

مطالعه کاریوتیپ گونه‌هایی از جنس *Salsola*

نجاتعلی سالار^۱، حسن مداد عارفی^۲، مصطفی اسدی^۳ و عبدالرضا نصیرزاده^۳

چکیده

در این تحقیق کاریوتیپ ۸ گونه سالسولا با استفاده از مریستم نوک ریشه و مشاهدات متافاز میتوzی مورد بررسی قرار گرفت. گونه‌های مطالعه شده *S. crassa* *S. nitraria* *S. kali* *S. incanescens* *S. dendroides* *S. rigida* و *S. richteri* و *S. tomentosa* *S. kali* *S. incanescens* *S. dendroides* می‌باشند.

براساس شمارش کروموزومی، گونه‌های مورد مطالعه در چهار گروه $2n=2x=18$ (۴ گونه) و $2n=4x=36$ (۲ گونه) و $2n=6x=54$ (۱ گونه) و $2n=8x=72$ (۱ گونه) قرار گرفتند. با تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مطالعه ژنوم گونه‌ها شامل تعیین طول کل هر کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و نسبت بازوی بلند به کوتاه، میزان قرابت گونه‌های مورد مطالعه مشخص شد. براساس جدول لوان، نوع کروموزومهای هر گونه مشخص و مورد بررسی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: سالسولا، سیتوژنتیک، کاریوتیپ، میتوز، متافاز، دیبلوئید، تراپلوبloid.

۱- مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان سمنان

۲- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵

۳- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام فارس، شیراز، صندوق پستی: ۶۱۷-۷۱۵۵۵

مقدمه

سالسولاها (*Salsola sp.*) از گونه‌های علوفه‌ای حائز اهمیت در مناطق خشک بوده و وجود تپه‌های گسترده از بعضی گونه‌های این جنس در مراتع نشان دهنده سازگاری بالای آن با شرایط اکولوژیکی می‌باشد.

این جنس در دنیا ۱۲۰ گونه و در ایران ۴۰ گونه دارد (مظفریان، ۱۳۷۵) و یکی از جنسهای بزرگ تیره چغندر است. گونه‌های آن یکساله و چند ساله علفی و گاهی درختچه‌ای می‌باشند. از این جنس تاکنون ۱۵ گونه در استان سمنان توسط نگارنده جمع‌آوری و در کلکسیون کشت شده‌اند (سالار، ۱۳۷۴).

وجود صفاتی از قبیل پایین بودن نیاز آبی (یک دوم تا یک سوم گراسها) و تعرق کم (۳۵۰-۸۰۰ میلی‌گرم در ساعت به ازای هر گرم ماده خشک)، تولید بذر زیاد (۱۰۰-۲۰۰ کیلوگرم در هکتار)، قدرت زیاد نفوذ ریشه، دیر زیستی، مقاومت به چرا، ارزش تغذیه‌ای، وسعت دامنه پراکنش (*Salsola richteri*) در تپه‌های ماسه‌ای، *Salsola dendroides* و *Salsola paulsenii* در مناطق شور، *Salsola nitraria* در مناطق گچی، *Salsola montana* در مناطق کوهستانی و *Salsola rigida* در مراتع نسبتاً مستعد...) ایجاد می‌نماید که بررسی همه جانبه‌ای در گونه‌های جنس سالسولا صورت گیرد.

انجام مطالعات سیتوژنتیکی از اقدامات اولیه بهنژادی می‌باشد زیرا شناخت تعداد و ساختمان کروموزومها و تعیین سطح پلوبیتدی گیاه در انتخاب روش‌های بهنژادی، تلاقیهای بین گونه‌ای، شناسایی و طبقه‌بندی گیاهان و همچنین در بررسیهای تغییرات تکاملی گیاهان و تعیین قرابت حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روشها

بذرهای مورد نیاز از طبیعت جمع‌آوری و نمونه‌های شاهد در هرباریوم سمنان نگهداری شدند. پس از جمع‌آوری و پاک کردن بذرها اقدام به جوانه‌دار کردن آنها به منظور تهیه مریستم ریشه گردید. بررسیهای به عمل آمده حاکی از آن است که دوره خواب بذرها حدوداً ۳۰-۵۰ روز می‌باشد. بنابراین جهت تهیه مریستم انتهایی ریشه می‌توان از بذرهای جمع‌آوری شده همان سال استفاده کرد. با افزایش عمر بذر، جوانه‌زنی به شدت کاهش پیدا می‌کند به طوری که اکثر بذرها بعد از گذشت سه سال قوه نامیه خود را از دست می‌دهند. قوه نامیه بذرهای مورد بررسی تا مدت یک سال مطلوب می‌باشد.

