristem
20	-8.05*	-2.5*	Meristem
سیر نیمه گلده			
Semi-bolting garlic			
24	-11.25**		Inflorescence

(- نشان دهنده کاهش بیان ژن در مقایسه با شاهد، *ns* غیر معنی دار، ** معنی دار در سطح ۰/۰۱ و * معنی دار در سطح ۰/۰۵)

(- shows down expression in comparison to control, ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively and ns shows that results aren't significant)

در آرابیدوبسیس *API* به عنوان یک ژن تعیین هویت مریستم پس از انتقال از فاز رویشی به زایشی و تحت کنترل *LFY* در مریستم انتهایی بیان می‌شود. بیان این ژن در مریستم انتهایی به صورت پیوسته صورت گرفته و در همکاری با *LFY* تشکیل سرآغاز گل آذین و گل‌های منفرد را منجر می‌شود (Gocal et al., 2001). الگوی بیان *API* در تک‌لپه‌هایی نظیر برنج، لولیوم تمیولنتوم و گندم پس از مواجهه با محرک محیطی گلدهی و در مرحله انتقال از فاز رویشی به زایشی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. سپس بیان آن بر خلاف آرابیدوبسیس در مراحل اولیه تشکیل سرآغاز گل آذین و گل به شدت کاهش و مجدداً در گل آذین و گل بالغ افزایش می‌یابد (Gocal et al., 2001; et al., 2004; Yalovsky et al., 2000; Murai et al., 2003; Fornara et al., 2003). بیان نسبی ژن‌های مشابه *API* در ارکیده و لیلیوم مشابه برنج، لولیوم تمیولنتوم و گندم به هنگام انتقال از فاز رویشی به زایشی افزایش یافته و مشابه با آرابیدوبسیس طی آغازش و نمو اولیه گل آذین و گل تا تشکیل اندام گل صورت می‌گیرد (Yu and Goh, 2000; Chen et al., 2008). الگوی بیان *AsAPI* در اندام‌های مختلف رویشی و زایشی گل‌های سیر گلده مشخص شده است (Ghaemizadeh et al., 2019). در پژوهش حاضر نیز برای اولین بار الگوی بیان *AsAPI* طی القا گلدهی در مریستم انتهایی همزمان با انتقال مریستم از فاز رویشی به زایشی و آغازش و تمایز یابی اولیه گل آذین و گل‌های منفرد و گل آذین بالغ (۲۴ هفته پس از کاشت) افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد یافت (شکل ۳). در سیر نیز مشابه با برنج، گندم و لولیوم تمیولنتوم بیان ژن در مرحله انتقال به فاز زایشی و گل آذین افزایش و بر خلاف آن‌ها در زمان تشکیل سرآغاز گل آذین و گل نیز به طور قابل توجهی بیان شد. الگوی بیان *AsAPI* در سیر با یافته‌های یو و گو (Yu and Goh, 2000) و چن و همکاران (Chen et al., 2008) در گیاهان ارکیده و لیلیوم همخوانی دارد. از این رو به نظر می‌رسد الگوی بیان *AsAPI* در سیر مشابه با تک‌لپه‌ای‌های پتالوئیدی نظیر ارکیده و لیلیوم می‌باشد.

