University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

Effect of Temperature and Cold Storage Durations on Flower Induction in Bulbs of Two Iranian Onion Cultivars

Nahid Moradi Motaghed[1], Farhad Dashti [2]✉, Fahimeh Ghaemizadeh[3]

1 Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: n.motaghed94@gmail.com

2 Corresponding Author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University. Hamedan, Iran. E-mail: fdashti@basu.ac.ir

3 Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: f.ghaemizadeh@basu.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 3 May 2022

Received: 28 October 2022

Accepted: 4 November 2022

Published online: 21 March 2023

Keywords:

AcFT2,

Flower induction,

Real-Time PCR,

SEM,

Vernalization.

ABSTRACT

In order to determine cold requirements for flower induction (vernalization), the adult bulbs of Ghermez Azarshahr and Sefid Qom onion cultivars were studied in four time periods (two, four, six and eight weeks) and three temperatures (5, 10 and 15 °C) in a factorial experiment based on a completely randomized design with three replicates. Scaning electron microscope (SEM) was used to determine swelling of reproductive meristem (meristem dome) after applying the treatments. Also, the temporal expression patterns of flowering integrator gene (AcFT2) were analyzed in cv; Ghermez Azarshahr, using Real-Time PCR. According to obtained results, the maximum meristem inflation of Sefid Ghom was observed in 10 and 15 °C, while in Ghermez Azarshahr at 5 °C. Bulbs showed the lowest meristem inflation (30.53%) after 2 weeks of cold storage, and with increasing vernalization time, up to 6 weeks, the meristem inflation (75.35%) increased. The highest relative expression of AcFT2 was observed in the Ghermez Azarshahr after 6 weeks of cold storage at 5 °C, which coincides with meristem inflation results. Ultimately, the best vernalization condition were determined as 6 weeks cold storage at 10 ° or 15 °C for Sefid Ghom and 5 °C for Ghermez Azarshahr.

Cite this article: Moradi Motaghed, N., Dashti, F., & Gaeimizadeh, F. (2023). Effect of Temperature and Cold Storage Durations on Flower Induction in Bulbs of Two Iranian Onion Cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 54 (1), 105-116. DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2022.340368.2011

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2022.340368.2011

Extended Abstract

Introduction

Onion is a biennial plant that needs to be vernalized to produce flowering stalk and seeds in the second year. In most onion cultivars, the optimal conditions for vernalization is storage at 9 to 12 degrees Celsius for one month. By flower induction in the plant many physiological changes occur in the shoot apex, when the plant is in the vegetative stage the shoot apex is sunken. After transferring to the reproductive stage it becomes dome-shaped, which indicates flower induction phenomenon. Also, at this stage, the genes that stimulate flowering time are expressed in the terminal meristem causing to develop flowers. Three flowering time stimulating genes (*FT, SOC1* and *LFY*) have been identified in many plants, including edible onion. It has been observed that *AcFT2* gene expresses in high amounts in vernalized onions. Before vernalization, *AcFT2* is not expressed in the plant, but with the beginning of cold treatments, *AcFT2* is expressed at a high level in shoot apex, which means this gene is an important flowering time regulator in onion. Knowledge of controlling factors in initiation and development of inflorescences can be used in flowering inhibition or stimulation techniques for breeding

and seed production programs. The present study was conducted with the aim of determining the duration and appropriate temperature of vernalization in two edible Iranian onion cultivars, and also investigating the expression pattern of *AcFT2* gene.

Materials and methods

This research was designed as a factorial experiment in the form of a completely randomized design with 3 replications. The first factor was the cultivar type (Sefide Qom and Ghermeze Azarshahr); the second, the storage temperature in three different levels (5, 10 and 15 degrees Celsius); and the third, the duration of cold treatment in four levels (two, four, six and eight weeks). After the required time for vernalization, 20 bulbs from each treatment were selected for microscopic studies of the shoot apex and comparison with the meristem of the control plants (kept at 25 degrees Celsius). In order to extract RNA, sampling was done from the terminal meristem of the red Azarshahr cultivar at two and six weeks after cold application. The relative expression level of the *AcFT2* gene was investigated by the Real-Time PCR reaction method. The actin encoding gene was used as a reference gene.

Results and discussion

The results obtained from the combination of all three factors (cultivar, time, and temperature) showed that the meristem swelling rate was low after two weeks. So, it can be concluded that two weeks of low temperature was not enough to induce flowering. Both cultivars showed completely different reactions after four weeks storage in cold. In this regard, the highest vernalization percentage was observed in Sefide Qom cultivar at 10 and 15 and in Germeze Azarshahr cultivar at 5 degrees Celsius, respectively. The difference between cultivars in the sixth and eighth weeks of storage was also quite obvious. So that, in Sefide Qom, the highest percentage of vernalization (90was observed in storage at 10 and 15 degrees Celsius without significant difference. However, in Ghermeze Azarshahr cultivar the highest percentage of vernalization (90%) occured at 5 degrees Celsius, while 10 and 15 degrees Celsius remarkably reduced the percentage of vernalized bulbs The significant amount of vernalized bulb of both onion cultivars after six weeks of storage in cold, indicates that a period of six weeks is sufficient for bulb vernalization of studied cultivars. The relative expression of *AcFT2* gene in the shoot apex of Germeze Azarshahr cultivar, increased significantly compared to the control, six weeks after cold treatment. The highest relative expression was observed at 5 degrees Celsius (30.59 times in compare to the control) and the lowest at 15 degrees Celsius (7.48 times in compare to the control). Therefore, with increasing temperature, the amount of expression of *AcFT2* gene decreased.

Conclusion

In general, it can be concluded that the optimal duration of vernalization is six weeks for both Ghermeze Azarshahr and Sefide Qom cultivars. Flower induction of the Ghermeze Azarshahr takes place at five and for Sefide Qom at 10 and 15 degrees Celsius. *AcFT2* gene was expressed six weeks after cold application in the shoot apex of bulbs of Ghermeze Azarshahr cultivar. Two weeks of chilling did not show a significant difference in *AcFT2* gene expression in this cultivar. The maximum amount of *AcFT2* gene expression occurred at five degrees Celsius, which seems to be optimum temperature for vernalization of this cultivar. The results of *AcFT2* gene expression in Ghermeze Azarshahr were in line with the results of meristem swelling.

