بررسی کاریوتیپ برخی گونه‌های جنس *Trigonella* از استان فارس

مهرناز ریاست[1]، ژیرایر کاراپتیان[2]، عبدالرضا نصیرزاده[3]

چکیده

جنس شنبلیله (*Trigonella*) از خانواده پروانه‌آسا (*Papilionacea*) می‌باشد که براساس فلور ایرانیکا، ۳۲ گونه آن در نقاط مختلف ایران پراکنش دارد (Rechinger، ۱۹۸٤). شنبلیله به‌عنوان گیاهی دارویی، زراعی و مرتعی حائز اهمیت فراوان می‌باشد و در طب سنتی از آن استفاده زیادی بعمل می‌آید.

در این تحقیق پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی از سطح استان فارس، یک گونه شنبلیله چند ساله با نام علمی *T. elliptica* و ۷ گونه یکساله با نامهای علمی *T. foenum-graecum*، *T. spruneriana*، *T. monspeliaca*، *T. uncata*، *T. anguina*، *T. stellata* و *T. astroites* شناسایی گردید. مطالعات سیتوژنتیکی بر روی گونه‌های مورد مطالعه نشان داد که کلیه گونه‌ها دیپلوئید (۲n =۲x =۱٦) می‌باشند. با استفاده از صفاتی از قبیل: طول هر کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و نسبت بازوی بلند به کوتاه، تجزیه و تحلیل ژنوم گونه‌ها انجام و با استفاده از اطلاعات فوق کاریوتیپ هر گونه به‌صورت ایدیوگرام رسم و فرمول کاریوتیپی آنها مشخص گردید. این مطالعات نشان داد که کلیه گونه‌ها دارای کروموزومهای متاسنتریک و ساب متاسنتریک می‌باشند و گونه *T. foenum-graecum* با ۲٦/۲۸ میکرومتر و گونه *T. stellata* با ۱۳/۵۲ میکرومتر طول کل کروموزوم، به‌ترتیب بیشترین و کمترین ماده

۱- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

۲- استاد بخش بیولوژی دانشگاه ارومیه

۳- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

ژنتیکی را دارا می‌باشند. در پایان با استفاده از نرم‌افزار SPSS، میزان دوری و نزدیکی گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات کروموزومی مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج بدست آمده به‌صورت دندروگرام ارائه گردید.

واژه‌های کلیدی: شنبلیله، کاریوتیپ، سیتوژنتیک، *Trigonella*

مقدمه

شنبلیله با نام علمی *Trigonella* L. و با نام انگلیسی Fenugreek متعلق به خانواده *Papilionaceae* می‌باشد. بعضی از گونه‌های این جنس در طب سنتی کاربرد دارند و تاکنون دهها ماده مؤثره از برگ و دانه این گیاه استخراج شده که دارای استفاده‌های دارویی می‌باشند (میر حیدر، ۱۳۷۲ و زرگری، ۱۳٦٦). به‌علاوه گونه‌های جنس شنبلیله از نظر زراعی، مرتعی و تولید علوفه و حفاظت خاک نیز حائز اهمیت می‌باشند که انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد.

اولین مطالعه کروموزومی شنبلیله در مورد گونه‌های *T. foenum-graecum* و *T. coerulea* انجام گرفت و عدد کروموزومی این دو گونه ۱٦= ۲x= ۲n اعلام شد. همچنین عدد کروموزومی گونه، *T. monspeliaca* ۱٦ = ۲x= ۲n گزارش گردید (Darlington و Wylie ، ۱۹۵۵). در گزارشی که در سال ۱۹۷۵ منتشر گردید عدد کروموزومی گونه *T. foenum-graecum* ، ۱٦= ۲x= ۲n اعلام شد (Goldblatt، ۱۹۷۸). در تحقیقاتی که بین سالهای ۱۹۷۵ تا ۱۹۹٤ توسط عده‌ای از محققان به‌صورت جداگانه در مورد گونه *T. foenum-graecum* صورت گرفت عدد کروموزومی این گونه۱٦= ۲x= ۲n گزارش گردید (Goldblatt، ۱۹۹۵) ولی در سال ۱۹۹۰ عدد کروموزومی این گونه B + ۱٦= ۲x=۲n گزارش گردید (Goldblatt، ۱۹۹۱)adizinsky و Vosa (۱۹۸٦) ضمن به‌دست‌آوردن عدد کروموزومی ۱٦= ۲x= ۲n برای شش گونه

شنبلیله *T. cassia* ,*T. gladiata* ,*T. foenum-graecum* *T.* *macrorrhyncha* , *T. cariensis* و *berythea* , به این نتیجه رسیدند که ۲ گونه اولی دارای کاریوتیپ متقارن با کروموزومهای متاسانتریک و ٤ گونه بعدی دارای کاریوتیپ نامتقارن و کروموزمهای آکروسانتریک می‌باشند. Lakshmi و همکاران (۱۹۸٤) تحقیقاتی روی سویه‌های *T. foenum-graecum* که از نظر مورفولوژیکی مشابه بودند و نیز روی یک سویه از گونه *T. corniculata* انجام دادند. شواهد کاریوتیپی نشان داد که مسیر تکاملی در این دو گونه از کروموزمهای بلند به کوتاه و از کاریوتیپهای متقارن به نامتقارن می‌باشد. Raghuvanshi و Pam (۱۹۸۰) طی مطالعاتی اعلام کردند که سلولهای سوماتیکی گونه *T. foenum-graecum* دارای ۲ کروموزم B است. Pant و همکاران (۱۹۸۰) تتراپلوئیدهای گونه مذکور را توسط تیمار کلشی‌سین از گیاهان دیپلوئیدی که حامل کروموزم B بودند ایجاد نمودند که تعدادی از تتراپلوئیدهای بدست آمده دارای کروموزم B و تعدادی نیز فاقد این کروموزم بودند.