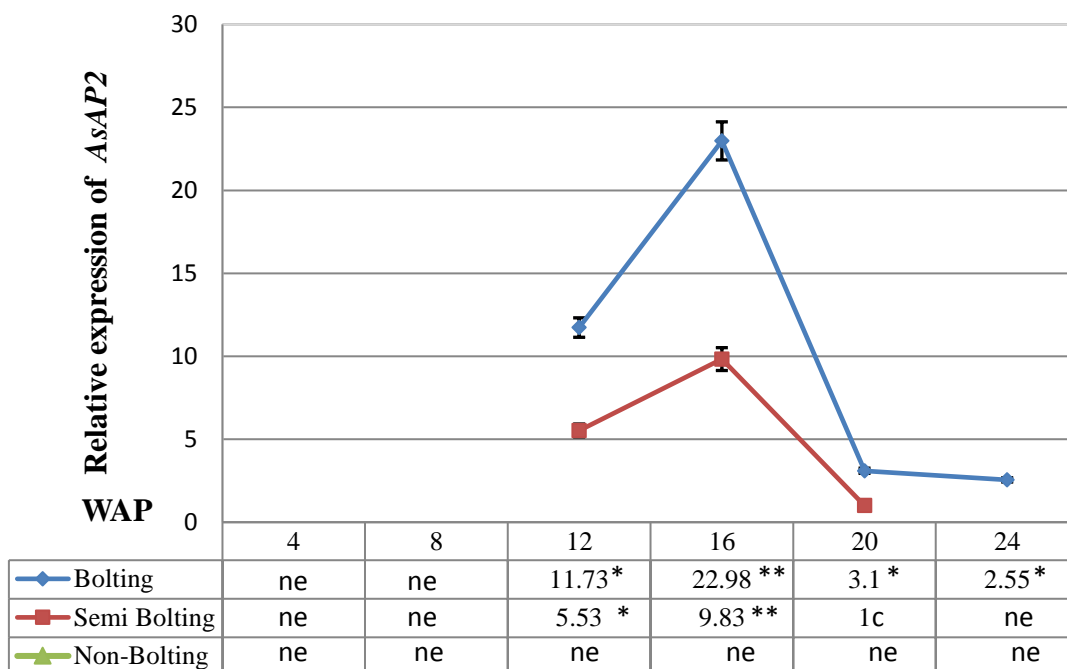
مقایسه بیان نسبی *AsAPI* در مریستم انتهایی سیر گلده و نیمه‌گلده در مرحله انتقال گیاه از فاز رویشی به زایشی (۱۲ هفته پس از کاشت) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. اما در سیر غیرگلده ۳/۶۳ برابر کمتر از سیر گلده بود (جدول ۴). بر اساس گزارش چن و همکاران (Chen et al., 2008) در لیلیوم جهش یافته برای ژن *ap1* تاخیر در گلدهی صورت می‌گیرد. از اینرو به نظر می‌رسد چنانچه *AsAPI* در سیر به عنوان یک ژن محرک گلدهی عمل کند کاهش بیان نسبی آن مانع از بولتینگ در سیر غیر گلده می‌شود. همچنین با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بیان این ژن بین سیر گلده و نیمه‌گلده، به احتمال زیاد، این ژن تأثیری در بولتینگ ناقص سیر نیمه‌گلده ندارد.

در آرابیدوبسیس جهش یافته برای *ap1* فنوتیپی مشابه با جهش یافته‌های *lfy* مشاهده می‌شود. در این گیاهان گل آذین با ساختاری براکته مانند و فاقد گل‌های منفرد تشکیل شد (Gocal et al., 2001). اختلال در تشکیل گل آذین به صورت طبیعی در انواع جهش یافته لیلیوم نیز گزارش شده است (Chen et al., 2008). بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، در سیر گلده با فرم طبیعی حاوی تعداد زیادی گلچه و در سیر نیمه‌گلده گل آذین کوچک فاقد گلچه و دارای اندام‌های براکته مانند به وجود آمد. اگرچه تفاوت معنی‌داری در بیان ژن *AsAPI* در مریستم انتهایی سیر گلده و نیمه‌گلده در ۱۶ هفته پس از کاشت مشاهده نشد، اما بیان آن در ۲۰ هفته پس از کاشت در مریستم سیر نیمه‌گلده ۲/۵ برابر نسبت به سیر گلده کاهش یافت (جدول ۳). از این رو با توجه به تفاوت مورفولوژیکی مشاهده شده بین همگروه‌ها و تفاوت در سطوح بیان ژن *AsAPI* در آن‌ها به نظر می‌رسد، سطوح پایین بیان *AsAPI* بویژه در مراحل انتهایی آغازش و تمایز یابی گل آذین (۲۰ هفته پس از کاشت) مانع از تشکیل گل آذین طبیعی در سیر نیمه‌گلده شده است.