انتشارات دانشگاه تهران

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۴، شماره ۱

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

اثر دما و طول دوره‌ی سرما بر گل‌انگیزی سوخ‌های دو رقم پیاز خوراکی بومی ایران

ناهید مرادی معتقد[۱] | فرشاد دشتی[۲]✉ | فهیمه قائمی‌زاده[۳]

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: n.motaghed94@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: fdashti@basu.ac.ir

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: f.ghaemizadeh@basu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۳
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۱/۰۱

چکیده

پیاز گیاهی دو ساله است که در سال اول در پاسخ به طول روز بلند بهار یا تابستان تولید سوخ می¬کند و سپس با گذراندن زمستان و دریافت سرما در سال دوم (بهارش) از مواد غذایی ذخیره شده در سوخ، جهت تولید ساقه گل‌دهنده و اندام زایشی استفاده می‌کند (Lee et al., 2013). دمای مناسب بهارش و همچنین مدت زمان مواجهه با آن، بسته به رقم متفاوت است و اگر به درستی اعمال نشود گلدهی به خوبی صورت نخواهد گرفت. اطلاع از فاکتورهای کنترل آغازش و توسعه‌ی گل‌آذین می‌تواند در تکنیک‌هایی برای مهار گل‌دهی و یا تحریک گل‌دهی جهت کارهای اصلاحی و تولید بذر مورد استفاده قرار گیرد. از آن‌جایی‌که تا کنون مطالعه‌ای در زمینه‌ی نیاز سرمایی بهارش در ارقام پیاز بومی ایران صورت نگرفته است، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین مدت زمان و دمای مناسب بهارش در دو رقم پیاز خوراکی بومی ایران و همچنین بررسی الگوی بیان ژن AcFT2 انجام گرفته است.

کلیدواژه‌ها:
بهارش، گل انگیزی، ریل تایم پی‌سی‌آر ، AcFT2 SEM

استناد: مرادی معتقد، ناهید؛ دشتی، فرشاد؛ و قائمی‌زاده، فهیمه (۱۴۰۲). اثر دما و طول دوره‌ی سرما بر گل‌انگیزی سوخ‌های دو رقم پیاز خوراکی بومی ایران. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۴ (۱)، ۱۱۶-۱۰۵. DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2022.340368.2011

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2022.340368.2011

مقدمه

پیاز گیاهی دو ساله است که در سال اول در پاسخ به طول روز بلند بهار یا تابستان تولید سوخ می‌کند و سپس با گذراندن زمستان و دریافت سرما در سال دوم (بهارش) از مواد غذایی ذخیره شده در سوخ، جهت تولید ساقه گل‌دهنده و اندام زایشی استفاده می‌کند (Lee *et al.*, 2013). دمای مناسب بهارش و همچنین مدت زمان مواجهه با آن، بسته به رقم متفاوت است و اگر به درستی اعمال نشود گلدهی به خوبی صورت نخواهد گرفت.

اطلاع از فاکتورهای کنترل آغازش و توسعه‌ی گل‌آذین می‌تواند در تکنیک‌هایی برای مهار گل‌دهی و یا تحریک گل‌دهی جهت کارهای اصلاحی و تولید بذر مورد استفاده قرار گیرد. از آن‌جایی‌که تا کنون مطالعه‌ای در زمینه‌ی نیاز سرمایی بهارش در ارقام پیاز بومی ایران صورت نگرفته است، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین مدت زمان و دمای مناسب بهارش در دو رقم پیاز خوراکی بومی ایران و همچنین بررسی الگوی بیان ژن *AcFT2* انجام گرفته است.

پیشینه پژوهش

بهارش رویداد فیزیولوژیکی است که در طی آن با قرار گرفتن گیاهان در دمای پایین، موجب تمایز جوانه‌ی رویشی به زایشی و در نتیجه القای گلدهی می‌گردد (Brito de Almeida *et al.*, 2017). دمای بهینه‌ی بهارش در ارقام مختلف پیاز متفاوت است. اکثر مطالعات روی تأثیر دما جهت گل‌دهی این گیاه نشان داده است که در بیش‌تر ارقام محدوده‌ی دمایی ۵ تا ۱۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ تا ۱۲۰ روز برای القای گل‌آذین مناسب است. ارقام مقاوم به بولتینگ به مدت زمان بیش‌تری (۱۵۴ تا ۱۸۵ روز) در مقایسه با ارقام بهاره نیاز دارند و دماهای پایین (منفی سه تا صفر درجه‌ی سانتی‌گراد) باعث سرکوب گل‌آذین می‌شود (Khokhar *et al*., 2007; Khokhar, 2008; Shishido & Saito, 1975). در اکثر ارقام، دمای بهینه برای بهاره شدن ۹ تا ۱۲ درجه‌ی سانتی‌گراد است و هر چه مدت اعمال درجه حرارت‌های پایین طولانی‌تر باشد، دوام بهاره سازی افزایش می‌یابد (Dennis et al., 1996). مدت زمان لازم برای بهاره شدن ارقام مختلف متفاوت است به صورتی که ارقامی که در عرض‌های جغرافیایی پایین رشد می‌کنند، مدت زمان کم‌تری برای بهاره شدن نسبت به ارقامی که در عرض‌های جغرافیایی بالاتر رشد می‌کنند نیاز دارند (Alemzadeh Ansari, 2010).

با القای گل‌دهی درگیاه و وارد شـــدن به مرحـــله‌ی گل‌دهی، تغییرات فیزیولوژیکی بسیاری درمریستم انتـــهایی اتفاق می‌افتد. زمانیکه گـــیاه در حالت رویـشی قرار دارد مریـــستم انتهایی حالت فرورفته داشته و پس از انتقال به مرحله‌ی زایشی حالت گنبدی شکل پیدا کرده که نشان دهنده گل‌انگیزی است(Kamenetsky & Fritsch, 2002) . همچنین در این مرحله ژن‌های محرک زمان گل‌دهی در مریستم انتهایی بیان شده و موجب القای گل‌دهی می‌گردند (Glover, 2007). بنابراین از فاکتورهای تعیین کننده‌ی تمایز گل‌دهی بررسی مریستم انتهایی از طریق برش جوانه وهمچنین بررسی میزان بیان نسبی ژن‌های محرک زمان گل‌دهی است.

