The University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

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

# Investigating the Effect of Chilling Treatment on the Dormancy Breaking and Forcing of Klous (*Kelussia odoratissima* Mozaff.), an Endemic Medicinal Plant of Iran

**Faezeh Mahdavikia[1], Mohammad-Taghi Ebadi[2] ✉, Abdolali Shojaeiyan[3], Mahdi Ayyari[4], Mohsen Falahati-Anbaran[5]**

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TUM), Tehran, Iran. E-mail: f.mahdavikia@modares.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TUM), Tehran, Iran. E-mail: mt.ebadi@modares.ac.ir
3. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TUM), Tehran, Iran. E-mail: shojaeiyan@modares.ac.ir
4. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TUM), Tehran, Iran. E-mail: m.ayyari@modares.ac.ir
5. School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: falahati@ut.ac.ir

**Article Info**

**Article type:**

Research Article

**Article history:**

Received: 23 January 2024

Received in revised form: 14 May 2024

Accepted: 11 June 2024

Published online: Atumn 2024

**Keywords**:

*α-Amylase,*

*Chilling requirement,*

*Gibberellic acid,*

*Physiological dormancy,*

*Soluble carbohydrate.*

**ABSTRACT**

To investigate the effect of the number of chilling hours (2°C) on the dormancy and growth of tuberous roots of *K. odoratissima*, an experiment with five chilling durations (0, 700, 1400, 2100, and 2800 hours) was performed in the form of a completely randomized design with three replications. Certain growth and biochemical traits along with gibberellic and abscisic acid were measured. The highest percentage of sprouting (72%) was observed in the tuberous roots subjected to the chilling treatment of 2800 h, whereas in the chilling treatment of 1400 h 50% of the tuberous roots sprouted. Chilling treatment led to an acceleration of sprouting and an increase in seedling vigor and length. The highest amount of soluble carbohydrates was recorded in the chilling treatment of 2800 h (76 mg/g fresh weight) and the lowest amount was observed in the control treatment (7 mg/g fresh weight). Chilling treatment also led to changes in the concentration of abscisic acid and gibberellic acid, so that the highest concentration of gibberellic acid and the lowest amount of abscisic acid (75.5 and 20.2 nanomoles per gram of fresh weight, respectively) belonged to 2800 h treatment. In addition, chilling treatment increased the activity of alpha-amylase, beta-amylase, and protease enzymes by 1.2, 0.63, and 0.35 mg/g fresh weight, respectively. These results indicated that the chilling requirement of the *K. odoratissima* plant is approximately 2100 to 2800 h, and the forcing culture of this valuable plant in a controlled environment was successful.

**Cite this article:** Mahdavikia, F., Ebadi, M. T., Shojaeiyan, A., Ayyari, M. & Falahati-Anbaran, M. (2024). Investigating the Effect of Chilling Treatment on the Dormancy Breaking and Forcing of Klous (*Kelussia odoratissima* Mozaff.), an Endemic Medicinal Plant of Iran. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55 (3), 407-423. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.371378.2150

© The Author(s).

**Publisher:** The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.371378.2150

## Extended Abstract

### Introduction

Mountain celery (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) previously described as "*Amirkabiria odoratissima* Mozaff., *Apium graveolens* L., and *Opopanax* sp.", is the sole species reported for *Kelussia* genus, the new genera recently introduced to Apiaceae family. The plant is a tall perennial herb that is predominately outcrossing and pollinated mainly by bees. It inhabits alpine regions (found in over 2,500 m. a.s.l.) of central

Zagros mountains (Iran) and is distributed in a restricted geographic range, experiencing subfreezing temperature for several months and short growing season. *K. odoratissima* locally known as "Kelous", is a medicinal wild plant with a pleasant taste and aroma containing valuable secondary metabolites including Z-Ligustilide and Z-Butylidene phthalide. In addition, it contains phenolic compounds such as flavonoids and flavonols, which are attributed to the cancer prevention and liver protection, as well as its antibacterial and antimicrobial properties. Other pharmacological properties of this plant include analgesic, anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-allergic, fibrinolytic, acid and pepsin reducing, and memory enhancing effects. In traditional medicine, the plant is used to treat rheumatism, heart diseases, menstrual pain, hypertension, and high cholesterol. It has also sedative and antispasmodics properties. Recently, the conservation of indigenous and threatened species has attracted considerable attention globally. Long-term seed dormancy, slow growth rate, insufficient production in limited local habitats, and harvesting in the early stages of growth (buds) have endangered the survival of this plant. Consecutive harvesting of buds causes the permanent destruction of this plant. Therefore, the possibility of production in controlled environments and off-season can help to preserve it.

**Materials and Methods**

In order to carry out the research, tuberous roots of one-year-old plants, uniform and free from any diseases and pests, were obtained from Raisi nursery (located in Chaharmahal and Bakhtiari province) and transferred to the Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. The experiment started in the middle of October 2018 and lasted until the end of March 2019. First, the tuberous roots were disinfected with captan fungicide at a concentration of 2 parts per thousand then grouped to 10 in fabric bags and were sprinkled with water to provide moisture. Roots were placed in a refrigerator at a temperature of 2-7°C. The samples were checked and moistened every three days. To investigate the effect of the number of chilling hours above zero (2-7°C) on the dormancy and growth of tuberous roots of *K. odoratissima*, five chilling durations (0, 700, 1400, 2100, and 2800 hours) was examined in the form of a completely randomized design with three replications. The measured morphological and biochemical traits were germination parameters (percentage of germination, germination index, number of days until germination and seedling stem index) total carbohydrates, starch and total protein. Moreover, enzyme activities (α-amylase), β-amylase and protease) and some phyto-hormones (gibberellic acid and abscisic acid) were evaluated.

**Results and Discussion**

The highest percentage of germination (72%) was observed in the tuberous roots that were subjected to chilling treatment of 2800 h, whereas in chilling treatment of 1400 h 50% of the tuberous roots germinated. Chilling treatment led to an acceleration of sprouting and an increase in seedling vigor and length. The highest amount of soluble carbohydrates (76 mg/g fresh weight) was recorded in the cold treatment of 2800 h and the lowest (7 mg/g fresh weight) in the control treatment Chilling treatment also led to changes in the concentration of abscisic acid and gibberellic acid, so that the highest concentration of gibberellic acid and the lowest amount of abscisic acid (75.5 and 20.2 nanomol per gram of fresh weight, respectively) were belonged to 2800 h treatment. In addition, chilling treatment increased the activity of alpha-amylase, beta-amylase and protease enzymes by 1.2, 0.63, and 0.35 mg/g fresh weight, respectively. These results indicated that the chilling requirement of the *K. odoratissima* is approximately 2100 to 2800 h and the forcing of *K. odoratissima* in a controlled environment has been successful.

**Conclusion**

To preserve, expand, and revive the habitats of this valuable and at risk of extinction medicinal plant, creating a basis for developing its cultivation and domestication using the forced cultivation technique is recommended as an alternative solution.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۵، شماره ۳

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

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

# بررسی اثر تیمار سرمایی بر رفع خفتگی و پیش‌رس کردن کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) گیاه دارویی بومی ایران

فائزه مهدوی‌کیا[۱] | محمّدتقی عبادی[۲]✉ | عبدالعلی شجاعیان[۳] | مهدی عیاری نوش‌آبادی[۴] | محسن فلاحتی عنبران[۵]

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران. رایانامه: f.mahdavikia@modares.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران. رایانامه: mt.ebadi@modares.ac.ir

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: shojaeiyan@modares.ac.ir

۴. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران. رایانامه: m.ayyari@modares.ac.ir

۵. گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم دانشگاه تهران، تهران ، ایران. رایانامه: falahati@ut.ac.ir

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:**

مقالهٔ پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۱۱/۰۳

**تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۳/۰۲/۲۵

**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

**تاریخ انتشار:** پاییز ۱۴۰۳

**کلیدواژه‌ها:**

*آلفا آمیلاز، جیبرلیک اسید، خفتگی فیزیولوژیک، کربوهیدرات محلول، نیاز سرمایی.*

**چکیده**

به‌منظور بررسی تاثیر تعداد ساعات سرمایی (۲ درجه سلسیوس) بر خفتگی و رویش جوانه ریشه غده‌ای گیاه دارویی کلوس، آزمایشی با پنج تیمار دوره سرمادهی (۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰، ۲۱۰۰ و ۲۸۰۰ ساعت) در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. برخی شاخص‌های رویش و بیوشیمیایی و میزان هورمون‌های جیبرلیک اسید و آبسزیک اسید ارزیابی گردید. بیشترین میزان رویش ریشه غده‌ای کلوس (۷۲ درصد) در تیمار سرمایی ۲۸۰۰ ساعت مشاهده شد و همچنین در تیمار سرمایی ۱۴۰۰ ساعت نیز ۵۰ درصد غده‌ها رویش کرده بودند. تیمار سرمایی منجر به تسریع رویش، افزایش طول گیاهچه و بنیه گیاهچه شد. تحت تأثیر تیمار سرمایی بیشترین و کمترین میزان کربوهیدرات محلول (به‌ترتیب ۷۶ و ۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌ترتیب در تیمار سرمایی ۲۸۰۰ و صفر ساعت (شاهد) ثبت گردید. همچنین، بیشترین میزان جیبرلیک اسید و کمترین میزان آبسزیک اسید به‌ترتیب ۷۵/۵ و ۲۰/۲ (نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار سرمایی ۲۸۰۰ ساعت مشاهده شد. علاوه براین، سرما باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و پروتئاز به‌ترتیب ۱/۲، ۰/۶۳ و ۰/۳۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که خفتگی ریشه غده‌ای کلوس از نوع خفتگی فیزیولوژیک بوده و می‌توان آنرا با مشابه‌سازی شرایط محیطی بسته به طول دوره سرما و شرایط اکولوژیک رویشگاه تا حدودی خنثی کرد. در پایان مشخص شد که نیاز سرمایی کلوس تقریباً ۲۱۰۰ تا ۲۸۰۰ ساعت می باشد و پیش‌رس کردن کلوس در محیطی کنترل شده موفقیت‌آمیز بود.