الگوی بیان ژن *AsAP2*

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد بیشترین میزان سی تی برای ژن *AsAP2* (کمترین میزان بیان ژن) در مریستم سیر نیمه گلده (۲۰ هفته پس از کاشت) صورت می گیرد. از این رو این مرحله به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق اثری از بیان این ژن در مریستم انتهایی سیر گلده، در چهار تا هشت هفته پس از کاشت مشاهده نشد. بیان نسبی *AsAP2* در مریستم سیر گلده از ۱۲ تا ۲۰ هفته پس از کاشت افزایش معنی داری نسب به شاهد یافت و بیشترین میزان بیان نسبی آن در مریستم در ۱۶ هفته پس از کاشت (۲۲/۹۸ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد بیان نسبی *AsAP2* در گل آذین سیر گلده (۲۴ هفته پس از کاشت) به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش می یابد (شکل ۴). در سیر نیمه گلده *AsAP2* تنها در ۱۲ و ۱۶ هفته پس از کاشت نسبت به شاهد افزایش معنی داری یافت. بیشترین میزان بیان نسبی *AsAP2* در مریستم مشابه با سیر گلده در ۱۶ هفته پس از کاشت (۹/۸۳ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. اما بر خلاف سیر گلده، در گل آذین سیر نیمه گلده بیان نشد. در ارتباط با سیر غیر گلده نیز اثری از بیان این ژن در مریستم طی مراحل مورد بررسی مشاهده نشد (شکل ۴).

مقایسه بیان نسبی *AsAP2* در مریستم سیر گلده و نیمه گلده طی ۱۲ تا ۲۰ هفته پس از کاشت در جدول ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد بیان نسبی این ژن در همه زمان های مورد بررسی در مریستم سیر نیمه گلده در مقایسه با سیر گلده کمتر بود. کمترین میزان بیان نسبی *AsAP2* در مریستم سیر نیمه گلده در مقایسه با سیر گلده در ۲۰ هفته پس از کاشت صورت گرفت و میزان آن ۳/۱ برابر کمتر از مریستم سیر گلده بود.



شکل ۴- بیان نسبی *AsAP2* در سیر گلده، نیمه گلده و غیر گلده. نمونه‌ها طی چهار تا ۲۰ هفته پس از کاشت از مریستم هر سه همگروه و ۲۴ هفته پس از کاشت از گل‌آذین تهیه شدند. شاهد (c) مریستم سیر نیمه گلده در ۲۰ هفته پس از کاشت می‌باشد، *ne* عدم بیان ژن در اندام مورد بررسی، * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱.

Figure 4- Relative expression of *AsAP2* in non-, semi- and bolting garlic clones. Sample from 4 to 20 weeks after planting are the meristem of three clones and 24 weeks after planting are from the inflorescence of semi- and bolting clones. WAP (weeks after planting), Control: meristem of non-bolting clone 16 weeks after planting (c). ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively.

جدول ۵- مقایسه بیان نسبی ژن *AsAP2* در مریستم سیر نیمه گلده با سیر گلده

Table 5- Relative expression of *AsAP2* in the meristem of semi-bolting garlic in comparison to bolting garlic

زمان نمونه‌گیری (هفته پس از کاشت) Sampling time (weeks after planting)	نسبت بیان Relative expression
12	-2.12**
16	-2.33*
20	-3.1*

(- نشان دهنده کاهش بیان ژن در مقایسه با شاهد، ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵)
(- shows down expression in comparison to control, ** and * show that results are significant at the 0.01 and 0.05 levels respectively)