مواد و روشها

در این پژوهش به‌منظور مشاهده کروموزم گونه‌های مورد مطالعه از بافتهای مریستمی ریشه‌چه بذر استفاده گردید. به‌این‌ترتیب که پس از آزمایشهای متوالی، بهترین طول ریشه‌چه از یک تا یک و نیم سانتیمتر و بهترین زمان قطع ریشه‌چه و شروع پیش تیمار بین ساعت هشت تا نه صبح تشخیص داده شد. در این بررسی از ۸- هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار به‌عنوان پیش تیمار استفاده گردید و ریشه‌های حاصل از بذرهای جوانه‌زده بین ۳ تا ۵ ساعت در محلول فوق تیمار شدند. در مرحله تثبیت، پس از خارج کردن ریشه‌ها از محلول پیش تیمار، آنها را به‌مدت ۲۰-۲٤ ساعت در محلول کارنوی (۱ قسمت اسیداستیک خالص و ۳ قسمت اتانول خالص) و در دمای ٤ درجه سانتیگراد در یخچال قرار داده شدند. در مرحله هیدرولیز، ریشه‌ها درون شیشه ساعتی

محتوی اسید کلریدریک یک نرمال و در آون در دمای ٦٠ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بهترین زمان هیدرولیز برای گونه‌های مورد مطالعه از ٦ تا ١٠ دقیقه بود. رنگ‌آمیزی با استفاده از استو اورسیئن صورت گرفت و ریشه‌ها به‌مدت ١٠ تا ١٥ دقیقه در محلول رنگ‌آمیزی به ملایمت در دمای ٦٠ درجه سانتیگراد حرارت داده شدند. یادآوری می‌شود که پس از انجام هر مرحله، ریشه‌ها با آب مقطر شستشو و بعد با استفاده از کاغذ خشک کن، آبگیری می‌شدند.

از سلولهای متافازی مناسب توسط فتومیکروسکوپ عکس تهیه شد و بعد با استفاده از استریومیکروسکوپ خصوصیات کاریوتیپی شامل طول هر کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، اختلاف طول دو بازو، نسبت بازوی بلند به کوتاه، نسبت بازوی کوتاه به بلند و طول نسبی هر یک از کروموزمها برای هر گونه مشخص گردید. با استفاده از اطلاعات فوق ابتدا سطح پلوئیدی تعیین و بعد با استفاده از نرم‌افزارAUTOCAD کاریوتیپ هر گونه به‌صورت ایدیوگرام رسم گردید.

براساس روش Levan و همکاران (١٩٦٤)، فرمول کاریوتیپی گونه‌ها مشخص شد. به‌منظور مطالعه میزان دوری و نزدیکی گونه‌ها از یکدیگر با استفاده از نرم‌افزارSPSS به‌روش Ward تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت. با استفاده از مؤلفههای طول متوسط کروموزوم (X) و اختلاف دامنه طول نسبی کروموزومها[1] (D.R.L) تقارن کاریوتیپی گونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

1 Difference of Range of Relative Length

نتایج

۱ـ کاریوتیپ گونه *T. foenum - graecum* L.: گونه‌ای است دیپلوئید ۲n =۲x =۱٦ با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۱) و فرمول کاریوتیپی ۲m+۱٤sm . طول کل کروموزومهای این گونه در یک ژنوم ۲٦/۲۸ میکرومتر است که طول کل بازوی‌های بلند ۱٦/۹۸ میکرومتر و طول کل بازوی‌های کوتاه ۹/۳۰ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۳/۹۹ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۲/٦۲ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۳/۲۸ میکرومتر است. در شکل شماره ۲ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

۲ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله ترکیه‌ای *T. spruneriana*: گونه‌ای است دیپلوئید ۲n =۲x =۱٦ با عدد پایه x =۸ (شکل شماره ۳) و فرمول کاریوتیپی ۱٦ m. به عبارت دیگر کلیه کروموزومها متاسانتریک هستند. طول کل کروموزومهای این گونه ۱۹/۳۸ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۱۱/۸۸ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ۷/۵ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۷۹ میکرومتر و کوتاهترین آنها ۱/۹۸ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۲/٤۲ میکرومتر است. در شکل شماره ٤ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

۳ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله شیرازی *T. elliptica* : گونه‌ای است دیپلوئید ۲n =۲x =۱٦ با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۵) و فرمول کاریوتیپی ۱٤m +۲sm. طول کل کروموزومهای این گونه ۱٦/٦ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۹٤/۹ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ٦٦/٦ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۵ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/٦۲ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۲/۰۷ میکرومتر است. در شکل شماره ٦ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