**استناد:** مهدوی‌کیا، فائزه؛ عبادی، محمدتقی؛ شجاعیان، عبدالعلی؛ عیاری نوش آبادی، مهدی و فلاحتی عنبران، محسن (۱۴۰۳). بررسی اثر تیمار سرمایی بر رفع خفتگی و پیش‌رس کردن کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) گیاه دارویی بومی ایران. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۵ (۳)، ۴۲۳-۴۰۷. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.371378.2150

**ناشر:** مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.371378.2150

## مقدمه

کشور ایران دارای تنوع زیستی و ژنتیکی قابل توجهی می‌باشد. تنوع جغرافیایی و آب و هوایی در گستره سرزمین پهناور ایران، گوناگونی عظیمی را در شرایط اقلیمی و به تبع آن در جوامع گیاهی پدید آورده است. تاکنون گیاهشناسان داخلی و خارجی تعداد گیاهان موجود در ایران را حدود ۸۰۰۰ گونه برآورد کرده‌اند. ایران با داشتن بیش از یک چهارم سرده‌های چتریان (Apiaceae)، یکی از مراکز پراکنش مهم این تیره به‌ویژه در منطقه جنوب غرب آسیا محسوب می‌شود (Mousavi *et al*., 2020). در فلور ایران تیره چتریان تیره‌ای مهم با ۱۲۲ آرایه انحصاری می‌باشد (Mozaffarìan, 2007).

سرده *Kelussia* یکی از جدیدترین سرده‌های تیره چتریان بوده که فقط در ایران گزارش شده است. گونه *Kelussia odoratissima* Mozaff. با نام فارسی "کلوس" یا "کرفس‌کوهی" گیاهی است اندمیک ایران که رویشگاه طبیعی آن محدود به ارتفاعات بالاتر از ۲۵۰۰ متر از سطح دریا، در مناطق محدودی از رشته کوه‌های زاگرس (استان های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد و خوزستان) با خاک رسی سیلتی، حداقل ۴–۵ ماه دمای زیر صفر و دمای حداکثر ۲۰ درجه سلسیوس می باشد. (Razeghi *et al*., 2016). این گیاه توسط برنامه توسعه ملل متحد[۲] اخیرا به‌عنوان گونه در معرض خطر در ایران معرفی شده است (Ebrahimi *et al*., 2018). ارتفاع ساقه گل‌دهنده این گیاه به ۱۲۰ و گاهی ۲۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌ها قاعده‌ای، بزرگ و دوبار شانه‌ای است و گل‌آذین آن چتر انتهایی و بزرگ می‌باشد. شکل ظاهری این گیاه در اوایل دوره رویشی به‌دلیل فشردگی برگ‌های قاعده‌ای به‌شکل غنچه می‌باشد.

کلوس یک سبزی دارویی و بسیار معطر است که حاوی متابولیت‌های ثانویه ارزشمندی چون Z–لیگوستیلید[۳]و ۳–ای–بوتیل‌فتالید[۴]می‌باشد (Ahmadi *et al*., 2007; Ebrahimi *et al*., 2018). علاوه براین، حاوی ترکیبات فنولی است که به بروز اثراتی مانند پیشگیری از سرطان و فعالیت ضد میکروبی منجر می‌شود. خواص دارویی این گیاه شامل اثرات ضد درد، ضد التهاب، ضد حساسیت و تقویت کننده حافظه می‌باشد. در طب سنتی از این گیاه برای درمان روماتیسم، بیماری‌های قلبی، اسپاسم، تسکین درد قاعدگی، فشار خون و کلسترول استفاده می‌شود (Azizi *et al*., 2017; Ebrahimi *et al*., 2018; Hadian *et al*., 2014; Mirhosseini *et al*., 2015; Sajjadi *et al*., 2013; Torki *et al*., 2018). از نظر تغذیه‌ای نیز نزدیک به ۵۰ درصد ترکیب اسیدهای چرب کلوس شامل اسیدهای چرب ضروری ارزشمند می‌باشد. اسیدهای چرب اصلی شناسایی شده عبارتند از اسید لینولئیک (۲۵/۴۶ درصد)، آلفا–لینولئیک (۱۶/۶۶ درصد)، اسید پالمتیک (۱۱/۹۲ درصد)، اسید اولئیک (۹/۳۳ درصد)، اسید استئاریک (۴/۷۲ درصد) و اسید سیس–۱۰–پنتادکنوئیک (۳/۲۹) درصد (Ghasemi *et al*., 2015).

افزایش ارزش اقتصادی یک گونه گیاهی می‌تواند منجر به کاهش شدید در جمعیت‌های وحشی به‌دلیل استفاده بی‌رویه شود (Kim *et al*., 2017). برداشت از جمعیت‌های وحشی و روش‌های جمع‌آوری مخرب، مانند حذف اندام‌های زیرزمینی و هوایی که برای بقا گیاهان ضروری است، می‌تواند تهدید جدی تلقی گردد و اغلب منجر به ناپدید شدن این قبیل گونه‌ها شود. کلوس نیز باوجود پراکنش محدود، در معرض برداشت شدید توسط ساکنین قرار گرفته است. مردم بومی از تمام پیکره گیاه برای مقاصد گوناگون استفاده می‌کنند (Amiri & Joharchi, 2016). علاوه بر این، خفتگی طولانی مدت بذر، سرعت رشد آهسته، تولید ناکافی در رویشگاه‌های محدود و برداشت در مراحل اولیه رشد گیاه، جمعیت کلوس را در سال‌های اخیر به‌شدت کاهش داده است (Askari-Khorasgani *et al*., 2013). از این رو انجام پژوهش‌هایی با هدف برطرف کردن خفتگی طولانی ریشه غده‌ای و تسریع رشد این گیاه ارزشمند ضروری به‌نظر می‌رسد.

---

1Taxon
2United Nations Development Programme (UNDP)
3*Z*-Ligustilide
43-e-Butylphthalide

تکنیک پیش‌رس کردن فرآیندی راهبردی است که با فراهم نمودن شرایطی ویژه به رشد گیاه در خارج از فصل کمک می‌کند (Uragami *et al*., 2017, Uno *et al*., 2021, Jang *et al*., 2022). پیش‌رس کردن یکی از روش‌های تولید خارج فصل محصولاتی چون مارچوبه، شیکوره، کاهو، ریواس، کرفس، هویج و گیاهان پیازی است. به‌عنوان مثال، پیش‌رس کردن شیکوره عموماً با استفاده از کاشت با تراکم بالا در فضای تاریک و تحت دمای کنترل شده و ثابت ۱۴ تا ۱۸ درجه سلسیوس انجام می‌شود. دماهای بالا باعث رشد سریع سرهای شل و کشیده می شود، در حالی که دمای پایین باعث کاهش سرعت رشد و تولید سرهای کوتاه‌تر و سفت‌تر می شود. از آنجا که سرهای شل، نامنظم یا کوچک قابل فروش نیستند، کنترل دما در محدوده مناسب در پیش‌رس کردن مهم است (Uno *et al*., 2021). پیش‌رس کردن گیاه ریواس اساساً با مارچوبه تفاوتی ندارد. البته ذکر این نکته لازم است که توصیه‌های مربوط به شیوه‌های مختلف پیش‌رس کردن ریواس یا به قدری مبهم و نامشخص هستند یا آنقدر با هم متفاوت هستند که به‌منظور یافتن روش مناسب مبتنی بر عوامل مختلف موجود بررسی شواهد بیشتری ضروری به‌نظر می‌رسد (Raymond Hepler, 1922; Bailey, 1897).

گیاهان دارویی که از عرصه‌های طبیعی برداشت می‌شوند در مقایسه با گونه‌های زراعی و اصلاح شده به‌مدت زمان بیشتری برای جوانه‌زنی احتیاج داشته و اغلب بذرهای گیاهان دارویی دارای سطوح مختلف خفتگی می‌باشند (Yeom *et al*., 2021; Malek *et al*., 2022) از آنجا که دانش کنونی ما درباره نحوه بازسازی رویشگاه‌های طبیعی کلوس بسیار محدود و ناچیز است، بایستی چگونگی کاهش طول دوره خفتگی و زمینه‌سازی جهت پرورش آن در محیط‌های مصنوعی به‌عنوان راهکاری جایگزین با هدف حفظ رویشگاه‌ها مورد توجه و بررسی قرار گیرد. از طرفی تاکنون مطالعه‌ای بر روی خفتگی ریشه غده‌ای گیاه کلوس با هدف تسریع دوره رشد صورت نگرفته است. بنابراین، هدف این پژوهش علاوه بر کوتاه نمودن دوره خفتگی، بررسی امکان‌سنجی تولید خارج از فصل کلوس در محیط‌های کنترل شده از طریق پیش‌رس کردن می‌باشد. همچنین، مطالعه اثر تعداد ساعات تیمار سرمایی (۲ درجه سلسیوس) بر شاخص‌های رویش (درصد رویش، شاخص رویش، تعداد روز تا رویش و بنیه گیاهچه)، صفات بیوشیمیایی (کربوهیدرات کل، نشاسته و پروتئین کل)، فعالیت‌های آنزیمی (آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و پروتئاز) و میزان برخی هورمون‌های گیاهی (جیبرلیک اسید و آبسزیک اسید) ریشه غده‌ای کلوس از اهداف دیگر این پژوهش است.

## پیشینهٔ پژوهش

در مناطقی با زمستان‌های سخت، خفتگی یک راهکار پایدار برای گیاهان علفی و چوبی است. با این حال، ظهور خفتگی بین و درون گونه‌ها بسیار متفاوت است و بستگی به نوع تعامل این گونه‌ها با محیط دارد (Muthoni *et al*., 2014). تأثیر عمده خفتگی، ممانعت از جوانه‌زنی پیش از موعد در هنگام وقوع شرایط نامساعد می‌باشد که به حفظ بقای گیاه در شرایط نامساعد محیطی کمک می‌کند (Chao *et al*., 2007). تجمع سرمای کافی می‌تواند بر مسیرهای تولید کربوهیدرات‌ها، هورمون‌های گیاهی یا آنتی‌اکسیدان‌ها تأثیر بگذارد و متعاقب آن جوانه‌زنی، رشد و گل‌دهی افزایش یابد (Hao *et al*., 2017). هورمون‌های گیاهی درون‌زا نیز نقش مهمی در خفتگی بذر یا جوانه گیاه و رفع خفتگی دارند (Nie *et al*., 2016).