AP2 در آرابیدوسیس به عنوان ژن هویت مریستم گل در تشکیل مریستم گل‌آذین و گل‌های منفرد موثر است (Ohto et al., 2005). اما در گل میمون به عنوان ژن هویت مریستم اندام گل بوده و نقشی در آغازش گل‌آذین و گل‌های منفرد ندارد (Yant et al., 2010). در برنج و ذرت نیز *AP2* به عنوان ژن هویت مریستم در مریستم انتهایی، سرآغاز گل‌آذین و گل‌های منفرد بیان شده و باعث آغازش گل‌آذین و مریستم گل می‌شود (Chuck et al., 2008; Tang et al., 2007). الگوی بیان نسبی *AsAP2* در اندام‌های مختلف رویشی و زایشی گل‌های سیر گلده مشخص شده است (Ghaemizadeh et al., 2019). در پژوهش حاضر نیز الگوی بیان این ژن طی القا گلدهی مشخص شد. نتایج نشان داد بیان نسبی *AsAP2* طی ۱۲ تا ۲۰ هفته پس از کاشت به طور قابل توجهی در مریستم انتهایی و سپس در گل‌آذین افزایش می‌یابد. بر اساس گزارش روتم و همکاران (Rotem et al., 2011) انتقال از فاز رویشی به زایشی و آغازش و تمایزیابی اولیه گل‌آذین و مریستم گل در سیر طی هشت تا ۲۰ هفته پس از کاشت صورت می‌گیرد. از اینرو نتایج بدست آمده در این تحقیق با یافته‌های تانگ و همکاران (Tang et al., 2007)، چاک و همکاران (Chuck et al., 2008) و اوختو و همکاران (Ohto et al., 2005) مبنی بر بیان *AP2* در سرآغاز گل‌آذین و گل‌های منفرد مطابقت دارد.

در انواع جهش‌یافته ذرت برای ژن‌های *ids1* و *sid1* گل‌آذین فاقد گلچه‌های جانبی بوده و تنها دارای یک ساختار مشابه با گلچه که بوسیله اندامی براکنه مانند پوشیده شده است می‌باشد (Chuck et al., 2008). در پژوهش حاضر نیز گل‌آذین طبیعی حاوی گلچه تنها در سیر گلده مشاهده شد. در سیر نیمه گلده ساقه گلدهنده کوتاه حاوی یک

گل آذین ناقص، فاقد گلچه و دارای ساختارهای براکته مانند تشکیل شد. میزان بیان نسبی *AsAP2* در این همگروه نیز در مقایسه با سیر گلده در تمامی مراحل مورد بررسی به مراتب کمتر بود (جدول ۵). از این رو با توجه به تفاوت مورفولوژیکی مشاهده شده، به نظر می‌رسد سطوح پایین بیان *AsAP2* در سیر نیمه‌گلده در مقایسه با سیر گلده یکی از موانع تشکیل گل آذین طبیعی در این همگروه باشد.

نتیجه گیری

در این پژوهش برای اولین بار الگوی بیان دو گروه از مهمترین ژن‌های بازدارنده و محرک گلدهی با هدف درک بهتر مسیر بهارش و گلدهی در همگروه‌های مختلف سیر بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان بیان نسبی *AsFLC* به عنوان یک ژن بازدارنده گلدهی قبل از بهارش و در سیر غیر گلده مشاهده شد. پس از بهارش بیان این ژن در هر سه همگروه روند نزولی داشت اما این روند در سیر گلده با سرعت بیشتری صورت گرفت و میزان بیان نسبی آن در تمامی زمان‌های مورد بررسی در مقایسه با سیر غیر گلده و نیمه گلده بسیار کمتر بود. به دنبال کاهش بیان ژن *AsFLC*، بیان ژن‌های محرک گلدهی *AsSOCI* و *AsAPI* در مرحله القا گلدهی در مریستم انتهایی سیر گلده به سرعت افزایش یافت و بیان آن‌ها در مقایسه با سیر نیمه و غیر گلده به مراتب بالاتر بود. بیان *AsAP2* کمی دیرتر از ژن‌های محرک گلدهی در مریستم سیر گلده و نیمه گلده به بیشترین میزان خود رسید و در مریستم سیر غیر گلده بیان نشد. از سوی دیگر بیان نسبی *AsAPI* در گل آذین سیر گلده بیشتر از سیر نیمه گلده بود و *AsAP2* تنها در گل آذین سیر گلده بیان شد. از این رو این احتمال وجود دارد که تفاوت در سطح بیان ژن‌های بازدارنده و محرک گلدهی در همگروه‌ها، یکی از دلایل تفاوت‌های مورفولوژیکی در تشکیل ساقه گلدهنده و گل آذین در همگروه‌های مختلف سیر باشد. به طوریکه تشکیل ساقه گلدهنده و گل آذین کامل تنها در سیر گلده صورت گرفت. در سیر نیمه گلده یک ساقه کوتاه و فاقد گل آذین در بین برگ‌ها تشکیل شد و در سیر غیر گلده ساقه گلدهنده تشکیل نشد. در مجموع از این نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان برای درک بهتر مسیر ژنتیکی گلدهی و باروری سیر با هدف بهبود برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