القای گل‌دهی در گیاهان از طریق چندین مسیر سیگنالی کنترل می‌شود. گذر از مرحله‌ی رویشی به زایشی با افزایش بیان ژن‌های محرک زمان گل‌دهی صورت می‌گیرد و شامل مسیرهای پیچیده است که با عوامل محیطی و درونی بسیاری کنترل می‌گردد(Song *et al.*,2012) . سه ژن محرک زمان گل‌دهی (*SOC1*،*FT* و *LFY*) در آرابیدوبسیـس و بسیاری از گیاهان از جمله پیاز خوراکی شناسایی شده است (Glover, 2007). ژن *FT* عملکردهای متفاوتی در رشد رویشی و زایشی گیاهان دارد. ژن *FT* علاوه بر گل‌دهی در فعالیت‌های نموی دیگر نظیر تشکیل غده در سیب زمینی، و سـوخ در پیاز و سیر (Ghaemizadeh *et al*., 2018; Lee *et al*., 2013) و خواب زمستانی در پیازی‌های زینتی مانند نرگس (Hsu *et al*., 2011) نیز مؤثر است. در پیاز تحقیقاتی در زمینه شناسایی و بررسی الگوی بیان ژن *FT* صورت گرفته است. Lee *et al*.

1Vernalization
2Shoot Apical Meristem (SAM)

(2013) ۶ نسخه از ژن *FT* به نام‌های *FT1-6* را شناسایی کردند. بررسی الگوی بیان این ژن‌ها در پیاز به کمک ریل تایم پی سی آر نشان داد که از میان این ۶ ژن تنها بیان ژن *AcFT2* منجر به گل‌دهی می‌شود.

در پیاز ژن *AcFT2* پس از رفع نیاز سرمایی در بافت جوانه‌ی مرکزی (محل تشکیل گل‌آذین) افزایش یافته و منجر به گل‌دهی می‌شود(Lee *et al.*, 2013) . بیان ژن *AcFT2* با زمان گل‌دهی مطابقت دارد و این ژن برای کدکردن سیگنال‌های مولکولی گل‌دهی به کار می‌رود. *AcFT2* در دانهال‌ها وگیاهان خیلی پیر بیان نمی‌شود. در پیازهایی که القای گل‌دهی انجام شده است *AcFT2* به میزان زیادی دیده شده است. قبل از آغاز بهارش *AcFT2* در گیاه بیان نمی‌شود اما در زمان بهارش *AcFT2* در سطح بالایی در جوانه‌ی مرکزی بیان می‌شود این مسئله به این معنی است که این ژن یک تنظیم کننده‌ی مهم گل‌دهی در پیاز است(Lee *et al.*, 2013) .

روش‌شناسی پژوهش

مواد گیاهی و نمونه‌گیری

این پژوهش در گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی‌سینا، بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاًتصادفی با ۳ تکرار طراحی و اجرا شد. فاکتور اول رقم (سفید قم و قرمز آذرشهر)، فاکتور دوم دمای نگه‌داری در انبار در سه سطح مختلف (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) و فاکتور سوم مدت زمان تیمار سرمایی در چهار سطح (دو، چهار، شش و هشت هفته) بودند. بدین منظور، بذور پیاز از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذرکرج تهیه ودر اسفند ماه در گلخانه کشت گردید. نشای تولید شده اواسط اردیبهشت به زمین منتقل شده و درشهریور ماه سوخ‌ها برداشت شدند.تعداد ۲۴ عدد سوخ از هر تیمار در سه یخچال در دماهای ذکر شده قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان لازم برای بهارش، تعداد ۲۰ سوخ از هر تیمار از هر دو رقم جهت مطالعات میکروسکوپی جوانه‌ی انتهایی گیاه با برش جوانه مورد بررسی قرار گرفت و با مریستم گیاه شاهد (نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) مقایسه شد. جهت تهیه‌ی نمونه‌های مریستم به منظور استخراج ار ان ای، ۴ عدد سوخ از رقم قرمز آذرشهر در داخل فویل آلومینیومی پیچیده شد و پس از انجماد در ازت مایع تا زمان بررسی میزان بیان ژن در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. نمونه گیری از مریستم انتهایی رقم قرمزآذرشهر دو و شش هفته پس از اعمال سرما به منظور استخراج RNA صورت گرفت.

مراحل آماده سازی نمونه و عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی

پس از خارج کردن سوخ‌ها از یخچال، جوانه‌ی انتهایی با جدا کردن برگ‌ها در زیر بینوکولار برش داده شد. سپس سلول‌های گیاهی با غوطه‌ور کردن جوانه‌ی گیاه در گلوتارآلدهید ۲/۵ درصد به مدت یک ساعت تثبیت شده و به مدت ۱۰ دقیقه با بافر فسفات سدیم شست و شو داده شد. همچنین آبگیری با قرار دادن نمونه‌ها در محلول اتانول (با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. به منظور خشک شدن نمونه با سرعت کم و برای جلوگیری از چروک شدن دیواره‌های سلولی جوانه در آمین (HMDS[1]) غوطه‌ور شده و زیر هود به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت. به منظور مشاهده و عکس‌برداری توسط میکروسکوپ الکترونی (برند JEOL ساخت کشور ژاپن، مدل JSM 840A) ابتدا نمونه داخل دستگاه پوشش‌دهنده قرار گرفت. در این دستگاه پس از ایجاد خلأ، با استفاده از تارگت طلا روی نمونه با ذرات طلا پوشانده شد. سپس نمونه در محل مخصوص میکروسکوپ الکترونی قرار گرفته، ولتاژ دستگاه روی ۲۰ کیلو وات تنظیم و عکس‌برداری انجام شد.