تاکنون محققین مختلفی وجود خفتگی فیزیولوژیک بذر کلوس را مورد تأیید و بررسی قرار داده‌اند (Etemadi *et al*., 2010; Amooaghaie & Valivand, 2011; Ahmadi *et al*., 2019; Jebeli & Jafari, 2023; Mahdavikia *et al*., 2024). پژوهشگران در بررسی روش‌های تحریک جوانه‌زنی بذر کلوس دریافتند که ۴۵ روز سرمادهی مرطوب در دمای چهار درجه سلسیوس بهترین تیمار برای رفع خفتگی بذر است (Etemadi *et al*., 2010). در مطالعه دیگر مشخص شد که تیمارهای بـا بیشـترین اثـر رفع خفتگی بـذر کلوس عبارتند از: جیبرلین، بنزیل آدنین، ترکیبی از ایندول بوتیریک اسید+جیبرلین+بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید در شرایط هشت هفته سرمادهی (Tabatabaeian & Kadkhodaee, 2019).

1Forcing culture

در مطالعه‌ای اثر تیمار سرمایی بر رفع خفتگی جوانه‌های طوقه مارچوبه بررسی شد. تیمار سرمایی در دو دمای دو و پنج درجه سلسیوس به‌ترتیب به‌مدت ۳۰ و ۴۵ روز اعمال شد. نتایج نشان داد که سرمادهی به‌مدت ۴۵ روز و در هر دو دما برای رفع خفتگی مناسب بود. محتوای جیبرلیک اسید، اسید ایندول استیک و زاتین ریبوزید در جوانه‌ها نسبتاً پایدار باقی ماند، در حالی‌که میزان آبسزیک اسید در طول خفتگی متفاوت بود (Nie *et al*., 2016). بسیاری از محققان شاهد تغییر محتوای هورمون‌های گیاهی در طول دوره خفتگی بودند. آنها ثابت کردند که در جوانه‌های گل صد تومانی در طول خفتگی زمستانی، مقدار آبسزیک اسید به بیشترین میزان خود و مقدار جیبرلیک اسید نیز به کمترین مقدار خود تغییر می‌کند (Yu *et al*., 2012). در مطالعه‌ای که توسط Ku *et al*. (2007) صورت گرفت، اثرات طول دوره سرمادهی، دمای سرمادهی و دمای رشد روی خفتگی جوانه‌های طوقه و میزان سرعت رشد ساقه‌های خوراکی مارچوبه مورد بررسی قرار گرفت. آنها اعلام کردند که قرارگرفتن جوانه‌ها در معرض تیمار سرمایی از قبل باعث رفع خفتگی آنها شده و رشد ساقه‌های خوراکی را تحریک می‌کند. بنابراین، سرمادهی می‌بایست از طریق سرعت بخشیدن به رفع خفتگی جوانه و رشد ساقه‌های خوراکی در دمای پایین، تولید تجاری را تسهیل کند (Ku *et al*., 2007). اثر تیمار سرمایی کوتاه مدت بر روی پیاز سه رقم لاله مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه ارقام پاسخ‌های متفاوتی به تیمار سرمایی از خود نشان دادند، نتایج اثر مثبت تیمار سرمایی کوتاه مدت بر رفع خفتگی و شکوفایی بیشتر ارقام لاله را نشان داد (Wang *et al*., 2019). تغییرات کربوهیدرات در طول تیمار سرمایی در پیاز و ساقه گل در چندین مطالعه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و گزارش شده است که نشاسته در این اندام‌ها تجزیه می‌شود و گلوکز در آنها تجمع می‌یابد (Khuankaew *et al*., 2010; Wamg *et al*., 2019).

تکنیک کشت پیش‌رس کردن محصول روشی است که برای تولید دائم و سالانه استفاده می‌شود. درخت گل صد تومانی دارای خفتگی درون خفتگی است و خفتگی غنچه گل مانع[3]اصلی برای پیش‌رس کردن گل صد تومانی در زمستان است. نور و دما نقش مهمی در القاء و رفع درون خفتگی دارند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سرما جهت پیش‌رس کردن درخت گل صد تومانی ضروری می‌باشد (Wang *et al*., 2015). در کشور ژاپن این روش تولید برای محصول مارچوبه در حال پیشرفت می‌باشد. در پژوهشی با اعمال نیمار دمایی ۱۶ درجه سلسیوس طی دوره رشد، ساقه‌های خوراکی مارچوبه به بلندی ۲۵ سانتی‌متر یک بار در هفته و به‌مدت ۱۰ تا ۱۶ هفته برداشت شدند (Uragami *et al*., 2017). در این پژوهش تعداد مشخصی دانهال نر و ماده مارچوبه در گلدان‌هایی حاوی خاک اره و بدون کود در تونل‌های تاریک با ارتفاع ۵ متر، عرض ۶/۹ متر و طول ۷۳۰ متر کاشته شدند. دما (۱۶ درجه سلسیوس) و رطوبت تونل (۹۰ درصد) در طول سال ثابت نگه داشته شدند و گلدان‌ها گه‌گاه آبیاری می‌شدند.

## روش‌شناسی پژوهش

به‌منظور اجرای پژوهش ریشه‌های غده‌ای کلوس یکساله، یکنواخت و عاری از هرگونه بیماری و آفت از یک نهالستان معتبر ( نهالستان رئیسی) واقع در استان چهارمحال و بختیاری تهیه شد و به گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شد. به‌منظور بررسی اثر مدت زمان سرمادهی بر رفع خفتگی جوانه‌های غده‌های ریشه‌ای کلوس آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تیمار مدت زمان سرمادهی شامل ۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰، ۲۱۰۰ و ۲۸۰۰ ساعت در دمای ثابت ۲ درجه سلسیوس یخچال با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۸ انجام شد. ابتدا ریشه‌های غده‌ای با قارچ‌کش کاپتان با غلظت دو در هزار ضدعفونی شدند و در دسته‌های ۱۰ تایی درون کیسه پارچه‌ای قرار گرفتند و بعد از مرطوب شدن با آب، در دمای ۲درجه سلسیوس یخچال نگهداری و هر سه روز یکبار بررسی و مرطوب شدند . نمونه‌ها پس از سپری شدن زمان هر تیمار در بستر مناسب (خاک، ماسه، خاکبرگ با نسبت برابر) کشت و به گلخانه با میانگین دمای ۱۸ تا ۲۰ درجه سلسیوس و ۱۶ ساعت روشنایی (۷۰۰۰–۱۰۰۰۰

1Zeatin Riboside
2*Paeonia suffruticosa*
3Endo-dormancy

لوکس) منتقل شدند. در شکل ۱ مراحل اعمال تیمار سرمایی تا کاشت و پیش‌رس کردن ریشه غده‌ای گیاه کلوس نشان داده شده است (شکل ۱). تیمارها در اواسط مهرماه اعمال شدند و رویش ریشه‌های غده‌ای از تاریخ ۲۵ مهرماه شروع و ثبت گردید. معیار رویش، ایجاد جوانه قابل رویت با طول حداقل ۳ میلی‌متر در نظر گرفته شد. زمانی که بیش از ۵۰ درصد ریشه‌های کشت شده رویش یافتند، ریشه‌های غده‌ای مربوط به هر تیمار برداشت شده و صفات مربوط به رویش گیاه (درصد رویش غده‌ها، شاخص رویش، تعداد روز تا رویش و شاخص بنیه گیاهچه)، صفات بیوشیمیایی (کربوهیدرات کل، نشاسته و پروتئین کل)، میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و پروتئاز و میزان دو هورمون جیبرلیک اسید و آبسزیک اسید مورد بررسی قرار گرفت.

درصد رویش ریشه‌ها با استفاده از رابطه ۱ (Scat *et al*., 1984)، شاخص تعداد روز تا ظهور جوانه با توجه به تعداد ساعات سرمایی، شاخص رویش با استفاده از روش Ranal *et al*. (2009) طبق رابطه ۲ و شاخص بنیه گیاهچه با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید و طول گیاهچه با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد.

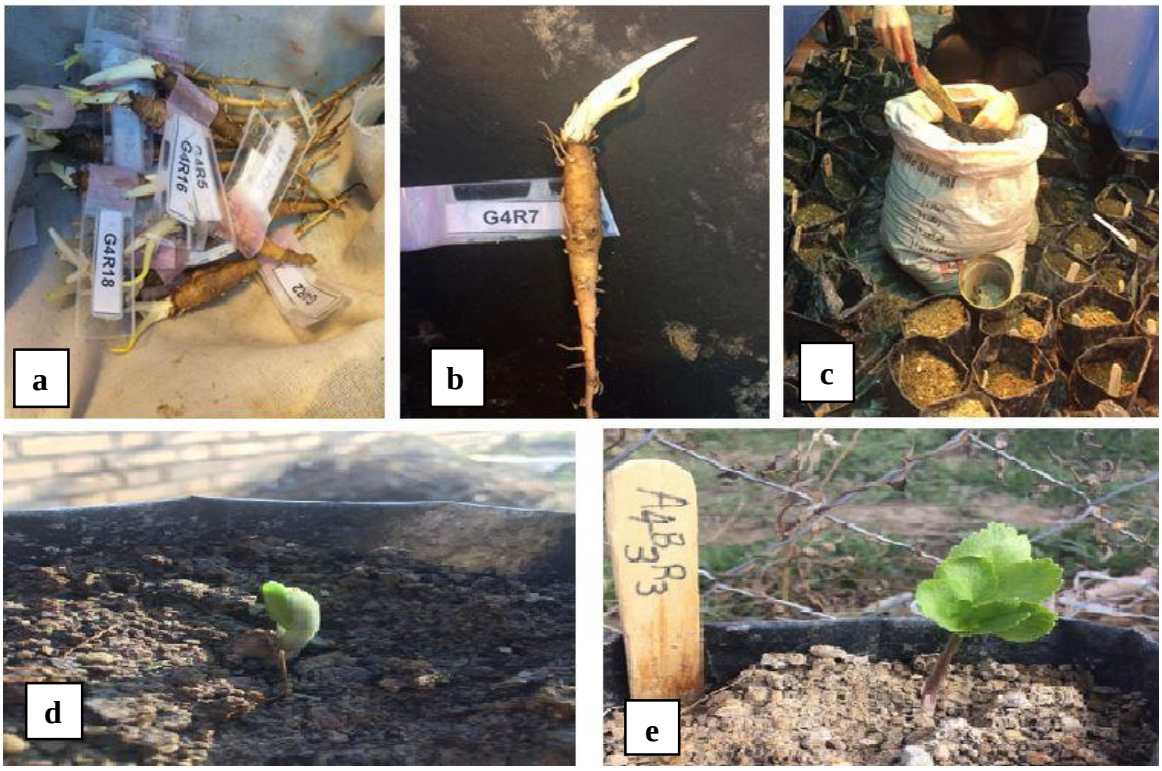
رابطه ۱)

$$\text{درصد رویش} \times ۱۰۰ = \frac{\text{تعداد غده روئیده}}{\text{تعداد کل غده}}$$