References

- 1- Bao, S., Hua, C., Shen, L., & Yu, H. (2020). New insights into gibberellin signaling in regulating flowering in Arabidopsis. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(1), 118-131. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jipb.12892>.
- 2- Brunner, A.M., Rottmann, W.H., Sheppard, L.A., Krutovskii, K., DiFazio, S.P., Leonardi, S.L., & Straus, S.H. (2000). Structure and expression of duplicate AGAMOUS orthologues in poplar. *Plant Molecular Biology*, 44: 619-634. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1026550205851>.
- 3- Chen, M. K., Lin, I. C., & Yang, C. H. (2008). Functional analysis of three lily (*Lilium longiflorum*) *APETALA1*-like MADS box genes in regulating floral transition and formation. *Plant and cell physiology*, 49(5): 704-717. <https://academic.oup.com/pcp/article/49/5/704/1909879>.
- 4- Chuck, G., Meeley, R., & Hake, S. (2008). Floral meristem initiation and meristem cell fate are regulated by the maize *AP2* genes *ids1* and *sid1*. *Development*, 135(18): 3013-3019.

<https://journals.biologists.com/dev/article/135/18/3013/64781/Floral-meristem-initiation-and-meristem-cell-fate>.

- 5-Deng, W., Ying, H., Helliwell, C. A., Taylor, J. M., Peacock, W. J., Dennis, E. S. (2011). *FLOWERING LOCUS C (FLC)* regulates development pathways throughout the life cycle of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 108: 6680–6685. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1103175108>.
- 6-Ding, L., Wang, Y., & Yu, H. (2013). Overexpression of *DOSOC1*, an ortholog of *Arabidopsis SOC1*, promotes flowering in the orchid *Dendrobium chao parya* smile. *Plant Cell Physiology*, 54: 595–608. <https://academic.oup.com/pcp/article/54/4/595/1831310>.
- 7-Fornara, F., Parenicova, L., Falasca, G., Pelucchi, N., Masiero, S., Ciannamea, S., Lopez-Dee, Z., Altamura, M.M., Colombo, L., & Kater, M.M. (2004). Functional characterization of *OsMADS18*, a member of the *API/SQUA* subfamily of MADS box genes. *Plant Physiology*, 135(4): 2207-2219. <https://academic.oup.com/plphys/article/135/4/2207/6112179>.
- 8-Gocal, G.F., King, R.W., Blundell, C.A., Schwartz, O.M., Andersen, C.H., & Weigel, D. (2001) Evolution of floral meristem identity genes: analysis of *Lolium temulentum* genes related to *APETALA1* and *LEAFY* of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 125: 1788–1801. <https://academic.oup.com/plphys/article/125/4/1788/6097753>.
- 9-Ghaemizadeh, F., Dashti, F. A. R. S. H. A. D., & Shafeinia, A. R. (2018). Expression analysis of *gaLFY* and *AsFT* during reproductive development in different organs of some Iranian garlic (*Allium sativum* L.) clones. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(1). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20203074943>
- 10-Ghaemizadeh, F., Dashti, F., & Shafeinia, A. (2019). Expression pattern of ABCDE model genes in floral organs of bolting garlic clone. *Gene expression patterns*, 34, 119059. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567133X19300389>.
- 11-Ghaemizadeh, F., Dashti, F., & Mosavi, A. (2024). Expression pattern and structural analysis of *AGAMOUS-LIKE 6 (AGL6)* in Iranian garlic clones (*Allium sativum* L.). *Agricultural Biotechnology Journal*, 16(1), 155-174. <https://www.sid.ir/fileservers/jf/961-279249-fa-1129535.pdf>
- 12-Greenup, A. G., Sasani, S., Oliver, S. N., Talbot, M. J., Dennis, E. S., Hemming, M. N., & Trevaskis, B. (2010). *ODDSOC2* is a MADS box floral repressor that is down-regulated by vernalization in temperate cereals. *Plant Physiology*, 153(3), 1062-1073. <https://academic.oup.com/plphys/article/153/3/1062/6109438>.