٤ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله سینوسی *T. astroites*: گونه‌ای است دیپلوئید

۱٦= ۲x= ۲n با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۷) و فرمول کاریوتیپی ۱۲m +٤sm. طول کل کروموزومهای این‌گونه ۱٤/۸۱ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۹/۱٤ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ٥/٦۷ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۳٤ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/٤۲ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۱/۸٥ میکرومتر است. در شکل شماره ۸ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

٥ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله قلاب‌دار *T. uncata*: گونه‌ای است دیپلوئید ۱٦= ۲x= ۲n با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۹) و فرمول کاریوتیپی ٦m +۱۰sm. طول کل کروموزومهای این‌گونه ۱۳/۸٥ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۸/٥۰ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ٥/۳٥ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۳٦ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/۲٥ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۱/۷۳ میکرومتر است. در شکل شماره ۱۰ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

٦ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله ماری *T. anguina*: گونه‌ای است دیپلوئید ۱٦= ۲x= ۲n با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۱۱) و فرمول کاریوتیپی ۱٦sm. که نشان‌دهنده این است که کلیه کروموزومها ساب‌متاسانتریک می‌باشند. طول کل کروموزومهای این گونه ۱۹/۰۱ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۱۲/۲۰ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ٦/۸۱ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۷٥ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/۹۱ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۲/۳۷ میکرومتر است. ایدیوگرام این گونه در شکل شماره ۱۲ نمایش داده شده است.

۷ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله مونپلیه‌ای *T. monspeliaca*: گونه‌ای است دیپلوئید ۱٦ = ۲x= ۲n با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۱۳) و فرمول کاریوتیپی ۲sm+ ۱٤m. طول کل کروموزومهای این گونه ۱٥/٤۸ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۹/٥۷ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه ٥/۹۱ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۲٥

میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/۵۹ میکرومتر طول داشتند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۱/۹۳ میکرومتر است. در شکل شماره ١٤ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

۸ـ کاریوتیپ گونه شنبلیله ستاره‌ای *T. stellata*: گونه‌ای است دیپلوئید ۲n =۲x =١٦ با عدد پایه x=۸ (شکل شماره ۱۵) و فرمول کاریوتیپی آن ٤m +١٢sm است. طول کل کروموزومهای این گونه ۱۳/۵۲ میکرومتر است که طول کل بازوی بلند ۸/۷۰ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه٤/٨٢ میکرومتر می‌باشد. بلندترین کروموزوم ۲/۰۸ میکرومتر و کوتاه‌ترین آنها ۱/۲۵ میکرومتر طول دارند. متوسط طول هر کروموزوم نیز ۱/٦٩ میکرومتر است. در شکل شماره ١٦ ایدیوگرام این گونه نشان داده شده است.

بحث

بررسی منابع نشان داد که تاکنون در جهان مطالعات سیتولوژیکی اندکی در مورد گونه‌های شنبلیله انجام شده است که عمده این مطالعات درباره گونه *T. foenum-graecum* که یک گونه زراعی است انجام شده است و این تحقیق برای اولین بار در ایران ارائه می‌شود.

این پژوهش نشان داد که کلیه گونه‌های مورد مطالعه دیپلوئید (٢n =٢x =١٦) با عدد پایه کروموزومی x =۸ می‌باشند. که با گزارشهایی که عدد کروموزومی گونه *T. foenum – graecum* را ٢n=٢x=١٦ اعلام نمودند تایید می‌شود، ولی با گزارشهای کروموزومی که به‌ترتیب عدد کروموزومی٢n=٢x=١٦+٢B و٢n=٢x=١٦+B برای گونه *T. foenum- graecum* ارائه کردند مغایرت دارد.

نتایج تجزیه کاریوتیپی ۸ گونه از جنس شنبلیله نشان می‌دهد که بیشترین مقدار طول کل کروموزوم مربوط به گونه *T. foenum-graecum* با ٢٦/٢٨ میکرومتر و کمترین مقدار طول کل کروموزوم مربوط به گونه *T. stellata* با ۱۳/۵۲ میکرومتر

می‌باشد. به‌طوری‌که در گونه *T. foenum-graecum* طول بازوی بلند ۱٦/۹۸ میکرومتر و طول بازوی کوتاه ۹/۳۰ میکرومتر می‌باشد درحالی‌که در گونه *T. stellata* طول بازوی بلند ۸/۷۰ میکرومتر و طول بازوی کوتاه ٤/۸۲ میکرومتر است. در دندروگرام گونه‌ها، گونه *T. Foenum-graecum* با فاصله بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها قرار دارد که می‌تواند تأییدکننده اختلاف کروموزومی این گونه با سایر گونه‌ها باشد. بیشترین اختلاف در طول دو بازو مربوط به جفت کروموزوم شماره ۱ مربوط به گونه *T. foenum-graecum* با ۱/۲۱ میکرومتر و کمترین اختلاف مربوط به جفت کروموزوم شماره ۸ گونه *T. elliptica* با ۰/۳۰ میکرومتر می‌باشد.