رابطه ۲) شاخص رویش = Σ تعداد غده های روئیده / تعداد کل غده های روئیده

رابطه ۳)

$$\text{شاخص بنیه گیاهچه} = \frac{\text{میانگین طول گیاهچه(میلی متر)} \times \text{درصد رویش}}{100}$$




**شکل ۱.** مراحل اعمال تیمار سرمایی تا کاشت و پیش‌رس کردن ریشه غده‌ای گیاه کلوس:
**a**) مرحله اعمال تیمار سرما ؛ **b** ) غده رویش یافته؛ **c**) کاشت غده ؛ **d**) مرحله دو برگی کلوس؛ **e**) مرحله چند برگی

مقدار کربوهیدرات کل طبق روش Dubois *et al*. (1956) با کمی تغییرات و میزان تغییرات هورمون‌های گیاهی داخلی شامل آبسزیک اسید و جیبرلیک اسید بر اساس روش Li *et al*. (2010)، Shindy & Smith *et al*. (1957) و Tang *et al*. (2011) اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز، از روش Xiao *et al*. (2006) و آنزیم پروتئاز از روش Marambe *et al*. (1992) استفاده شد. در پایان آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS.9 و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

## یافته‌های پژوهش

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که تمام شاخص‌های رویش گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای مدت زمان سرمادهی قرار گرفتند (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر مدت زمان سرمادهی در شکل ۲ نشان داده شده است. درصد رویش ریشه غده‌ای کلوس تحت تاثیر تیمارهای آزمایش بین ۳ تا ۷۲ درصد متغیر بود. روند تغییرات درصد رویش ریشه غده‌ای کلوس نشان داد که بیشترین و کمترین درصد رویش به‌ترتیب در تیمارهای سرمایی ۲۸۰۰ ساعت که با تیمار ۲۴۰۰ اختلاف معنی دار نداشت و تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین، در تیمار ۱۴۰۰ ساعت سرمایی، بیش از ۵۰ درصد ریشه‌های غده‌ای کلوس رویش یافتند (شکل ۲). اثر تیمارهای مدت زمان سرمادهی بر صفت تعداد روز تا رویش ریشه غده‌ای در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). طبق نتایج، کمترین تعداد روز تا رویش (۹ روز) متعلق به تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی و بیشترین تعداد روز تا رویش (۶۳ روز) در تیمار شاهد ثبت گردید (شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان داد شاخص رویش ریشه غده‌ای کلوس در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر مدت زمان سرمادهی قرار گرفت. تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی بیشترین مقدار (۲/۸ روز) و تیمار صفر ساعت (شاهد) کمترین مقدار (۰/۱) شاخص رویش را نشان داد (شکل ۲). یکی دیگر از شاخص‌های تعیین کننده کیفیت ریشه غده‌ای، شاخص بنیه ریشه غده‌ای می‌باشد که از طریق درصد رویش نهایی و طول گیاهچه محاسبه می‌گردد. ریشه‌های غده‌ای که دارای بنیه قویتری باشند، توانایی بالاتری در تحمل تنش‌های محیطی دارند و ضمن داشتن درصد بالایی از رویش، قادرند گیاهچه‌های قوی تولید نمایند. نتایج نشان داد که شاخص بنیه گیاهچه به طور معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد تحت تاثیر مدت زمان سرمادهی قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین شاخص بینه گیاهچه در تیمار ۲۸۰۰ ساعت بدست آمد و کمترین میزان در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین، بین سطوح تیمار سرمایی ۱۴۰۰ و ۲۸۰۰ ساعت اختلاف معنی‌داری در میزان شاخص بنیه گیاهچه مشاهده شد (شکل ۲). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت مشاهده شده بین تیمارها در طول گیاهچه کلوس در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین و کمترین طول گیاهچه به ترتیب در تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی و به میزان ۱۴/۳سانتی‌متر و تیمار شاهد به میزان ۲/۵ سانتی‌متر ثبت گردید (شکل۲).

نتایج جدول ۱ نشان داد که تغییرات میزان کربوهیدرات محلول ریشه غده‌ای تحت تاثیر تیمار تعداد ساعات سرمایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. با افزایش تعداد ساعات سرمایی میزان کربوهیدرات محلول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی (۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در تیمار شاهد (۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید (شکل ۲). همچنین، آنالیز داده‌های مربوط به شاخص نشاسته نشان داد که با افزایش دوره تیمار سرمایی میزان نشاسته به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین میزان نشاسته (۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد و کمترین میزان (۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی ثبت شد. براساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر تیمار تعداد ساعات سرمایی (۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰، ۲۱۰۰ و ۲۸۰۰ ساعت) بر هورمون‌های گیاهی جیبرلیک اسید و آبسزیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد بود (جدول ۲). کمترین میزان جیبرلیک اسید ریشه غده‌ای کلوس در تیمار شاهد (۳۳/۵ نانومول بر گرم وزن تازه) و بیشترین میزان در تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی (۷۵/۵ نانو مول بر گرم وزن تازه) ثبت گردید. همچنین، تیمار سرمایی سبب کاهش معنی‌دار میزان آبسزیک اسید موجود در بافت ریشه غده‌ای

کلوس شد، به‌طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی (۲۰/۲ نانو مول بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان در تیمار شاهد (۶۲/۶ نانو مول بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل۳). بررسی اثر تیمارهای سرمایی بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در رویش نشان داد که فعالیت هر سه آنزیم آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و پروتئاز با افزایش تعداد ساعت سرمایی از صفر تا ۲۸۰۰ ساعت سرمادهی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تیمار شاهد (۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تیمار ۲۱۰۰ ساعت سرمادهی (۱/۲میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) مشاهده شد. کمترین میزان فعالیت بتا آمیلاز در تیمار شاهد (۰/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و بیشترین میزان فعالیت در تیمار۰۰ ۲۸ ساعت سرمادهی (۰/۶۳میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) ارزیابی شد. کمترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در تیمار شاهد (۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و بیشترین در تیمار ۲۱۰۰ ساعت سرمادهی (۰/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) اندازه‌گیری شد (شکل۴).

**جدول ۱.** نتایج تجزیه واریانس اثر تعداد ساعت تیمار سرمادهی بر شاخص‌های رویش کلوس

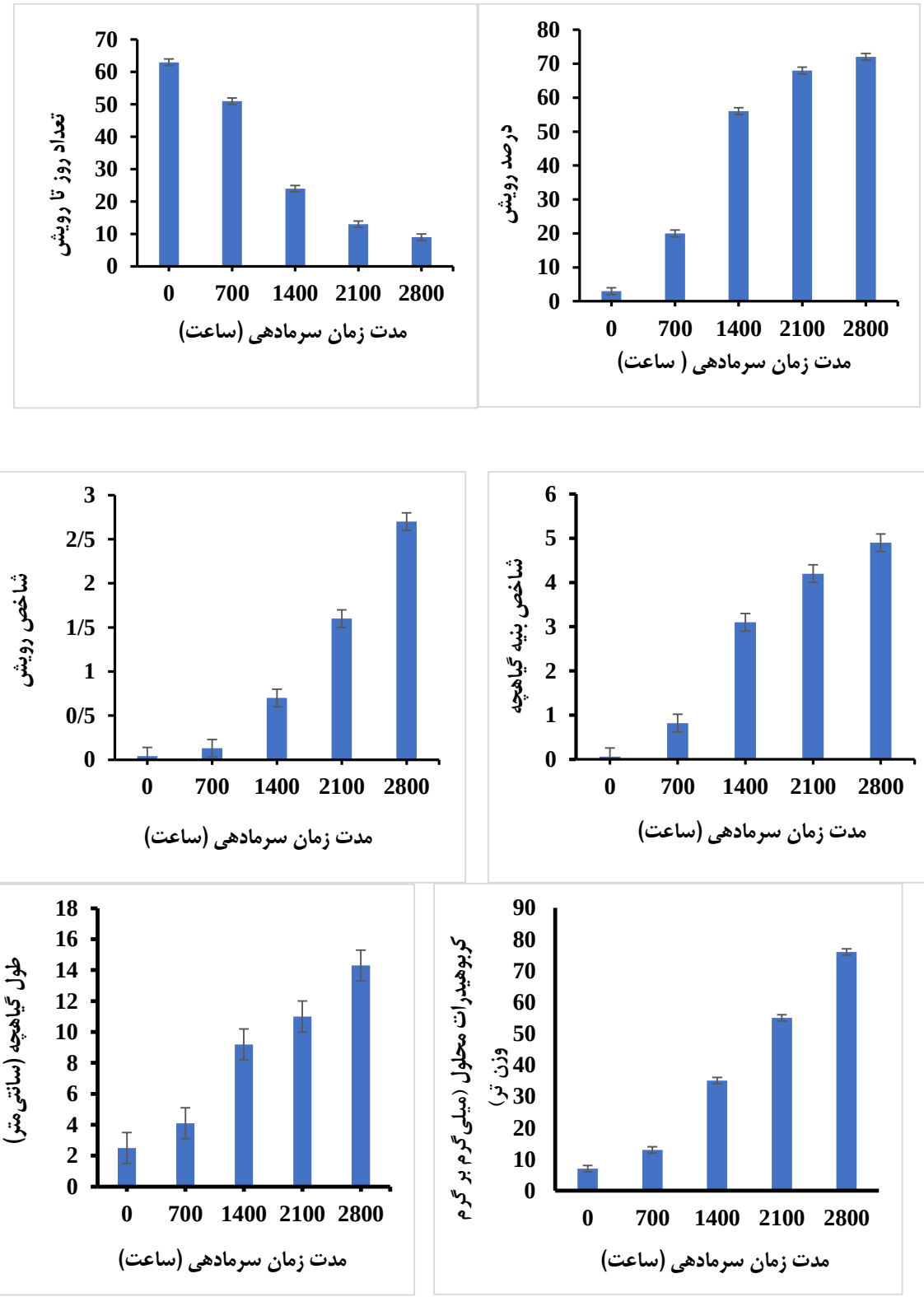
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد رویش | تعداد روز تا رویش | شاخص رویش | شاخص بنیه | طول گیاهچه | کربوهیدرات محلول |
| تیمار (تعداد ساعات سرمادهی) | ۴ | ۸۷/۲** | ۴۵/۶** | ۲/۲** | ۱۵/۵* | ۱۱** | ۵۴** |
| خطا | ۹/۲۱ | ۵/۶ | ۳/۳ | ۰/۸ | ۱/۲ | ۲/۶ | ۸/۳ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۸/۶ | ۱۲/۴ | ۹/۸ | ۱۵/۵ | ۷/۵ | ۱۱ |