- 13-Hepworth, S. R. Valverde, F. Ravenscroft, D. Mouradov, A. and Coupland, G. (2002) Antagonistic regulation of flowering-time gene *SOC1* by *CONSTANS* and *FLC* via separate promoter motifs. *The European Molecular Biology Organization journal*, 21(16): 4327-4337. <https://www.embopress.org/doi/full/10.1093/emboj/cdf432>
- 14-Helliwell, C. A., Wood, C. C., Robertson, M., James Peacock, W., & Dennis, E. S. (2006). The *Arabidopsis FLC* protein interacts directly in vivo with *SOC1* and *FT* chromatin and is part of a high-molecular-weight protein complex. *The Plant Journal*, 46(2), 183-192. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-313X.2006.02686.x>

- 15-Hantari, D., Purnomo, D., & Triharyanto, E. (2020). The effects of fertilizer composition and gibberellin on flowering and true shallot seed formation of three shallot varieties at the highlands. *Conference Series: Earth and Environmental Science*, 423(1): 012032. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/423/1/012032/meta>.
- 16-Irish, V. F., & Litt, A. T. (2005). Flower development and evolution: gene duplication, diversification and redeployment. *Current opinion in genetics and development*, 15(4): 454-460. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959437X05000973>.
- 17-Kamenetsky, R., Faigenboim, A., Mayer, E. S., Michael, T. B., Gershberg, C., Kimhi, S., and Sherman, A. (2015). Integrated transcriptome catalogue and organ-specific profiling of gene expression in fertile garlic (*Allium sativum* L.). *Biomed central genomics*, 16(1): 12. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12864-015-1212-2>.
- 18-Kennedy, A., & Geuten, K. (2020). The role of *FLOWERING LOCUS C* relatives in cereals. *Frontiers in Plant Science*, 11, 617340. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2020.617340/full>.
- 19-Kim, D. H., & Sung, S. (2014). Genetic and epigenetic mechanisms underlying vernalization. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3952384/>
- 20-Lee, R., Baldwin, S., Kenel, F., McCallum, J., & Macknight, R. (2013). *FLOWERING LOCUS T* genes control onion bulb formation and flowering. *Nature communications*, 4(1), 1-9. <https://www.nature.com/articles/ncomms3884>.
- 21-Pan, R., Xu, L., Wei, Q., Wu, C., Tang, W., Oelmüller, R., & Zhang, W. (2017). Piriformospora indica promotes early flowering in Arabidopsis through regulation of the photoperiod and gibberellin pathways. *PLOS One*, 12(12), e0189791. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0189791>.
- 22-Liu, X. R., Pan, T., Liang, W. Q., Gao, L., Wang, X. J., Li, H. Q., & Liang, S. (2016) Overexpression of an Orchid (*Dendrobium nobile*) *SOC1/TM3-Like* Ortholog, *DnAGL19*, in Arabidopsis Regulates *HOS1-FT* Expression. *Frontiers in plant science*, 7. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2016.00099/full>.
- 23-Livak, K.J., & Schmittgen T.D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Methods. *Methods*, 25: 402-408. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1046202301912629>.
- 24-Murai, K., Miyamae, M., Kato, H., Takumi, S., & Ogihara, Y. (2003). *WAP1*, a wheat *APETALA1* homolog, plays a central role in the phase transition from vegetative to reproductive growth. *Plant and Cell Physiology*, 44(12): 1255-1265. <https://academic.oup.com/pcp/article/44/12/1255/1830913>.
- 25-Medard, N.g., & Yanofsky, M.F. (2001). Function and evolution of the plant MADS-box gene family. *Nature Reviews Genetics*, 2(3), 186-195. <https://www.nature.com/articles/35056041>.