1 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazane

محاسبه درصد تورم جوانه و تحلیل آماری نتایج

پس از مشاهده‌ی مریستم انتهایی سوخ‌ها با میکروسکوپ الکترونی، تعداد مریستم‌های متورم و فرورفته شمارش شده و سپس درصد مریستم‌های تورم یافته محاسبه گردید. همچنین کلیه‌ی داده‌ها را به روش زاویه‌ای نرمال کرده و تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

استخراجRNA و ساختcDNA

استخراج RNA به وسیله‌ی کیت تجاری RNX-Plus (سینا ژن، ایران) انجام شد. برای تعیین غلظت RNA پس از هر استخراج، از دستگاه نانودرآپ Thermo scientific (مدل۲۳۰۰، آمریکا) در طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. جهت ارزیابی کیفی RNA استخراج شده از روش الکتروفورز RNA روی ژل آگاروز یک درصد استفاده شد. پس از اطمینان از کیفیت RNA سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری 2step-RT-PCR (سیناژن، ایران) و با استفاده از آغازگر(T)oligo d انجام و غلظت سنجی cDNA (جهت یکسان سازی غلظت نمونه‌ها) با استفاده نانودرآپ صورت گرفت.

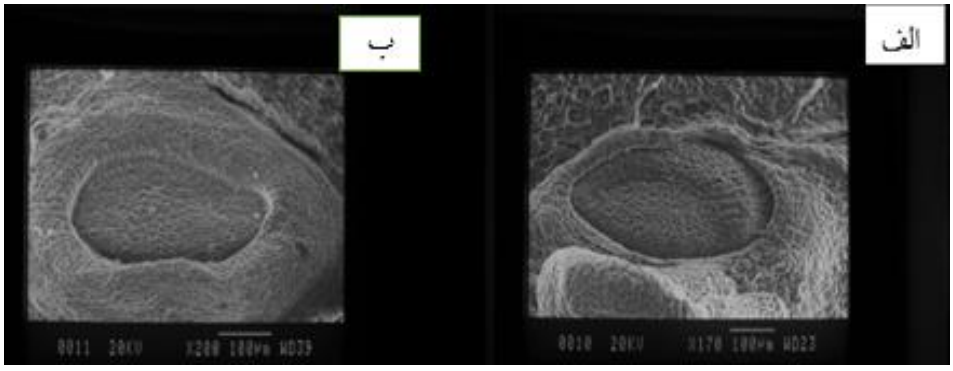
بررسی بیان نسبی ژن AcFT2 با روش Real-Time PCR

واکنش Real-Time PCR با استفاده از کیت تجاری YTA SYBR green (یکتا تجهیز آزما، ایران) و با دستگاه تشخیص Light-Cycler 98 Real-Time PCR (Roche، آلمان) انجام شد. در این تحقیق، از جفت آغازگر *AcFT2*، و نیزاز ژن رمزکننده Actin به عنوان ژن مرجع استفاده شد(Ghaemizadeh *et al*. 2018) . تمامی واکنش‌ها در ۲ 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، میزان بیان نسبی ژن‌ها با روش ΔΔCT و نرم افزار ®RESTمحاسبه گردید.

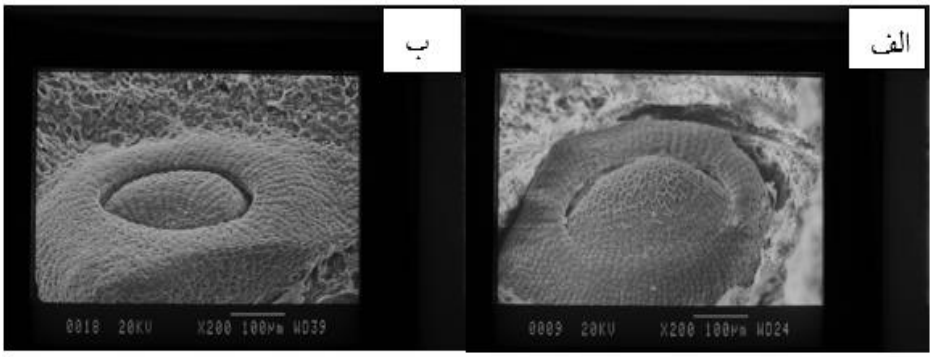
یافته‌های پژوهش

مشاهده‌ی مریستم گیاهان با میکروسکوپ الکترونی

مطالعه مریستم گیاهان شاهد با میکروسکوپ الکترونی نشان داد در هیچ کدام از گیاهان مریستم متورم نبوده و حالت فرورفته دارد که نشان‌دهنده‌ی حالت رویشی مریستم و عدم وارد شدن به فاز زایشی است (شکل۱). در شکل ۲ نیز نمونه‌ای از مریستم متورم شده که نشان دهنده‌ی ورود به مرحله‌ی زایشی است نشان داده شده است.



شکل ۱. مریستم گیاهان شاهد در بررسی با میکروسکوپ الکترونی با بزرگنمایی ۲۰۰ (مریستم فرورفته) الف) سفید قم، ب) قرمز آذرشهر. (منبع: یافته‌های تحقیق)



شکل ۲. مریستم گیاهان بهارش یافته در بررسی با میکروسکوپ الکترونی با بزرگنمایی ۲۰۰ (مریستم متورم) الف) سفید قم، ب) قرمز آذرشهر. (منبع: یافته‌های تحقیق)

اثر دما، رقم و زمان بر بهارش (تورم مریستم)

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر دما بر درصد بهارش در سطح پنج درصد معنی دار شد و اثر رقم، زمان و اثر متقابل رقم و زمان، رقم و دما و اثر متقابل هر سه فاکتور در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل زمان و دما معنی دارنشد. از آنجاییکه اثرات متقابل معنی دار شده است از ذکر اثرات ساده تیمارها اجتناب می‌گردد.