* و **: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

**جدول ۲.** تجزیه واریانس اثر تعداد ساعت تیمار سرمادهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی کلوس

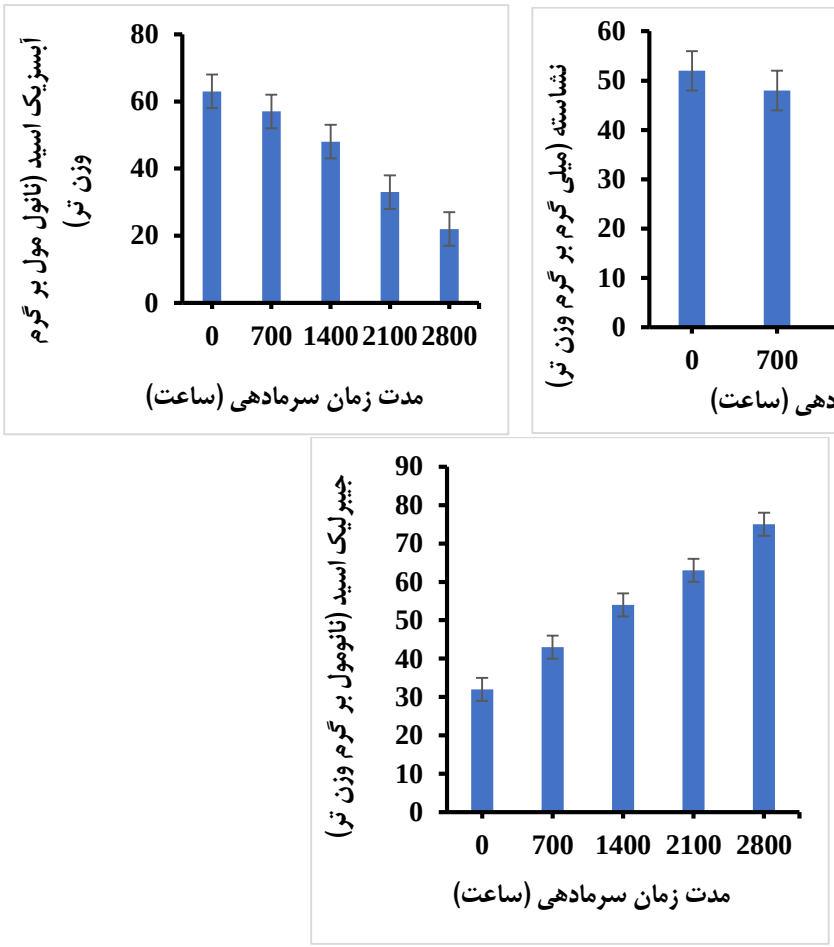
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | نشاسته | جیبرلیک اسید | آبسزیک اسید | آنزیم آلفا آمیلار | آنزیم بتا آمیلاز | آنزیم پروتئاز |
| **تیمار (تعداد ساعات سرمادهی)** | ۴ | ۸۷/۲** | ۴۵/۶** | ۲/۲** | ۱۵/۵* | ۱۱** | ۵۴** |
| **خطا** | ۲۱/۹ | ۵/۶ | ۳/۳ | ۰/۸ | ۱/۲ | ۲/۶ | ۸/۳ |
| **ضریب تغییرات (درصد)** | | ۸/۶ | ۱۲/۴ | ۹/۸ | ۱۵/۵ | ۷/۵ | ۱۱ |

* و **: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

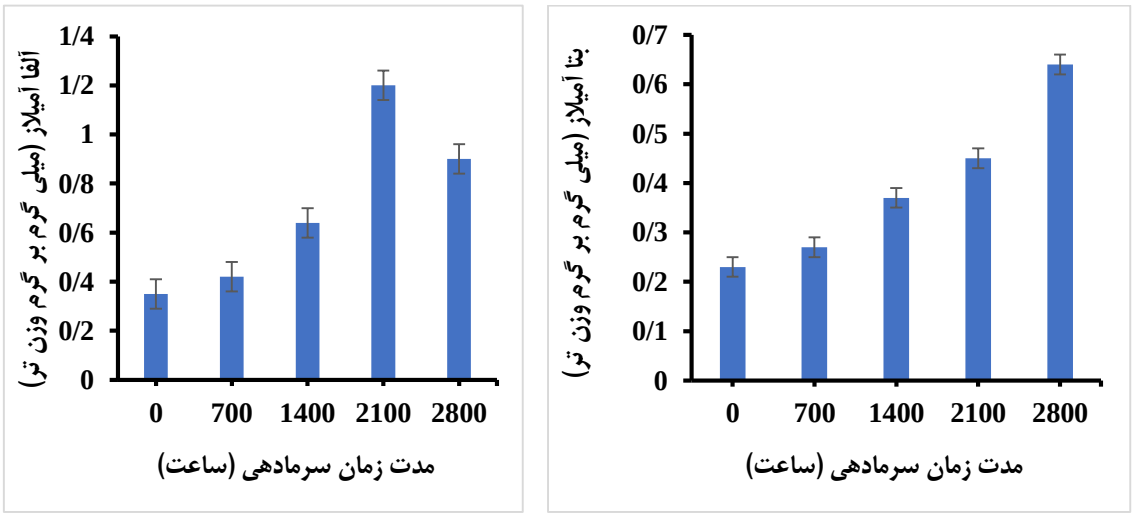


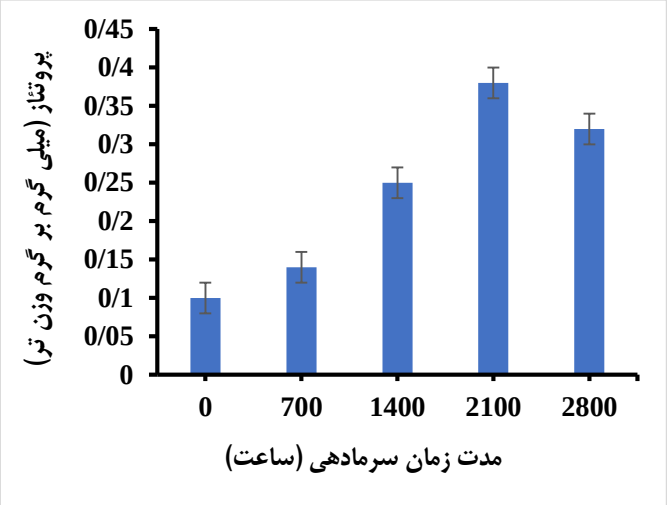

**شکل ۲.** مقایسه میانگین تاثیر تیمار مدت زمان سرمادهی بر شاخص‌های رویش ریشه غده‌ای کلوس.

مقادیر میانگین های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می باشد.




**شکل۳.** مقایسه میانگین تاثیر تیمار تعداد ساعت سرمادهی مختلف بر شاخص‌های نشاسته، آبسزیک اسید و جیبرلیک اسید در کلوس.
مقادیر میانگین های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می باشد.






**شکل ۴.** مقایسه میانگین تاثیر تیمار تعداد ساعت سرمادهی مختلف بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و آنزیم پروتئاز در کلوس.
مقادیر میانگین های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می باشد

## بحث

نتایج نشان داد که رفع خفتگی ریشه غده‌ای کلوس تحت تاثیر مدت زمان سرمادهی (دو درجه سلسیوس) قرار گرفت، به‌طوری که منجر به افزایش رویش، یکنواختی رویش، سرعت رویش و توسعه بهتر ساقه رویشی گردید. خفتگی گیاهان با اندام زیرزمینی ذخیره‌ای عمدتاً به سه دسته فرا[1] بوم[2] و درون- خفتگی طبقه‌بندی شده است. هر سه نوع خفتگی در بافت‌های رویشی زیرزمینی وجود دارد که فراخفتگی و بوم‌خفتگی برجسته‌تر هستند. فراخفتگی بافت گیاه در درجه اول توسط عوامل فیزیولوژیکی سنتز شده و از قسمت دیگری از گیاه منتقل می‌شود (Sheikh *et al*, 2022). تیمار بافت‌های رویشی زیرزمینی با دمای پایین عامل محیطی اصلی مورد نیاز برای رفع خفتگی جوانه در بسیاری از گیاهان منطقه معتدل می‌باشد. حداقل دمایی که در آن رفع خفتگی جوانه رخ می‌دهد، با تکامل گیاهان در مرحله خفتگی متفاوت است و در صورت عدم سرمایش کافی، رشد اندام هوایی به تأخیر می‌افتد و کاهش می‌یابد (Arora *et al*, 2003). به‌عبارت دیگر، در گیاهانی که خفتگی آنها به‌طور کامل برطرف نشده اختلال در رفع خفتگی جوانه و کاهش سرعت رشد اندام هوایی پدیدار می‌شود (Guo *et al*., 1995).