در بررسی فرمول کاریوتیپی براساس روش Levan (۱۹٦٤) و همکاران دو نوع کروموزوم متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک در گونه‌ها دیده می‌شود. در گونه *T. spruneriane* ۱۰۰ درصد، در دو گونه *T. elliptica* و *T. monspeliaca* ۸۷ درصد، گونه *T. astroites* ۷۵ درصد، گونه *T. uncata* ۳۷ درصد، گونه *T. stellata* ۲۵ درصد، گونه *T. foenum-graecum* ۱۲ درصد و در گونه *T. anguina* صفر درصد کروموزومها متاسانتریک بودند، درحالی‌که Ladizinsky و Vosa(۱۹۸٦) با بررسی کاریوتیپ ٦ گونه شنبلیله، کروموزومهای *T. foenum-graecum* را آکروسانتریک گزارش نمودند. از نظرکروموزومهای ساب‌متاسانتریک، گونه *T. anguina* با ۱۰۰ درصد بیشترین فراوانی و گونه‌های *T. elliptica* *T. monspeliaca* با ۱۲ درصد کمترین فراوانی را شامل می‌شوند.

همچنین نتایج تجزیه کاریوتیپ ۸ گونه جنس *T. rigonella* نشان می‌دهد که بیشترین میزان طول متوسط کروموزوم(X) مربوط به گونه زراعی *T. foenum-graecum*با ۳/۲۸ میکرومتر و کمترین آن مربوط به گونه *T. stellata* با ۱/٦۹ میکرومتر می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش تقارن کاریوتیپها، مقدار میانگین طول کروموزوم افزایش می‌یابد و گونه‌ها هرچه نامتقارن‌تر می‌شوند از میزان

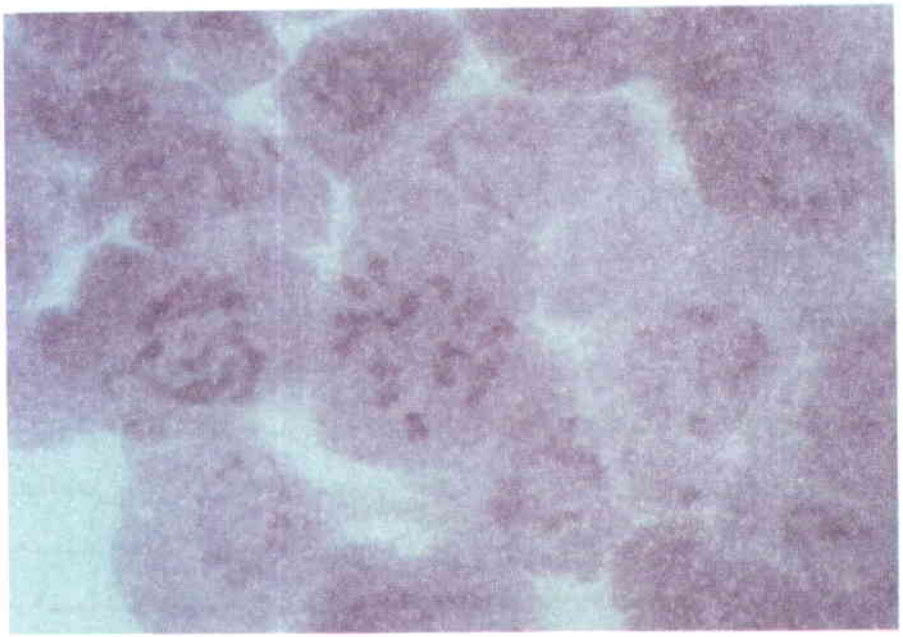
طول کل (X) کاسته می‌شود. در نتیجه در روند تکامل کاریوتیپی وتغییر از متقارن به نامتقارن در اندازه کروموزوم کاهش روی می‌دهد. با بررسیهایی که Lakshmi و همکاران (۱۹۸٤) در مورد سویه‌های مختلف دو گونه شنبلیله انجام دادند مسیر تکاملی را از کروموزومهای بلند به کوتاه و از کاریوتیپهای متقارن به نامتقارن اعلام نمودند و این مورد، تأییدکننده نتیجه بدست آمده می‌باشد.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به‌روش Ward نشان می‌دهد که گونه‌های جنس شنبلیله به‌طورکلی ۳ خوشه به‌شرح زیر تشکیل می‌دهند (شکل شماره ۱۷). :

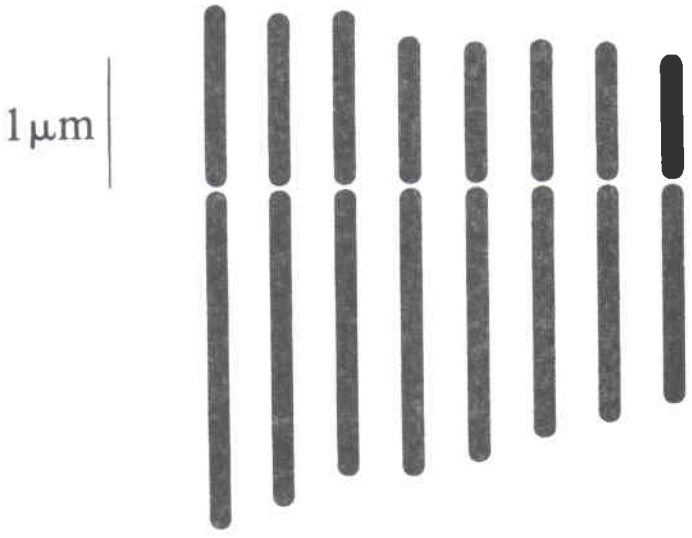
۱ـ خوشه اول شامل چهار گونه *T. monspeliaca*، *T. astroites*، *T. uncata* و *T. stellata*می‌باشند. گونه‌های *T. monspeliaca* و *T. astroites* بیشترین خویشاوندی را با هم نشان می‌دهند و گونه *T. stellata* با فاصله بیشتری از سه گونه دیگر قرار دارد.