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و زمان (جدول ۱) نشان داد که رقم سفید قم طی شش هفته اعمال تیمار سرمایی بالاترین درصد تورم (۷۹/۹۵ درصد) را داشته در حالی‌که با رقم قرمز آذرشهر (۷۰/۷۵ درصد) در مدت زمان ذکر شده اختلاف معنی‌داری نداشت وکم‌ترین درصد تورم مریستم در رقم قرمز آذرشهر دو هفته پس از اعمال سرما (۲۸/۴۱ درصد) مشاهده شد.

اثر متقابل رقم و دما نشان داد که بالاترین درصد تورم مریستم در رقم سفید قم در دمای ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (۶۰/۵۶ درصد) مشاهده گردید و با سایر ترکیب های تیماری به جز رقم قرمز آذرشهر در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (۴۲/۲۶ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت. در این رابطه واکنش ارقام با یکدیگر تقریباً مشابه بود و هر دو رقم در تیمار شش هفته بالاترین درصد بهارش را نشان دادند(جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم با زمان و دما بر تورم مریستم پیاز

رقم	دمای بهارش (درجه سانتیگراد)			زمان بهارش (هفته)			
	۵	۱۰	۱۵	۲	۴	۶	۸
سفید قم	$b_{۴۵/۰۸}$	$a_{۶۰/۴۴}$	$a_{۶۰/۵۶}$	$e_{۳۲/۶۵}$	$d_{۴۳/۳۱}$	$a_{۷۹/۹۵}$	$bc_{۶۵/۵۴}$
قرمز آذرشهر	$a_{۵۹/۴۲}$	$b_{۴۲/۲۶}$	$ab_{۴۷/۵۲}$	$e_{۲۸/۴۱}$	$d_{۴۲/۷۲}$	$ab_{۷۰/۷۵}$	$c_{۵۷/۰۶}$

حروف مشترک در هر ترکیب تیماری نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد. (منبع: یافته‌های تحقیق)

طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) اثر ترکیب هر سه فاکتور رقم، زمان و دما نشان داد میزان تورم مریستم پس از دو هفته پایین بود. به طوری‌که می‌توان این‌چنین نتیجه گرفت که دو هفته دمای پایین برای القای گل‌دهی کافی نبوده است. در رقم قرمز آذرشهر اختلاف معنی‌داری بین درصد تورم مریستم در سه دمای مختلف وجود نداشت ولی درصد تورم مریستم در

رقم سفید قم در دمای ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری با سایر دماهای همین رقم داشت. این نشان‌دهنده واکنش متفاوت ارقام نسبت به دمای بهارش است. در واقع ارقام در دماهای مختلف واکنش‌های یکسان نشان نمی‌دهند.

ارزیابی پس از چهار هفته اعمال تیمار سرمایی نشان داد که دو رقم عکس العمل کاملاً متفاوتی نسبت به دمای بهارش نشان می‌دهند به طوری که در رقم سفید قم بالاترین درصد بهارش در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در رقم قرمز آذرشهر در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد مشاهده گردید. در واقع رقم قرمز آذرشهر به دمای پایین‌تر واکنش بهتری نشان داده است.

هم‌چنان‌که در جدول مقایسه میانگین مشخص است تفاوت ارقام در هفته‌ی ششم نیز کاملاً مشهود است. به طوری‌که در رقم سفید قم (۹۰ درصد) بالاترین درصد بهارش بدون اختلاف معنی دار در دمای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد مشاهده شد در حالی‌که بالاترین درصد بهارش در رقم قرمز آذرشهر (۹۰ درصد) در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد مشاهده شد و در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مقدار قابل توجهی از درصد گیاهان بهارش شده کاسته شد. در واقع بهارش مؤثر در رقم قرمز آذرشهر در دمای پایین‌تری نسبت به رقم سفید قم صورت می‌گیرد. بهارش قابل توجه پیازها پس از شش هفته نگه‌داری در انبار نشان‌دهنده‌ی کافی بودن مدت زمان برای بهارش ارقام مورد مطالعه است.

در زمان هشت هفته نیز همانند زمان‌های قبل، واکنش متفاوت ارقام نسبت به دماهای مختلف مشاهده شد. به طوری که هم‌چنان بیشترین درصد بهارش در رقم سفید قم در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد مشاهده شد در حالی‌که این امر در رقم قرمز آذرشهر در دمای پنج درجهٔ سانتی‌گراد دیده شد. در هر دو رقم نگه‌داری سوخ‌ها به مدت هشت هفته موجب کاهش درصد بهارش شده و حداکثر کاهش درصد تورم مریستم در رقم قرمز آذرشهر در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در رقم سفید قم در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد یعنی در دماهایی مشاهده شد که طی چهار و شش هفته موجب بالاترین درصد بهارش شده بود. به طور کلی شش هفته تیمار سرمایی در رقم سفید قم در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (۹۰ درصد) و رقم قرمز آذرشهر در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد (۹۰ درصد) منجر به بالاترین تورم مریستم گردید.

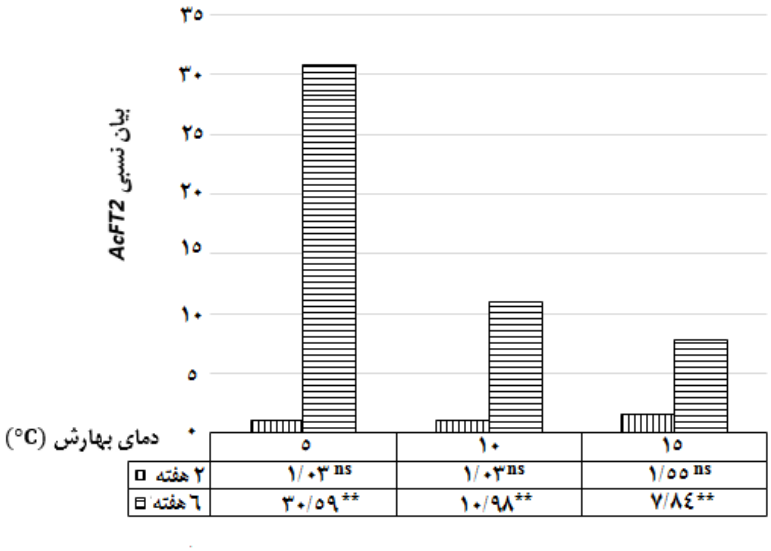
جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه رقم، زمان و دما بر درصد تورم مریستم پیاز