به‌طور مشابه، در گیاهان چوبی با نیاز سرمایی بالا، موثرترین دما برای سرمایش حدود ۵/۵ درجه سلسیوس می‌باشد. چندین مدل برای ارزیابی نیاز سرمایی گیاهان چوبی تعیین شده است که مهم‌ترین این مدل‌ها، مدل یوتا است که توسط ریچاردسون و همکاران در سال ۱۹۸۶ معرفی شد (Richardson *et al*., 1986). به‌طور مثال تیمار سرمایی در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت دو تا چهار هفته، میانگین روزهای رفع خفتگی جوانه زنجبیل ژاپنی (میوگا)[3] را کاهش و رویش یکنواخت را افزایش داد (Gracie *et al*., 2000). همچنین گزارش شده است که ریشه‌های غده‌ای که تیمار سرمایی دریافت نکرده بودند نتوانستند ساقه‌های رویشی را برای مدت زمان نامشخصی تولید کنند. به‌طور مشابه در لیلیوم[4] تیمار سرمایی در دمای پنج درجه سلسیوس به‌مدت شش هفته تعداد روز تا ظهور ساقه را کاهش داد (Choi *et al*., 1998). در مطالعه دیگری Langens-Gerrits *et al*. (2001) گزارش کردند که اکثر پیازهای سوسن معمولاً برای زنده ماندن در محیط نامساعد از اواخر پاییز تا زمستان به خفتگی می‌روند. خفتگی را می‌توان با دمای پایین برطرف نمود. تیمار سرمایی در پیاز زنبق منجر به تحریک متابولیت درون

1Para
2Eco
3*Zingiber mioga* Roscoe
4*Lilium longiflorum* Gerlia

آن و باعث رفع خفتگی شد (Shin *et al*., 2002). در بذرهای دارای سطوحی از خفتگی مورفولوژیک ازجمله بذر گیاهان تیره چتریان، یکی از دلایل مهم عدم جوانه‌زنی بذرها جنین توسعه نیافته می‌باشد. رخ دادن شرایط سرمادهی مرطوب در طبیعت نیز یکی از نیازهای جوانه‌زنی بذرهای این گونه‌های گیاهی می‌باشد که نشان دهنده‌ی نیاز فیزیولوژیک بذرها به سرمای دوره‌ای به‌منظور القای توانایی جوانه‌زدن می‌باشد (Malek *et al*., 2022). مطالعات متعدد صورت گرفته نشان داد که رفع خفتگی بذرهای گیاهان تیره چتریان (کلوس، باریجه، زیره سیاه و آنغوزه) از طریق سرمادهی مرطوب (قرارگیری بذرها در شرایط سرد و مرطوب) می‌تواند با تغییر توازن هورمون‌های تنظیم کننده جوانه‌زنی و رشد، تغییر در ساختار و میزان ذخایر بذر از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، قندها و همچنین تغییر زیرساخت‌های سلولی همراه باشد (Malek *et al.*, 2022; Pouresmail & Sharifi, 2003; Malek *et al.*, 2023; Tabatabaeian & Kadkhodaee, 2019).

درک مکانیسم القا و رفع خفتگی مربوط به رویش ریشه غده‌ای کلوس بسیار مهم است. خفتگی در ریشه غده‌ای کلوس به دمای رشد بستگی دارد. وضعیت متابولیک فعال یک اندام رویشی زیرزمینی سرنوشت رشد آن را تعیین می‌کند. قندها اجزای اصلی اندام‌های ذخیره سازی محسوب می‌شوند و دینامیک آنها نقش مهمی در کنترل چرخه خفتگی–رشد گیاهان ریزوم‌دار ایفا می‌کند. جوانه‌های خفته برای تقویت رشد به منابع کربن (قند) نیاز دارند و گیاه متابولیسم قند را بین قندهای ذخیره شده و محلول تنظیم می‌کند تا خفتگی و جوانه زدن را حفظ کند (Sheikh *et al*, 2022). Xu *et al*. (2006) اعلام کردند که اعمال تیمار سرمایی به‌مدت ۱۴ هفته در دمای چهاردرجه سلسیوس بر روی پیاز لیلوم منجر به افزایش گلوکز و فروکتوز شد. در طی دوره رکود، کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای (مانند نشاسته) در جوانه گل تجمع می‌یابند و پس از تأمین نیاز سرمایی، برای شروع رشد جوانه مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که متابولیسم کربوهیدرات در کنترل رشد و نمو جوانه طی مراحل خفتگی و رفع آن دخالت دارد. در واقع بیشترین مقدار نشاسته در ابتدای دوره رکود مشاهده می‌شود و سپس مقدار آن تا مرحله رفع خفتگی، به تدریج کاهش می‌یابد. کاهش مقدار نشاسته، با افزایش قندهای محلول مانند سوربیتول و ساکارز همراه می‌باشد که به‌عنوان منابع کربن و انرژی، رشد و نمو جوانه را پس از تامین نیاز سرمایی کنترل می‌کند (Hernandez *et al*, 2021).

هورمون آبسزیک اسید عامل اصلی القا و حفظ خفتگی در جوانه‌ها و بذور گیاهان چندساله علفی می‌باشد. بدنبال القای خفتگی، سنتز و عملکرد پایدار آبسزیک اسید درون‌زا برای حفظ خفتگی زمستانی ضروری است، اگرچه با پیشرفت خفتگی غلظت آبسزیک اسید کاهش می‌یابد (Muthoni *et al*., 2014). محققان گزارش کرده اند که سرمادهی مرطوب موجب افزایش مقدار جیبرلین‌های درونی ($GA_3$ و $GA_7$) و از طرفی کاهش اسید آبسیزیک درونی، کاهش پروتئین‌ها و لیپیدها و در مقابل، افزایش قندهای محلول و اسیدهای آمینه می‌گردد (Malek *et al*., 2022). علاوه براین، جیبرلیک اسید به‌عنوان جایگزین سرما جهت تحریک رفع خفتگی استفاده شده است. اعمال خارجی جیبرلیک اسید روی جوانه‌های درخت صد تومانی، خفتگی از نوع درون‌خفتگی این جوانه‌ها را برطرف نموده است (Guan *et al*., 2019). کاربرد خارجی جیبرلیک اسید روی غده‌های سیب زمینی و پیاز سوسن نیز باعث رفع خفتگی جوانه‌ها شد (Alexopoulos *et al*., 2008; Anisah *et al*., 2023). مطالعات در مورد نقش جیبرلیک اسید بر خفتگی نتایج متناقضی را نشان می‌دهد. مدت‌ها است که کاربرد جیبرلیک اسید خارجی جهت رفع خفتگی و تحریک جوانه‌زنی گونه‌های علفی و چوبی به‌صورت تجربی و یا تجاری تأیید شده است. جیبرلیک اسید به‌عنوان یک القاکننده قوی شکست خواب جوانه‌های کاملاً خفته در صنوبر استفاده می‌شود. کاربرد جیبرلیک اسید برون‌زا باعث رفع خفتگی و القای رویش در سیب زمینی شد (Rentzsch *et al*., 2012). سطوح جیبرلیک اسید درون‌زا با چرخه خفتگی تغییر می‌کند و با القای خفتگی به سرعت کاهش می‌یابد، در طول خفتگی میزان آن کاهش می‌یابد و نزدیک به پایان خفتگی و آغاز رویش افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش در راستای نتایج ما بود (Rentzsch *et al*., 2012).

آنزیم آلفا آمیلاز مهمترین آنزیم در مراحل اولیه جوانه‌زنی است و با تأمین سوبسترای رشد برای جنین ، جوانه‌زنی را تسریع می‌نماید. آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز از آنزیم‌های حیاتی در فرایند جوانه‌زنی محسوب می‌شوند که کاهش فعالیت آنها می‌تواند

باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر شود (Gimbi & Kitabtake, 2002). با افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و بتاآمیلاز طی پرایمینگ، مواد ذخیره‌ای به ساکارز و گلوکز تبدیل شده و به جنین انتقال می‌یابند و موجب رشد جنین شده و در نتیجه جوانه‌زنی و رشد گیاهچه افزایش می‌یابد (Parera & Cantliffe,1994). پروتئاز باعث کاهش پروتئین‌ها در بذرهای در حال جوانه‌زنی می‌شود که این کاهش با فعالیت آندو پروتئازها شروع می‌گردد. این آنزیم‌ها پروتئین‌های ذخیره‌ای نامحلول را به پپتیدهای محلول تبدیل می‌کنند. به هنگام شرایط مطلوب جوانه‌زنی این پروتئین‌ها توسط پروتئازها تحت فرآیندهای تجزیه قرار گرفته و می‌شکنند. شکستن پروتئین‌های ذخیره‌ای نشان دهنده از بین رفتن مکانیسم بازدارنده در مقابل تجزیه می باشد (Foti *et al*., 2002). به‌طور کلی اعتقاد براین است که دریافت سرما توسط ریزوم و پیاز سبب تغییرات فیزیولوژیک مانند تغییر وضعیت آبی، تعادل هورمون گیاهی، تنفس و تحرک پذیری کربوهیدارت‌ها در آن خواهد شد و یا اینکه با دریافت سرما، میزان حساسیت پیاز و ریزوم به هورمون اکسین بیشتر شده و در نتیجه سبب افزایش رشد ریشه‌ها می‌شود (Khodorova & Boitel-Conti, 2013).

## نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که خفتگی ریشه غده‌ای کلوس از نوع خفتگی فیزیولوژیک بوده و می‌توان آن‌را با مشابه‌سازی شرایط محیطی بسته به طول دوره سرمادهی و شرایط بوم‌شناختی رویشگاه تا حدودی خنثی کرد. طول دوره سرمادهی بر درصد و سرعت رویش ریشه غده‌ای گیاه کلوس موثر بود و با افزایش دوره سرمادهی درصد و سرعت رویش نیز افزایش یافت. با توجه به درصد رویش ریشه‌های غده‌ای کلوس در شرایط گلخانه مشخص شد که افزایش مدت تیمار سرمادهی (۲ درجه سلسیوس) باعث تسریع در رویش ریشه‌های غده‌ای کلوس شد. با توجه به اینکه بیشترین درصد رویش ریشه‌ها در تیمار سرمایی۲۱۰۰ تا ۲۸۰۰ ساعت رخ داد، به‌نظر می‌رسد که نیاز سرمایی کلوس بین۹۰ تا ۱۲۰ روز باشد. هر چند که در تیمار سرمایی ۱۴۰۰ ساعت، ۵۰ درصد رویش ریشه‌ها غده‌ای صورت گرفت و این تعداد ساعت تیمار سرمایی نیز می‌تواند در تولید تجاری مورد توجه قرار گیرد. عدم تأمین نیاز سرمایی باعث رویش ضعیف ریشه غده‌ای در گیاه کلوس شد به‌طوری که تیمار شاهد و ۷۰۰ ساعت سرمادهی سبب کمترین رویش ریشه غده‌ای کلوس گردید. همچنین تیمار سرمایی باعث افزایش معنی‌دار هورمون جیبرلیک اسید و کربوهیدرات کل شد و از طرفی منجر به کاهش هورمون آبسزیک اسید و نشاسته گردید. فعالیت آنزیم‌های مربوط به رویش آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و پروتئاز به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار سرمایی قرار گرفت و مجموع تغییرات بیوشیمیایی و هورمونی باعث رفع خفتگی و تسریع رشد گیاهچه کلوس شد. با توجه به نتایج این پژوهش کاربرد تیمار سرمایی (۲ درجه سلسیوس) منجر به افزایش سرعت رویش گردید. همچنین، نتایج نشان داد که تیمار سرمایی به‌طور چشمگیری باعث پیش‌رس کردن محصول و تولید خارج از فصل کلوس می‌شود. در پایان، با توجه به اینکه گیاه کلوس به‌صورت خودرو و در حال انقراض می‌باشد به‌منظور اهلی کردن این گیاه نیاز است که تحقیقاتی با هدف کاهش دوره رشد، برطرف کردن نیاز سرمایی و تولید خارج از فصل این محصول انجام گیرد. نتایج حاصل از این پژوهش را بهمراه مطالعات آتی می‌توان به‌عنوان یک دستورالعمل برای تولید خارج از فصل این محصول در نظر گرفت، که بهره برداران می‌توانند با تهیه نشا این محصول و اعمال تیمارهای رفع خفتگی، موانع رویش این گیاه ارزشمند را مرتفع نموده و در یک محیط کنترل شده به تولید خارج از فصل این محصول بپردازند.

## سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند که از حمایت های بنیاد ملی علم ایران (طرح پژوهشی شماره ۹۸۰۰۲۸۲۴) تشکر و قدردانی نمایند.

## منابع


احمدی، خدیجه؛ امیدی، حشمت؛ امینی دهقی، مجید و نقدی آبادی، حسنعلی (۱۳۹۸). مروری بر خصوصیات گیاهشناسی، فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی گیاه دارویی کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). *فصلنامه گیاهان دارویی*، ۱۸ (۷۲)، ۳۰-۴۵. http://dx.doi.org/10.29252/jmp.4.72.S12.30

پوراسماعیل، معصومه و شریفی، مظفر (۱۳۸۲). بررسی اثر تیمار سرما و برخی سیتوکینین‌ها در رفع خواب بذرهای زیره سیاه. *فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۱۹(۲)، ۱۸۳-۱۹۳.

طباطبائیان، جواد و کدخدایی، اعظم (۱۳۹۸). تأثیر تیمارهای شکست خفتگی بذر بر جوانه‌زنی کلوس توده کوهرنگ (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). *نشریه علوم و فناوری بذر ایران*، ۸(۱)، ۲۰۱-۲۱۲. https://doi.org/10.22034/ijsst.2018.116895.1156

مظفریان، ولی‌الله (۱۳۸۶). فلور ایران، شماره ۵۴: تیره چتریان. چاپ اول. تهران: موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. ۱-۵۹۶.

ملک، محسن؛ حسنی، فرشید؛ رضوانی خورشیدی، عنایت؛ شایانفر، علی؛ اسکویی، بیتا و دهشیری، عباس (۱۴۰۱). پاسخ خفتگی و جوانه‌زنی بذر باریجه (*Ferula gummosa*) تحت پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی و سرمادهی مرطوب. *پژوهش‌های بذر ایران*، ۹(۱)، ۱۴۶-۱۲۷. https://doi.org/10.52547/yujs.9.1.127

ملک، محسن؛ حسنی، فرشید؛ رضوانی خورشیدی، عنایت؛ محمودی، وحیدرضا و خسروی، مسعود (۱۴۰۲). تعیین شرایط بهینه آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذر آنغوزه (*Ferula assa-foetida*). *نشریه علوم و فناوری بذر ایران*، ۱۲(۱)، ۶۱-۷۷. https://doi.org/10.22092/ijsst.2022.359018.1438


## REFERENCES


Ahmadi, K., Omidi, H., Amini Dehaghi, M., & Naghdi Badi, H. (2019). A review on the botanical, phytochemical and pharmacological characteristics of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Journal of Medicinal Plants*, 18(72), 30-45. 18(72), (In Persian). http://dx.doi.org/10.29252/jmp.4.72.S12.30

Alexopoulos, A. A., Aivalakis, G., Akoumianakis, K. A., & Passam, H. C. (2008). Effect of gibberellic acid on the duration of dormancy of potato tubers produced by plants derived from true potato seed. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 424-430. http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.009

Amiri, M. S., & Joharchi, M. R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(6), 621-635. http://dx.doi.org/10.22038/ajp.2016.6696

Amooaghaie, R., & Valivand, M. (2011). The combined effect of gibberellic acid and long time osmopriming on seed germination and subsequent seedling growth of *Klussia odoratissima* Mozaff. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14873-14880. 10.5897/AJB11.1984.

Anisah, S. N., Ratnadewi, D., & Supena, E. D. J. (2023). Exogenous giberellic acid stimulates bulb dormancy breaking and the role of paclobutrazol in maintaining the size of harvested bulb of lily (*Lilium* sp.) cv. Tisento. *Sains Malaysiana*, 52(7), 1967-1976. http://doi.org/10.17576/jsm-2023-5207-06

Arora, R. Rowland, L. J., & Tanino, K. (2003). Induction and release of bud dormancy in woody perennials: A science comes of age. *Horticultural Science*, 38**,** 911–921. http://dx.doi.org/10.21273/HORTSCI.38.5.911

Askari-Khorasgani, O., Mortazaeinezhad, F., Otroshy, M., & Golparvar, A. R. (2013). Breaking seed dormancy of endangered medicinal plant *Kelussia odoratissima* using zygotic embryo culture technique. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3(15), 1712-1718.

Azizi, M., Farshchi, H. K., Oroojalian, F., & Orafaee, H. (2017). Green synthesis of silver nano-particles using *Kelussia odoratissima* Mozaff. extract and evaluation of its antibacterial activity. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 19, 681–691. http://jast.modares.ac.ir/article-23-2191-en.html

Bailey, L. (1897). The forcing book: A manual of the cultivation of vegetables in glass houses. *New*

*York, Macmillan*. 1858-1954. https://doi.org/10.5962/bhl.title.13436

Chao, W. S., Foley, M. E., Horvath, D. P., & Anderson, J. V. (2007). Signals regulating dormancy in vegetative buds. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 1, 49–56.

Choi, S. T., Jung, W. Y., Ahn, H. G., & Chang, Y. D. (1998). Effects of duration of cold treatment and planting depth on growth and flowering of *Lilium* spp. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 39**,** 765–770.

Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1951). A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature*, 167-167. https://doi.org/10.1038/168167a0

Ebrahimi, M., Mokhtari, A., & Amirian, R. (2018). A highly efficient method for somatic embryogenesis of *Kelussia odorotissima* Mozaff., an endangered medicinal plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 132, 99–110. https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1314-4

Etemadi, N., Haghighi, M., Nikbakht, A., & Zamani, Z. (2010). Methods to promote germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff. an Iranian endemic medicinal plants. *Herba Polonica*, 56(2), 21-28.

Foti, S., Cosentino, S. L., Patane, C., & Agosta, G. M. D. (2002). Effects of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. *Seed Science and Technology*, 30(3), 521-533.

Ghasemi, M., Mirlohi, A., Ayyari, M. & Shojaeiyan, A. (2015). *Kelussia odoratissima* Mozaff. a rich source of essential fatty acids and phthalides. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 4(4), 115-120.

Gimbi, D. M., & Kitabatake, N. (2002). Changes in alpha-and beta-amylase activities during seed germination of African finger millet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53(6), 481-488. http://dx.doi.org/10.1080/09637480220164361

Gracie, A. J., Brown, P. H., Burgess, S. W. & Clark, R. J. (2000). Rhizome dormancy and shoot growth in myoga (*Zingiber mioga* Roscoe). *Scientia Horticulturae*, 84, 27–36. https://doi.org/10.1016/S0304-4238 (99)00102-8

Guan, Y. R., Xue, J. Q., Xue, Y. Q., Yang, R. W., Wang, S. L., & Zhang, X. X. (2019). Effect of exogenous GA3 on flowering quality, endogenous hormones, and hormone-and flowering-associated gene expression in forcing-cultured tree peony (*Paeonia suffruticosa*). *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), 1295-1311. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62131-8

Guo, Z., Goi, M., Fukai, S., & Tanaka, M. (1995). Effects of temperature and photoperiod on the bud formation of *Rhododendron obtusum* 'Wakakaede'. *Technical Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagawa University*, 47**,** 33–40.

Hadian, J., Raeisi, S., Nadjafi, F., & Khadivi-Khub, A. (2014). DNA typing and genetic relations among populations of *Kelussia odoratissima* using ISSR and SRAP markers. *Plant Systematics and Evolution*. 300, 1525–1532. http://dx.doi.org/10.1007/s00606-013-0979-3

Hao, X., Yang, Y., Yue, C., Wang, L., Horvath, D. P., & Wang, X. (2017). Comprehensive transcriptome analyses reveal differential gene expression profiles of *Camellia sinensis* axillary buds at para-, endo-, ecodormancy, and bud flush stages. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-19. http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.00553

Hernandez, J. A., Díaz-Vivancos, P., Martínez-Sánchez, G., Alburquerque, N., Martínez, D., BarbaEspín, G., Acosta-Montos, J. R., Carrera, E., & García-Bruntón, J. (2021). Physiological and biochemical characterization of bud dormancy: Evolution of carbohydrate and antioxidant metabolisms and hormonal profile in a low chill peach variety. *Scientia Horticulturae*, 281, 1-13. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109957

Jang, Y., Moon, J. H., Kim, S. G., Kim, T., Lee, O. J., Lee, H. J., & Wi, S. H. (2022). Effect of low-temperature tolerant rootstocks on the growth and fruit quality of watermelon in semi-forcing and retarding culture. *Agronomy*, 13(1), 1-16. http://dx.doi.org/10.3390/agronomy13010067

Jebeli, M., & Jafari, A. A. (2023). Evaluation of *Kelussia odoratissima* Mozaffarian and natural habitats of the species as well as ex situ cultivation and establishment. *Iran Nature*, 8(2), 47-57.