۲ـ خوشه دوم شامل سه گونه *T. sprunerana* ، *T. elliptica* و *T. anguina* می‌باشند. گونه‌های *T. spruneriana* و *T. elliptica* با یکدیگر خویشاوندی نزدیکتر دارند و گونه *T. anguina* با فاصله، به دو گونه دیگر ارتباط پیدا می‌کند.

۳ـ خوشه سوم تنها شامل گونه زراعی *T. foenum-graecum* می‌باشد که کمترین قرابت را با سایر گونه‌ها نشان می‌دهد. از آنجا که هفت گونه فوق همگی مرتعی هستند و به‌صورت خودرو در طبیعت می‌رویند و گونه *T. foenum-graecum* یک گونه زراعی و اهلی شده است، بنابراین، این تفاوت، نمایانگر اختلاف بین گونه‌های مرتعی و زراعی می‌باشد.

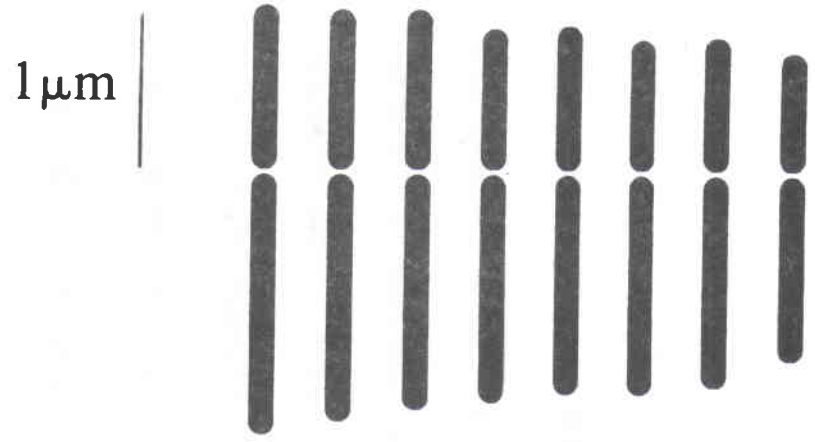


شکل ۱- کروموزومهای گونه *T. foenum-graecum* در مرحله متافاز میتوز



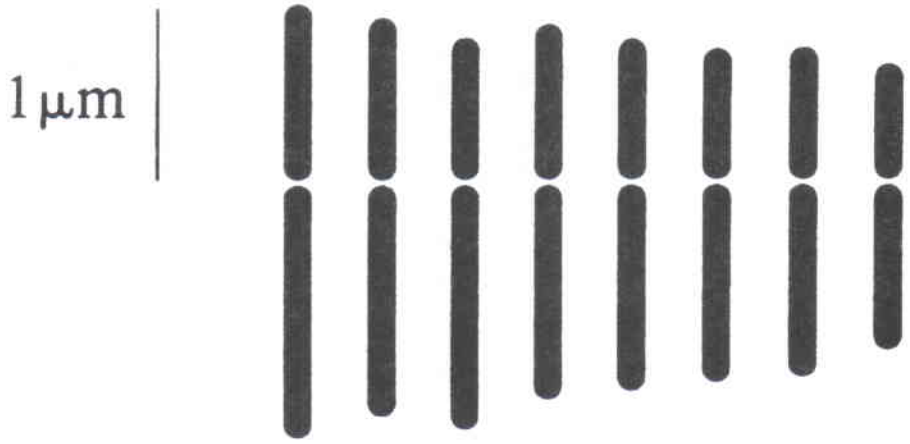
شکل ۲- کاریوتیپ گونه *T. foenum-graecum* به‌صورت ایدیوگرام

شکل ۳- کروموزومهای گونه *T. spruneriana* در مرحله متافاز میتوز



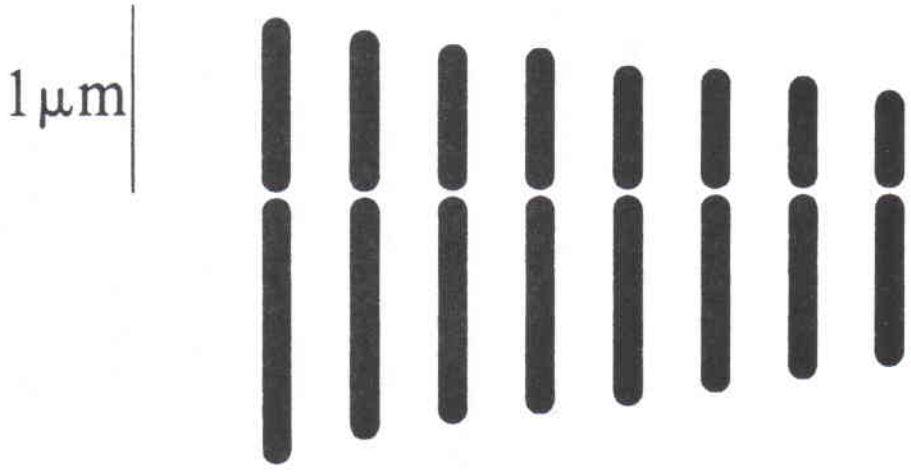
شکل ٤- کاریوتیپ گونه *T. spruneriana* به‌صورت **ایدیوگرام**