رقم × دما (°C)	مدت زمان بهارش (هفته)			
	۲	۴	۶	۸
سفیدقم×۵	$h_{۵۸/۲۹}$	$h_{۳۸/۳۱}$	$c_{۵۹/۸۵}$	$cd_{۵۹/۵۱}$
سفیدقم ×۱۰	$h_{۲۹/۵۷}$	$de_{۵۳/۸۳}$	$a_{۹۰/۰۰}$	$b_{۶۸/۳۴}$
سفیدقم ×۱۵	$g_{۸۱/۳۸}$	$f_{۴۴/۶۹}$	$a_{۹۰/۰۰}$	$b_{۶۸/۷۷}$
قرمز آذر شهر × ۵	$h_{۲۶/۱۰}$	$cde_{۹۶/۵۴}$	$a_{۹۰/۰۰}$	$b_{۶۶/۶۱}$
قرمز آذر شهر × ۱۰	$h_{۲۹/۵۷}$	$h_{۸۵/۳۱}$	$cd_{۵۷/۲۲}$	$e_{۵۰/۴۰}$
قرمز آذر شهر × ۱۵	$h_{۲۹/۵۶}$	$fg_{۴۱/۳۴}$	$b_{۶۵/۰۵}$	$cde_{۵۴/۱۶}$

حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد می‌باشد. (منبع: یافته‌های تحقیق)

بررسی بیان نسبی ژن AcFT2 در مریستم پیاز خوراکی

پس از انجام واکنش ریل تایم پی سی آر نتایج مربوط به نمونه‌های دو و شش هفته سرما دهی در رقم قرمز آذرشهر تجزیه وتحلیل شد. براساس نتایج به دست آمده، بیان نسبی ژن *AcFT2* در جوانه‌ی مرکزی سوخ، شش هفته پس از بهارش نسبت به شاهد (گیاه قبل از سرمادهی) افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۳). بیش‌ترین میزان بیان نسبی در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد (۳۰/۵۹ برابر نسبت به شاهد) و کم‌ترین میزان در دمای ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (۷/۴۸ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد. بنابراین با افزایش دما میزان بیان ژن *AcFT2* کاهش یافته است.



شکل۳. بیان نسبی ژن ***AcFT2*** *درجوانه‌ی* مرکزی سوخ‌های پیاز رقم قرمز آذرشهر طی نگهداری در دما (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی گراد) و زمان‌های مختلف (۲ و ۶ هفته). شاهد: گیاه قبل از سرمادهی (**ns**غیر معنی‌دار و ****در سطح احتمال یک درصد معنی دار). (منبع: یافته‌های تحقیق)

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده دو هفته اعمال سرما در دو رقم سفید قم و قرمز آذرشهر منجر به بهارش نشده و به عبارتی القای گل‌دهی در آن‌ها صورت نگرفت. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Khokhar (2007) مبنی بر این‌که آغازش گل‌آذین در ارقام هیگرو و دلتا در گیاهان تیمار شده به مدت ۱۰ روز رخ نداد مطابقت دارد. همچنین Currah و Proctor (1990) اظهار داشتند دماهای هفت تا هشت درجه‌ی سانتی‌گراد پس از ۱۵ روز تیمار سرمایی در ارقام پیاز منجر به گل‌دهی در آن‌ها نگردید و بیش‌تر ارقام به تیمار سرمایی طی ۹۰ روز واکنش نشان دادند.

به طور کلی میزان بهارش ارقام در طی چهار هفته در تمامی دماها چندان بالا نبوده و حدود پنجاه درصد می‌باشد که نشان‌دهنده‌ی بهارش نسبی در تیمار چهار هفته می‌باشد که با نتایج Bertaud (1988) مبنی بر این‌که آغازش گل‌دهی ارقام گلادالان براون (Gladalan Brown) و ارلی لانگ کیپر (Early Long Keeper) طی چهار هفته تیمار سرمایی در دمای هشت درجه‌ی سانتی‌گراد کافی است، مغایرت دارد. دمای بهینه‌ی بهارش برای ارقام مختلف متفاوت است. در بیش‌تر ارقام محدوده‌ی دمایی ۵ تا ۱۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ تا ۱۲۰ روز برای القای گل‌آذین مناسب است. اگرچه ارقام مقاوم به بولتینگ به مدت زمان بیش‌تری (۱۵۴ تا ۱۸۵ روز) در مقایسه با ارقام بهاره نیاز دارند (Khokhar, 2008; Peters, 1990; Wien, H. C. & Stutzel H, 2020; Shishido & Saito, 1975)

ارقام مختلف پیاز شرایط بهینه‌ی متفاوتی برای بهارش دارند از جمله دما و طول زمان که برای عبور از مرحله‌ی گل‌انگیزی و مراحل مختلف آغازش گل‌آذین و توسعه‌ی آن مورد نیاز است (Khokhar, 2008) . مدت زمان مورد نیاز در دمای پایین برای انگیزش گل‌آذین، به رقم و درجه‌ی حرارت بستگی دارد. تحقیقات نشان داده است در دمای بهینه طول دوره، بسیار کوتاه‌تر است و اگر دما در حد بهینه نباشد لازم است گیاهان دوره طولانی‌تری در معرض دمای پایین قرار بگیرند. مطالعات صورت گرفته در سیر (Kamenetsky & Rabinowitch, 2002) زیتون (Haberman *et al*., 2017) ، سیب (Foster *et al*.,2003) ، نرگس (Noy-Porat *et al*., 2009) و گیلاس (Guimond *et al*., 1998) حاکی از آن است که اولین تغییر قابل ملاحظه در القای گل‌دهی متورم شدن مریستم است. اعمال سرما طی شش هفته پس از بهارش منجر به متورم شدن مریستم انتهایی در هر دو رقم شد. در واقع بهارش به مدت شش هفته برای القای گل‌دهی در هر دو رقم کافی بود.