10.22092/IRN.2023.360250.1483.

Khuankaew, T., Ruamrungsri, S., Ito, S., Sato, T., Ohtake, N., Sueyoshi, K., & Ohyama, T. (2010). Assimilation and translocation of nitrogen and carbon in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. *Plant Biology*, 12(3), 414–423. http://dx.doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00229.x

Kim, Y. M., Jo, A., Jeong, J. H., Kwon, Y. R., & Kim, H. B. (2017). Development and characterization of microsatellite primers for *Zanthoxylum schinifolium* (Rutaceae). *Applications in Plant Sciences*, 5(7), 1-4. http://dx.doi.org/10.3732/apps.1600145

Khodorova, N. V., & Boitel-Conti, M. (2013). The role of temperature in the growth and flowering of geophytes. *Plants*, 2, 699-711. http://dx.doi.org/10.3390/plants2040699.

Ku, Y. G., Woolley, D. J., Hughes, A. R., & Nichols, M. A. (2007). Temperature effects on dormancy, bud break and spear growth in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(3), 446-450. http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2007.11512257

Langens-Gerrits, M. M., Nashimoto, S., Croes, A. F., & De Klerk, G. J. (2001). Development of dormancy in different lily genotypes regenerated in vitro. *Plant Growth Regulation*, 34, 215-222. http://dx.doi.org/10.1023/A:1013318810119

Li, X. J., Yang, M. F., Chen, H., Qu, L. Q., Chen, F., & Shen, S. H. (2010). Abscisic acid pretreatment enhances salt tolerance of rice seedlings: proteomic evidence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(4), 929-940 http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.01.004

Mahdavikia, F., Ebadi, M. T., Shojaeiyan, A., Ayyari, M., & Falahati-Anbaran, M. (2024). Genetic variation and structure of endemic and endangered wild celery (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) quantified using novel microsatellite markers developed by next-generation sequencing. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1301936, 1-12. http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2024.1301936 .

Malek, M., Hassani, F., Rezvani, E., Mahmoodi, V., & Khosravi, M. (2022). Optimal conditions determination for standard germination test of asafoetida (*Ferula assa-foetida*) seeds. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*. 12(1), 61-77. https://doi.org/10.22092/ijsst.2022.359018.1438 (In Persian).

Malek, M., Hassani, F., Rezvani, E., Shayanfar, A., Oskoee, B., & Dehshiri, A. (2022). Dormancy and germination response of Galbanum seeds (*Ferula gummosa*) under different hormonal pre-treatments and cold stratification. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*. 9(1), 127-146. https://doi.org/10.52547/yujs.9.1.127 (In Persian).

Marambe, B., Ando, T., & Kouno, K. (1992). Alpha-amylase and protease activities and water relations in germinating sorghum (*Sorghum bicolor* Moench) seeds as affected by animal-waste composts. *Soil Science and Plant Nutrition*, 38 (1), 123-131. https://doi.org/10.1080/00380768.1992.10416959

Mirhosseini, F., Rahimmalek, M., Pirbalouti, A. G., & Taghipoor, M. (2015). Effect of different drying treatments on essential oil yield, composition and color characteristics of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Journal of Essential Oil Research*. 27, 204–211. https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1015691

Mousavi, S., Mozaffarian, V., Mummenhoff, K., Downie, S. R., & Zarre, S. (2020). An updated lineage-based tribal classification of Apiaceae subfamily Apioideae with special focus on Iranian genera. *Systematics and Biodiversity*, 19(7), 1-21. https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1834002.

Mozaffarian, V. (2007). Umbelliferae. In M. Assadi (Ed.), *Flora of Iran*, No. 54. (Tehran: Research Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran. (In Persian)

Muthoni, J., Kabira, J., Shimelis, H., & Melis, R. (2014). Regulation of potato tuber dormancy: A review. *Australian Journal of Crop Science*, 8, 754–759.

Nie, L. C., Chen, Y. H., & Liu, M. (2016). Effects of low temperature and chilling duration on bud break and changes of endogenous hormones of asparagus. *European Journal of Horticultural Science*, 81(1), 22-26. http://dx.doi.org/10.17660/eJHS.2016/81.1.3

Parera, C., & Cantliffe, D. (1994). Dehydration rate after solid matrix alters seed performance of shrunken-2 corn. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(3), 629-635. http://dx.doi.org/10.21273/JASHS.119.3.629

Pouresmail, M., & Sharifi, M. (2003). Dormancy-breaking in *Bunium persicum* seeds by stratification and some cytokinines. Iranian *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 19(2), 183-193. (In Persian).

Ranal, M. A., Santana, D. G., Ferreira, W. R., & Mendes-Rodrigues, C. (2009). Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Brazilian Journal of Botany*, 32, 849-855. http://dx.doi.org/10.1590/S0100- 84042009000400022

Raymond Hepler, J. (1922). Experiments in Forcing Rhubarb. [Master of science dissertation, University of Wisconsin—Madison].

Razeghi, L., Azizi, M., Ziaratnia, S. M., Bagheri, A. R., & Nemati, S. H. (2016). Evaluation in vitro culture of *Kelussia odoratissima* Mozaff and secondary metabolites production through suspension cultures. *The Pharma Innovation*, 5(1, Part B), 74-80.

Rentzsch, S., Podzimska, D., & Voegele, A. (2012). Dose- and tissue-specific interaction of monoterpenes with the gibberellin-mediated release of potato tuber bud dormancy, sprout growth and induction of α-amylases and β-amylases. *Planta*, 235, 137–151. http://dx.doi.org/10.1007/s00425-011-1501-1

Richardson, E. A., Anderson, J. L., & Campbell, R. H. (1986). The omnidata biophenometer (TA45-P): A chill unit and growing degree hour accumulator. *Acta Horticulturae*, 184, 95–100. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1986.184.10

Sajjadi, S. E., Shokoohinia, Y., & Mehramiri, P. (2013). Isolation and characterization of steroids, phthalide and essential oil of the fruits of *Kelussia odoratissima* Mozaff., an endemic mountain celery. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 8, 35.

Scott, S., Jones, R., & Williams, W. (1984). Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24, 1192-1199. doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x.

Shindy, W. W., & Smith, O. E. (1975). Identification of plant hormones from cotton ovules. *Plant physiology*, 55(3), 550-554. https://doi.org/10.1104/pp.55.3.550

Sheikh, F. R., Jose-Santhi, J., Kalia, D., Singh, K., & Singh, R. K. (2022). Sugars as the regulators of dormancy and sprouting in geophytes. *Industrial Crops and Products*, 189, 115817. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115817

Shin, K. S., Chakrabarty, D., & Paek, K. Y. (2002). Sprouting rate, change of carbohydrate contents and related enzymes during cold treatment of lily bulblets regenerated in vitro. *Scientia Horticulturae*, 96(1-4), 195-204. http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00087-0

Tabatabaeian, J., & Kadkhodaee, A. (2018). The effect of dormancy breaking treatments on seed germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff (kohrang). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*. 8(1), 201-212. https://doi.org/10.22034/ijsst.2018.116895.1156 (In Persian).

Tang, Y., Wang, L., Ma, C., Liu, J., Liu, B., & Li, H. (2011). The use of HPLC in determination of endogenous hormones in anthers of bitter melon. *Journal of Life Sciences*, 5, 139-142.

Torki, A., Hosseinabadi, T., Fasihzadeh, S., Sadeghimanesh, A., Wibowo, J. P., & Lorigooini, Z. (2018). Solubility of calcium oxalate and calcium phosphate crystallization in the presence of crude extract and fractions from *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Pharmacognosy Research*. 10, 379–384. http://dx.doi.org/10.4103/pr.pr_68_18

Uno, T., Kumano, T., & Araki, H. (2021). Utilization of snow and geothermal cold heat for temperature control and head production in witloof chicory hydroponic forcing culture in summer. *Environmental Control in Biology*, 59(3), 125-133. http://doi.org/10.2525/ecb.59.125

Uragami, A., Yamasaki, A., Matsuo, K., Yamaguchi, T., Tokiwa, H., Takizawa, T., & Shinzato, Y. (2017). Yield estimation of 1-year-old asparagus grown using rootstock-planting forcing culture. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(5), 530-538. http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2017.1301787

Wang, S. L., Beruto, M., Xue, J, Q., Zhu F, Y., Liu, C. J., Yan, Y. M., & Zhang, X. (2015). Molecular

cloning and potential function prediction of homologous SOC1 genes in tree peony. *Plant cell Reports*, 34, 1459-1471. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1800-2

Wang, Y., Zhao, H., Wang, Y., Yu, S., Zheng, Y., Wang, W. E., & Chan, Z. (2019). Comparative physiological and metabolomic analyses reveal natural variations of tulip in response to storage temperatures. *Planta*, 249, 1379-1390. https://doi.org/10.1007/s00425-018-03072-4

Xiao, Z., Storms, R., & Tsang, A. (2006). A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Analytical Biochemistry*, 351(1), 146-148. https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.01.036

Xu, R. Y., Niimi, Y., & Han, D. S. (2006). Changes in endogenous abscisic acid and soluble sugars levels during dormancy-release in bulbs of *Lilium rubellum*. *Scientia Horticulturae*, 111(1), 68-72. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.08.004

Yeom, M. S., Nguyen, T. K. L., Cho, J. S., & Oh, M. M. (2021). Improving germination rate of coastal glehnia by cold stratification and pericarp removal. *Agronomy*, 11(944), 1-10. https://doi.org/10.3390/agronomy11050944

Yu, X., Wang, L., & da Silva, J. A. T. (2012). Change of endogenous hormones inside *Paeonia lactiflora* buds during winter dormancy. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 6(1), 61-63.