شکل ۵- کروموزومهای گونه *T. elliptica* در مرحله متافاز میتوز

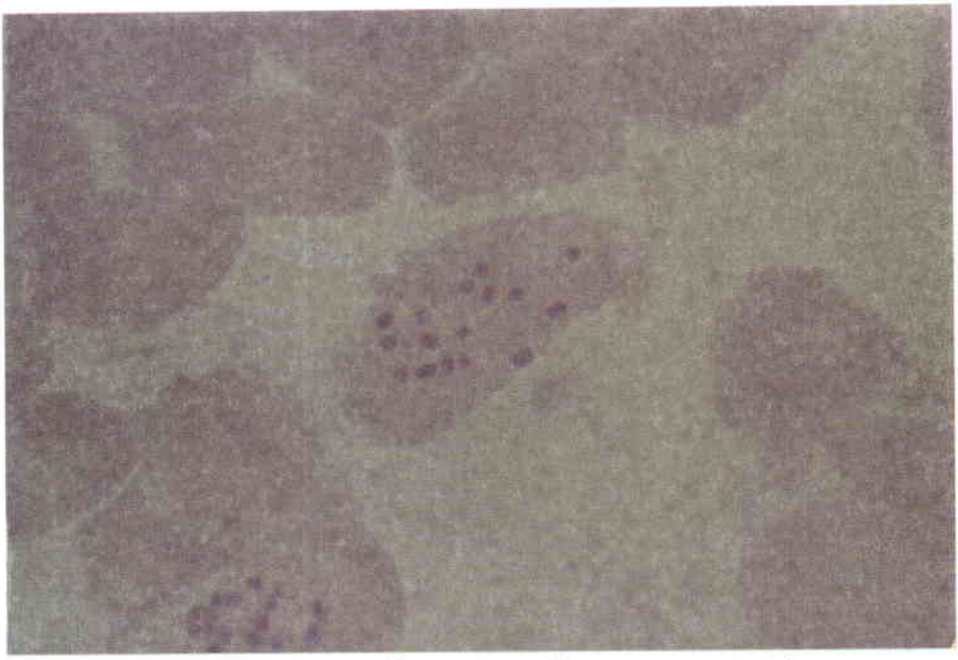


شکل ٦- کاریوتیپ گونه *T. elliptica* به‌صورت ایدیوگرام

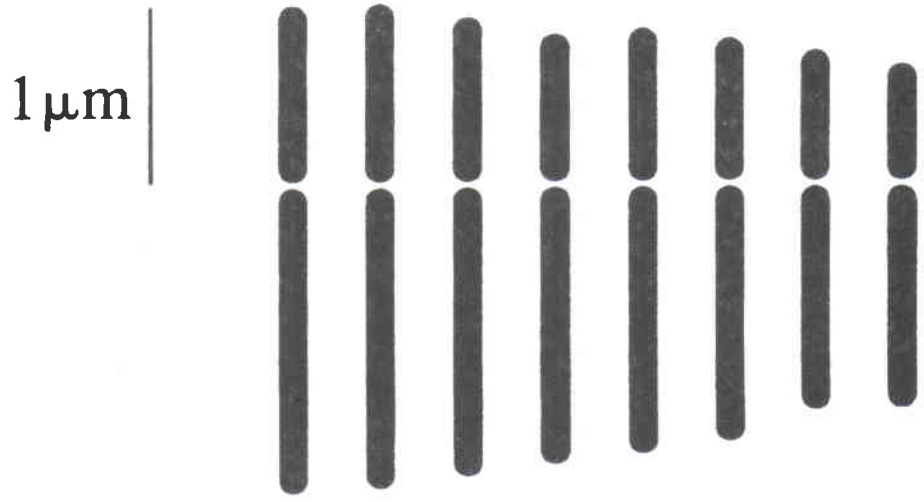
شکل ۷- کروموزومهای گونه *T. astroites* در مرحله متافاز میتوز