- 26-Nakamura, T., Song, I., Fukuda, T., Yokoyama, J., Maki, M., & Ochiai, T. (2005) Characterization of *TrcMADS1* gene of *Trillium camtschaticense* (*Trilliaceae*) reveals functional evolution of the *SOC1/TM3-like* gene family. *Journal of Plant Research*, 118: 229–234. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10265-005-0215-5>.
- 27-Ohto, M. A., Fischer, R. L., Goldberg, R. B., Nakamura, K., & Harada, J. J. (2005). Control of seed mass by *APETALA2*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102: 3123–3128. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0409858102>.
- 28-Papaefthimiou, D., Kapazoglou, A., & Tsaftaris, A. S. (2012). Cloning and characterization of *SOC1* homologs in barley (*Hordeum vulgare*) and their expression during seed development and in response to vernalization. *Physiologia plantarum*, 146(1): 71-85. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.2012.01610.x>.
- 29-Pfaffl, M.W., Horgan, G.W., Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, 30(9), 36-36. <https://academic.oup.com/nar/article/30/9/e36/1089004>.
- 30-Rotem, N., Einat, Sh., Yuval, P., Fouad, A., Orit, E., Haim, D., Rabinowitch, I., & Rina, K. (2007). Reproductive development and phenotypic differences in garlic are associated with expression and splicing of *LEAFY* homologue *gaLFY*. *Journal of Experimental Botany*, 58(5): 1133–1141. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17237158/>.
- 31-Rotem, N., David-Schwartz, R., & Peretz, Y. (2011). Flower development in garlic: the ups and downs of *gaLFY* expression. *Planta*, 233, 1063–1072. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-011-1361-8>.
- 32-Ruelens, P., De Maagd, R. A., Proost, S., Theißen, G., Geuten, K., & Kaufmann, K. (2013). *FLOWERING LOCUS C* in monocots and the tandem origin of angiosperm-specific MADS-box genes. *Nature communications*, 4(1), 2280. <https://www.nature.com/articles/ncomms3280>.
- 33-Ryu, C. H., Lee, S., Cho, L.H., Kim, S. L., Lee, Y. S., & Choi, S. C. (2009). *OsMADS50* and *OsMADS56* function antagonistically in regulating long day (LD)-dependent flowering in rice. *Plant Cell Environment*, 32: 1412–1427. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3040.2009.02008.x>.
- 34- Searle, I., He, Y., Turck, F., Vincent, C., Fornara, F., Kröber, S., & Coupland, G. (2006). The transcription factor *FLC* confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in Arabidopsis. *Genes & development*, 20(7), 898-912. <https://genesdev.cshlp.org/content/20/7/898.short>
- 35-Simon, P.W., & Jenderek, M.M. (2003). Flowering, seed production and the genesis of garlic breeding. *Plant Breeding Reviews*, 23, 211-244. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470650226#page=424>.
- 36-Shalom, S.R., Gillett, D., Zemach, H. (2015). Storage temperature controls the timing of garlic bulb formation via shoot apical meristem termination. *Planta*. 242(4), 951-962. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-015-2334-0>.