ارقام سازگار با شرایط گرم‌تر نیاز سرمایی کمتری داشته و احتمالاً دمای بهینه‌ی بهارش بالاتری دارند. به عنوان مثال ارقام خاصی مثل باکو در محدوده‌ی دمایی ۱۵ تا ۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد هم قادر به انگیزش گل‌آذین هستند (Sinnadurai, 1970). بنابراین می‌توان گفت رقم سفید قم نسبت به رقم قرمز آذرشهر با توجه به موقعیتی که در آن سازگاری یافته در دماهای بالاتری آغازش یافته است.

نتایج این پژوهش در رابطه با تاثیر دما بر بهارش با یافته‌های Woodbury (1950) مبنی بر کاهش توسعه‌ی گل‌آذین دردماهای بالاتر (۱۶ درجه‌ی سانتی‌گراد یا بالاتر) مطابقت دارد. بر اساس یافته‌های Reghin *et al.* (2005) بهارش سوخ‌های پیاز در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد باعث افزایش عملکرد بذر شده است. طبق بررسی‌های انجام شده توسط Streck (2003) گیاه پیاز در دمای پایین (پنج درجه سانتی‌گراد) بهاره نشده و بیش‌ترین پاسخ به بهارش در دمای ۹ تا ۱۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بوده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیش‌ترین میزان بیان نسبی ژن *AcFT2* در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد صورت گرفته است این نتایج با یافته‌های Reghin *et al.* (2005) مطابقت و با نتایج Streck (2003) مغایرت داردکه می‌تواند ناشی از تفاوت ارقام مورد مطالعه باشد. *FT* به عنوان یک ژن محرک زمان گل‌دهی نقش کلیدی در انتقال گیاه از فاز رویشی به زایشی دارد. در آرابیدوبسیس، *FT* پس از بهارش در برگ بیان می‌شود (Song *et al*.,2012) ؛ بر اساس نتایج Lee *et al*. (2013) در پیاز، بهاره شدن باعث بیان *AcFT2* در جوانه‌ی مرکزی و انتقال گیاه به فاز زایشی می‌گردد. یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر نیز نشان داد که بیش‌ترین میزان بیان ژن *AcFT2* در مریستم انتهایی پیاز شش هفته پس از بهارش صورت گرفت. این نتیجه با یافته‌های Lee *et al*. (2013) همخوانی دارد.

طبق نتایج این تحقیق، در رقم قرمز آذرشهر تفاوت قابل ملاحظه‌ای در بیان ژن *AcFT2* طی دو هفته اعمال سرما مشاهده نشد. دما و طول روز دو عامل مؤثر در بیان ژن *AcFT2* می‌باشند و این ژن در دماهای مختلف الگوی بیانی متفاوتی نشان داد. بر اساس تحقیق حاضر، دمای بهینه جهت بهارش این رقم احتمالاً پنج درجه‌ی سانتی‌گراد است. مقایسه‌ی بیان نسبی ژن *AcFT2* در دماهای مختلف نشان داد که بیش‌ترین میزان بیان نسبی ژن در دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد است. در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نیز ژن *AcFT2* (با میزان کم‌تری نسبت به دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد) بیان شد. در واقع محدوده‌ی دمایی پنج تا ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد منجر به بهارش در این رقم می‌شود. این نتیجه با یافته‌های Khokhar (2008)در ارتباط با آغازش گل‌دهی در محدوده‌ی دمایی ۵ تا ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد همخوانی دارد. علاوه بر آن، پاسخ پیاز به دما بسیار متفاوت است؛ که این تفاوت می تواند ناشی از تفاوت در سن فیزیولوژیکی، زمان القای گل‌دهی و تفاوت‌های ژنتیکی (تفاوت ارقام) باشد (Brewster, 1987).

نتیجه گیری

به طور کلی می‌توان گفت مدت زمان بهینه‌ی بهارش در هر دو رقم قرمز آذرشهر و سفید قم شش هفته می باشد. به نظر می‌رسد گل‌انگیزی رقم قرمز آذر شهر در دمای پنج درجه سانتی‌گراد و رقم سفید قم در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد بیش‌تر صورت می‌گیرد. همچنین هشت هفته تیمار سرمایی در هر دو رقم موجب کاهش درصد تورم مریستم گردید و رقم قرمز آذرشهر نسبت به رقم سفید قم بیش‌تر تحت تأثیر زمان قرار گرفت.

ژن *AcFT2* شش هفته پس از اعمال سرما در جوانه مرکزی سوخ‌های پیاز رقم قرمز آذرشهر بیان شد. دو هفته سرمادهی در این رقم تفاوت قابل ملاحظه‌ای دربیان ژن *AcFT2* نشان نداد. بیش‌ترین میزان بیان ژن *AcFT2* در دمای پنج درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و متعاقباً دمای بهینه جهت بهارش این رقم دمای پنج درجه سانتی‌گراد می‌باشد. نتایج بیان ژن *AcFT2* در پیاز رقم قرمز آذرشهر در راستای نتایج به دست آمده از تورم مریستم بود و با آن هم‌خوانی داشت.

منابع

عالم زاده انصاری، ناصر (۱۳۸۹). *پیاز*. دانشگاه شهید چمران اهواز. اهواز.

قائمی زاده، فهیمه؛ دشتی، فرشاد و شافعی نیا، علیرضا (۱۳۹۷). بررسی الگوی بیان ژن‌های *AsFT* و *gaLFY* در فرایند تکامل زایشی در اندام‌های مختلف برخی از همگروه‌های سیر ایرانی (*Allium sativum* L.). *علوم باغبانی ایران*، ۴۹(۱)، ۲۷۸-۲۶۹.

REFERENCES

Alemzadeh Ansari, N. (2010). *Onion*. Ahvaz: Shahid Chamran Ahvaz University. (In Persian). https://mybooket.com/books/646d34234b1a1d47/%D9%BE%DB%8C%D8%A7%D8%B2.