شکل ۸- کاریوتیپ گونه *T. astroites* به‌صورت ایدیوگرام

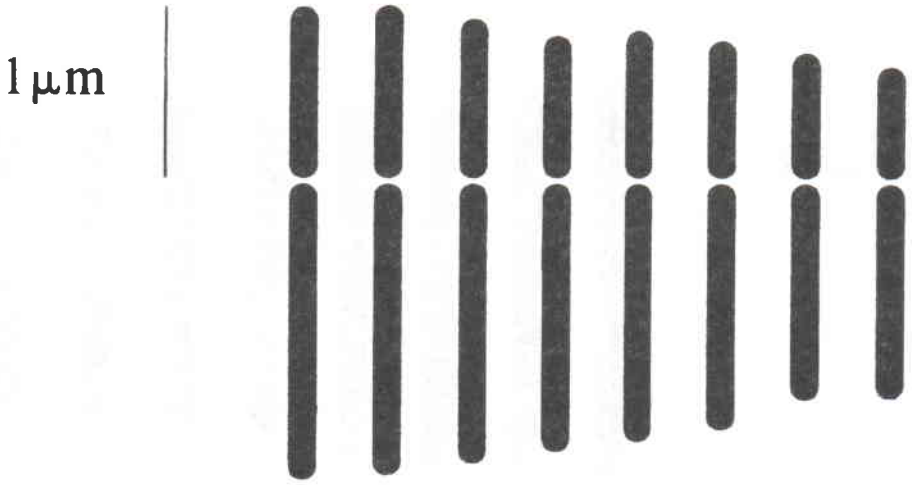


شکل ۹- کروموزومهای گونه *T. uncata* در مرحله متافاز میتوز



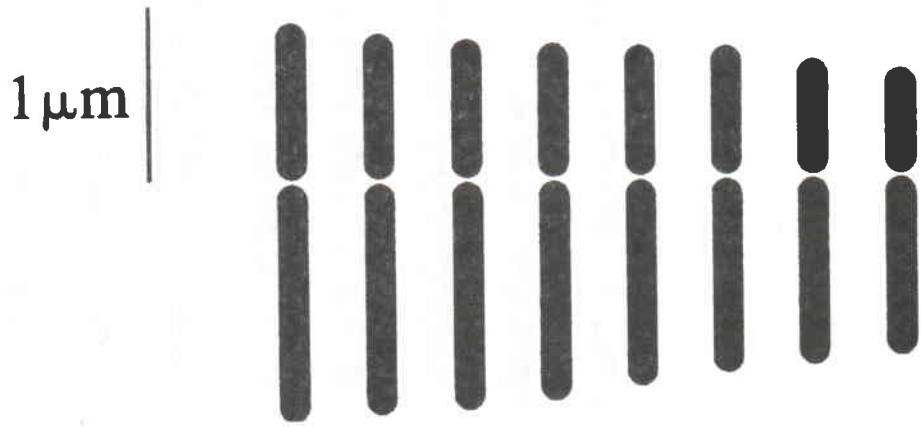
شکل ۱۰- کاریوتیپ گونه *T. uncata* به‌صورت ایدیوگرام