- 37-Sharma, N., Ruelens, P., D'hauw, M., Maggen, T., Dochy, N., Torfs, S., & Geuten, K. (2017). A flowering locus C homolog is a vernalization-regulated repressor in *Brachypodium* and is cold regulated in wheat. *Plant Physiology*, 173(2), 1301-1315. <https://academic.oup.com/plphys/article/173/2/1301/6115872>.
- 38-Sharma, N., Geuten, K., Giri, B. S., & Varma, A. (2020). The molecular mechanism of vernalization in *Arabidopsis* and cereals: role of *Flowering Locus C* and its homologs. *Physiologia plantarum*, 170(3), 373-383. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ppl.13163>.
- 39-Schilling, S., Kennedy, A., Pan, S., Jermiin, L. S., & Melzer, R. (2020). Genome-wide analysis of MIKC-type MADS-box genes in wheat: pervasive duplications, functional conservation and putative neo functionalization. *New Phycologist Foundation*, 225(1), 511-529. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.16122>.
- 40-Tang, M. Li, G., & Chen, M. (2007). The phylogeny and expression pattern of *APETALA2-like* genes in rice. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(10): 930-938. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1673852707601040>.
- 41-Takagi, H. (1990). Biochemistry, food science, and minor crops. In: Onions and allied crops. Brewster JL, Rabinowitch HD (eds). CRC press, BocaRaton, Florida. 3: 109-146. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130282270522244736>.
- 42-Winfield, M. O., Lu, C., Wilson, I. D., Coghill, J. A., and Edwards, K. (2009). Cold- and light-induced changes in the transcriptome of wheat leading to phase transition from vegetative to reproductive growth. *BMC Plant Biology*, 9:55. doi: 10.1186/1471-2229-9-55
- 43-Yant, L., Mathieu, J., Dinh, T.T., Ott, F., Lanz, C., Wollmann, H., Chen, X., & Schmid, M. (2010). Orchestration of the floral transition and floral development in *Arabidopsis* by the bifunctional transcription factor *APETALA2*. *The Plant Cell*, 22(7):2156-2170. <https://academic.oup.com/plcell/article/22/7/2156/6095936>.
- 44-Yalovsky, S., Rodríguez-Concepción, M., Bracha, K., Toledo-Ortiz, G., & Gruissem, W. (2000). Prenylation of the floral transcription factor *APETALA1* modulates its function. *The Plant Cell*, 12(8): 1257-1266. <https://academic.oup.com/plcell/article-abstract/12/8/1257/6008888>.
- 45-Yu, H., & Goh, C. J. (2000). Identification and characterization of three orchid MADS-box genes of the *API/AGL9* subfamily during floral transition. *Plant Physiology*, 123: 1325-1336. <https://academic.oup.com/plphys/article-abstract/123/4/1325/6098789>.
- 46-Yan, X., Wang, L. J., Zhao, Y. Q., & Jia, G. X. (2022). Expression Patterns of Key Genes in the Photoperiod and Vernalization Flowering Pathways in *Lilium longiflorum* with Different Bulb Sizes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8341. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/15/8341>.
- 47-Yant, L., Mathieu, J., Dinh, T.T., Ott, F., Lanz, C., Wollmann, H., Chen, X., & Schmid, M. (2010). Orchestration of the floral transition and floral development in *Arabidopsis* by the functional transcription factor *APETALA2*. *The Plant Cell*, 22(7):2156-2170. <https://academic.oup.com/plcell/article-abstract/22/7/2156/6095936>.

48-Yoo, S. K., Chung, K. S., Kim, J., Lee, J. H., Hong, S. M., Yoo, S. J., & Ahn, J. H. (2005) *CONSTANTS* activates *SUPPRESSORS of OCEREXPRESSION of CONSTANS 1* through *FLOWERING LOCUS T* to promote flowering in Arabidopsis. *Plant physiology*, 139(2): 770-778. <https://academic.oup.com/plphys/article-abstract/139/2/770/6113468>.

مجلس النشر
للنشر