Bertaud, D.S. (1988). Effects of chilling duration, photoperiod and temperature on floral initiation and development in sprouted and un sprouted onion bulbs. *Proceeding of the 4th Eucarpia Allium symposium, Welles Bourne*, 254-261. https://worldveg.tind.io/record/15790/.

Brewster, J. L. (1987). The effect of temperature on the rate of sprout growth and development within stored onion bulbs. *Annals of Applied Biology*, 111, 463-467. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.1987.tb01475.x.

Brito de Almeida, D. Barbosa, J. G. Saraiva Grossi, J. A. Finge, F. L. & Heidemann, J. C. (2017). Influence of vernalization and bulb size on the production of lily cut flowers and lily bulbs. *Semina: Ciencias Agrarias*, 38(4), 2399- 2408. https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/16767.

Dennis, E. S. Finnegan, E. J. Bilodeau, P. Chaudhury, A. Genger, R. Helliwell, C. A. Sheldon, C. C. Bagnall, D. J. & Peacock, W. J. (1996). Vernalization and the initiation of flowering. *Cell and Developmental Biology*, 7, 441 - 448. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1084952196900555.

Foster, T. Johnston, R. & Seleznyova, A. (2003). A morphological and quantitative characterization of early floral development in apple (*Malus* x *domestica* Borkh.). *Annals of Botany*, 92(2). https://academic.oup.com/aob/article/92/2/199/209246.

Ghaemizadeh, F. Dashti, F. & Shafeinia A. (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), 269-278. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.237091.1280.

Glover, B. (2007). *Understanding of flowers and flowering: an integrated approach*. Oxford University. https://academic.oup.com/book/5359.

Guimond, C. M. Andrews, P. K. & Lang, G. A. (1998). Scanning electron microscopy of floral initiation in sweet cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(4), 509-512. https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/123/4/article-p509.xml.

Haberman, A. Zelinger, E. & Samach, A. (2017). Scanning Electron Microscope (SEM) imaging to determine inflorescence initiation and development in olive. *Bio-protocol*, 7(19). https://bio-protocol.org/pdf/Bio-protocol2575.pdf.

Hsu, C.Y. Adams, J.P. Kim, H. No, K. Ma, C. Strauss S.H. & Yuceer C. (2011). *FLOWERING LOCUS T* duplication coordinates reproductive and vegetative growth in perennial poplar. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 10756-10761. https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1104713108.

Kamenetsky, R & Fritsch,R.M. (2002). Florogenesis. In *Allium crop sciences, Recent Advances*. Edited by Rabinowitch, H.D & Currah. L. New York: CABI International, Wallingford. 101–117. https://www.cabi.org/VetMedResource/ebook/20023117383.

Kamenetsky, R. & Rabinowitch, H.D. (2002). Ornamental Alliums. In *Allium Crop Science. Recent Advances*. Edited by Rabinowitch, H. D. & Currah, L. New York: CABI Publishing, Wallingford. 459-488. https://www.cabi.org/VetMedResource/ebook/20023117383.

Khokhar, K.M. (2008). Effect of temperature and photoperiod on the incidence of bulbing and bolting in seedlings of onion cultivars of diverse origin. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83: 488-496. https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2008.11512412.

Khokhar, K.M. Hadley, P. & Pearson, S. (2007). Effect of cold temperature durations of onion sets in store on the incidence of bolting, bulbing and seed yield. *Scientia Horticulturae*, 112, 16-22. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423806004900.

Lee, R. Baldwin, S. Kenel, F. McCallum, J. & Macknight, R. (2013). *FLOWERING LOCUS T* genes control onion bulb formation and flowering. *Nature Communications*, 4, 2884. https://www.nature.com/articles/ncomms 3884.

Noy-Porat, T. Flaishman, M. A. Eshel, A. Sandler-Ziv, D. & Kamenetsky, R. (2009). Florogenesis of the Mediterranean geophyte *Narcissus tazetta* and temperature requirements for flower initiation and differentiation. *Scientia Horticulturae*, 120(1), 138-142. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423808004020.

Peters, R. (1990). Seed Production in onions and some other *Allium* species. In: *Onions and Allied crops. Botany, Physiology and Genetics*. Edited by Rabinowitch, H.D. & Brewster, J.L. Vol. 1, Boca Raton, Florida: CRC Press. 161-176. https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351075169-8/seed-production-onions-allium-species-ross-peters.

Reghin, M.Y. Otto, R.F. Olinik, J.R. Jacoby, C.F.S. & de Oliveira, R.P. (2005). Vernalization of bulbs and the effect on yield and physiological potential of onion seeds. *Horticultura Brasileira*, 23, 294-298.
https://www.scielo.br/j/hb/a/LmgVrZ5CJN5YG56LDVn9zrb/abstract/?lang=en&format=html.

Shishido, Y. & Saito, T. (1975). Studies on the flower bud formation in onion plants. 1. Effects of temperature, photoperiod and light intensity on the low temperature induction of flower buds. *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, 44, 122-130. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjshs1925/44/2/44_2_122/_article/-char/ja/.

Sinnadurai, S. (1970). A note on the bulbing and flowering habit of the bawku onion. *Tropical Agriculture*, 47, 77-79. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19700306414.

Song, J. Angel, A. Howard, M. & Dean, C. (2012). Vernalization a cold-induced epigenetic switch. *Journal of Cell Science*, 125, 3723–3731. https://journals.biologists.com/jcs/article/125/16/3723/32471/Vernalization-a-cold-induced-epigenetic-switch.

Streck, N.A. (2003). A vernalization model in onion (*Allium cepa* L.). *Revista Brasileira de Agrometeorologia Santa Maria*, 9(2), 99-105. https://periodicos.ufpel.edu.br/index.php/CAST/article/view/520.

Wien, H. C. & Stutzel H. (2020). *The physiology of vegetable crop.* 2nd edition. New York. CABI. Press, Wallingford. 497. https://worldveg.tind.io/record/23718/.

Woodbury, G.W. (1950). A study of factors influencing floral initiation and seed stalk development in the onion, *Allium cepa* L. *Idaho Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, 18- 27. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19511603065