شکل ۱۱- کروموزومهای گونه *T. anguina* در مرحله متافاز میتوز

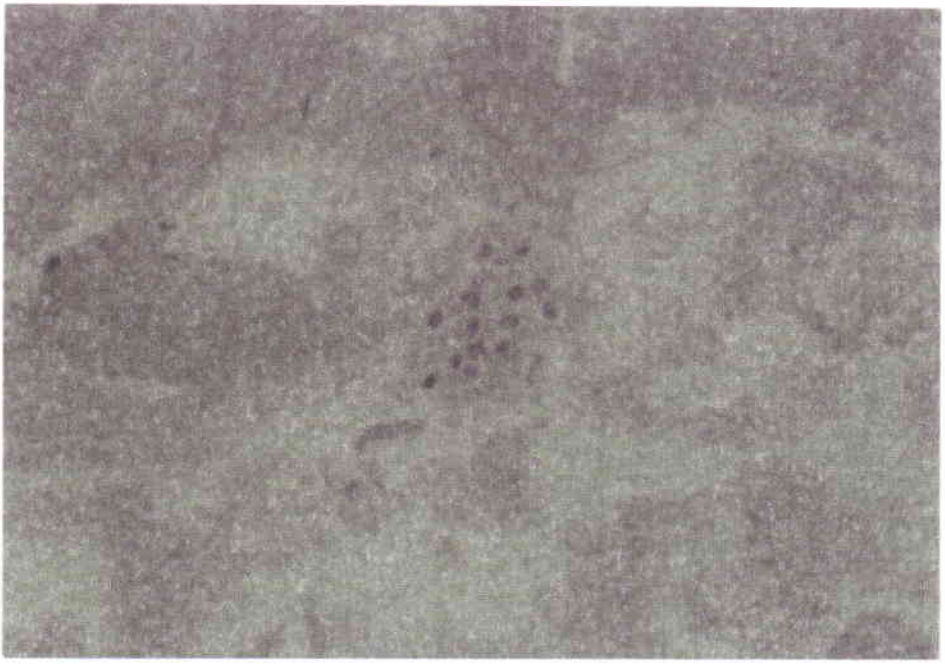


شکل ۱۲- کاریوتیپ گونه *T. anguina* به‌صورت ایدیوگرام

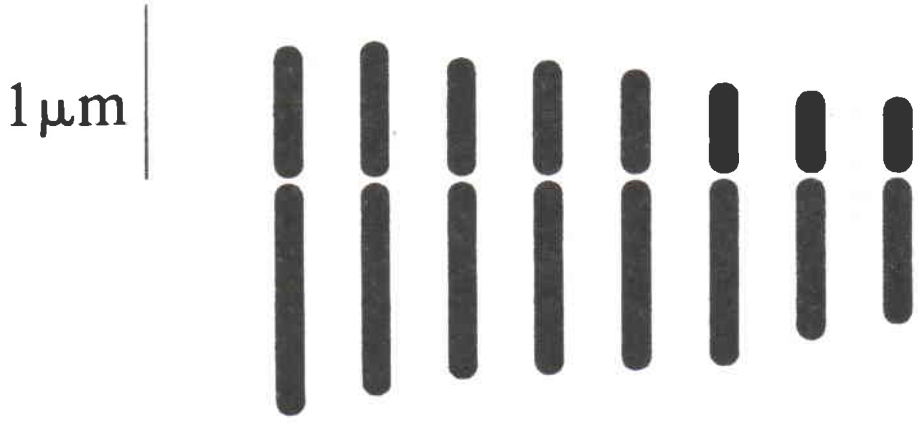
شکل ۱۳- کروموزومهای گونه *T. monspeliaca* در مرحله متافاز میتوز



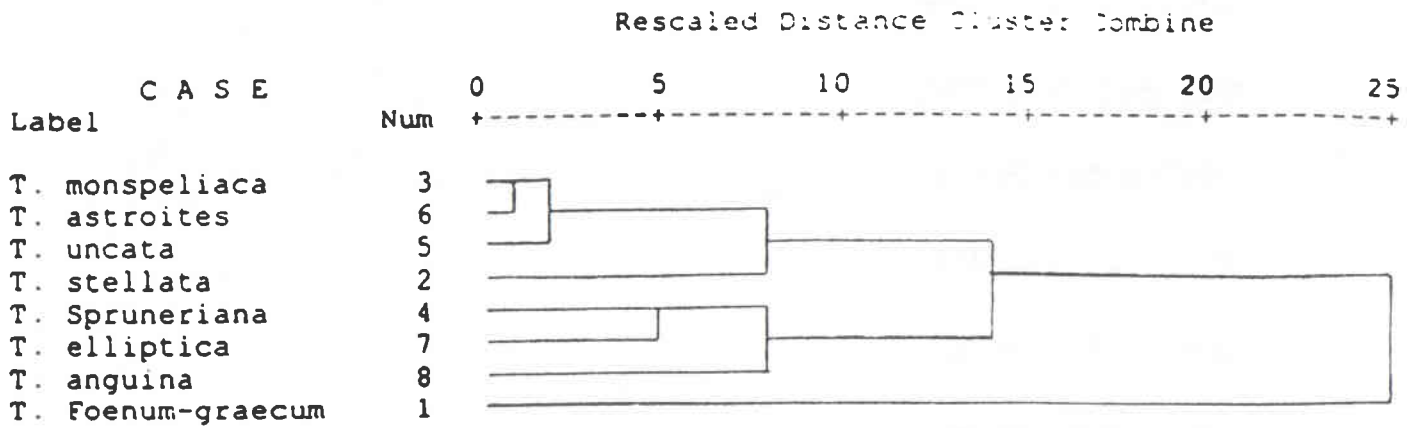
شکل ۱٤- کاریوتیپ گونه *T. monspeliaca* به‌صورت ایدیوگرام



شکل ۱۵- کروموزومهای گونه *T. stellata* در مرحله متافاز میتوز



شکل ۱۶- کاریوتیپ گونه *T. stellata* به صورت ایدیوگرام



شکل ۱۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۸ گونه شنبلیله در استان فارس

براساس روش Ward

منابع

۱- زرگری، ع.، ۱۳٦٦. گیاهان دارویی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران. ۷٤۰ صفحه.

۲- میرحیدر، ح.، ۱۳۷۲. معارف گیاهی. جلد اول. دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ۵۵۷ صفحه.

3- Darlington, C.D. and Wylie, A.P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. George Allen and Unwin LTD, 519 pp.

4- Goldblatt, P. 1995. Index to Plant Chromosome Numbers, Missouri Botanical Garden.

5- Goldblatt, P. 1978. Index to Plant Chromosome Numbers, Missouri Botanical Garden.

6- Goldblatt, P. 1991. Index to Plant Chromosome Numbers, Missouri Botanical Garden.

7- Ladizinsky, G. and Vosa, C. 1986. Karyotype and C - banding in *Trigonella* section *Foenum - graecum* (*Fabaceae*). Plant Systematics and Evolution. 153: 12, 1-5.

8- Lakshmi, N., Rao, T. and Venkateswara, R. 1984. Karyological and morphological investigations on some inbred strains of *Trigonella*. Genetica-Iberica, 36:34, 187-200.

9- Levan, A., Fredga K. and Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on Chromosomes, Hereditas, 52: 201-220.

10- Pant, M., Raghuvanshi S. and Manjula, P. 1980. Chromosomal association in C1, C2 and C8 autotetraploid B Carrier *Trigonella Foenum-graecum* L. Journal of Cytology and Genetics, 15:1, 93-98.

11- Raghuvanshi, S. and Pant, M. 1980. Studies on the distribution of B chromosomes in different plant parts of *Trigonella foennm - grnecum* L. Caryologia, 33:2, 215-225.

12- Rechinger, K.H., 1984. Flora Iranica. No 157. Akademiche Druck – u. Verlagsanstalt Granz. Austria.