به منظور جلوگیری از آلودگیهای قارچی بذرها قبل از کشت در پتری‌دیش، با قارچ‌کش زینب (۲ در هزار) ضدغوفونی شدند. مدت زمان غوطه‌ور کردن بذرها در قارچ‌کش ۳-۵ دقیقه کافی می‌باشد. بذرها در مزرعه نیز کاشته شده و جهت انجام مطالعات کروموزومی از بذرهای جمع‌آوری شده در طبیعت و مزرعه استفاده شد. ریشه‌ها در پیش تیمارهای ۸-هیدروکسی کینولئین دو هزارم مولار و برومونفتالین اشباع در آب مقطر و کلشی‌سین $4/0\%$ مورد آزمون قرار گرفتند. در این بررسی از ۸-هیدروکسی کینولئین به دلیل واکنش بهتری که گونه‌های مورد بررسی نشان دادند مورد استفاده قرار گرفت. مهمترین نمونه‌گیری و مدت زمان قرار دادن نمونه در پیش تیمار در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

میزان تأثیر پیش تیمار روی گونه‌های *S. rigida* و *S. richteri* در محیط تاریک بیشتر از محیط روشنایی بود و بقیه گونه‌های مورد بررسی در محیط روشنایی عکس العمل بهتری نشان دادند.

در این بررسی مدت پیش تیمار با اندازه ریشه رابطه‌ای نشان نداد برای مثال گونه *S. nitraria* با اندازه ریشه حدود $4/5$ سانتی‌متر با مدت پیش تیمار $2/5$ ساعت و

گونه *S. richteri* با اندازه ریشه حدود ۴-۳/۵ سانتیمتر با مدت پیش تیمار ۴/۲ ساعت بهترین حالت را داشت.

ثبت: در این بررسی جهت ثبیت از محلول فارمر استفاده شده است. مدت زمانی که ریشه‌ها در محلول فارمر قرار گرفتند برای گونه‌های مختلف متفاوت بود. برای دستیابی به بهترین مدت ثبیت سه تیمار یک ساعت، ۱۶ ساعت و ۲۴ ساعت روی گونه‌های مورد بررسی انجام شد (جدول شماره ۲).

نمونه‌ها بعد از این مرحله یا بلافصله هیدرولیز و رنگ‌آمیزی شدند و یا برای مطالعه در زمانی دیگر به روش زیر نگهداری گردیدند.

نگهداری: جهت نگهداری نمونه‌ها پس از اتمام مراحل ثبیت، آنها را از محلول ثبیت خارج نموده و در الکل اتیلیک ۷۰ درجه و در حرارت ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری گردیدند.

هیدرولیز: بدین منظور ریشه‌ها را از محلول ثبیت خارج نموده و با آب مقطر شستشو داده، سپس نمونه‌ها به یک شیشه محتوی اسید کلریدریک یک نرمال منتقل شدند. خلاصه‌ای از شرایط هیدرولیز در گونه‌های مختلف مورد مطالعه در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

رنگ‌آمیزی: در این بررسی از رنگ اورسین استفاده گردید.

مشاهدات میکروسکوپی و تصویربرداری: در این بررسی جهت مشاهدات، از میکروسکوپ المپوس (BX40)^۱ استفاده گردید. دوربین مورد استفاده تمام اتوماتیک المپوس بوده است. بزرگنمایی تصاویر ۱۱۴۵ می‌باشد.

بزرگنمایی تصویر = بزرگنمایی فیلم × بزرگنمایی عدسی دوربین × بزرگنمایی عدسی شیئی

$$100 \times 3/3 \times 3/47 = 1140$$

نتایج

در این پژوهش، بررسی کاریوتیپی ۸ گونه سالسولا انجام شد. در این بررسی دامنه نوسانات مدت پیش‌تیمار برای گونه‌های مورد بررسی $5/5 - 1/5$ ساعت متغیر بود. این مدت با تعداد کروموزومها تقریباً رابطه داشت به طوری که هر چه تعداد کروموزوم بیشتر شد این مدت نیز افزایش یافت. حالت ایده‌آل رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با استواورسین زمانی حاصل گردید که نمونه‌ها به مدت ۱۱ دقیقه در دمای 60°C درجه بن‌ماری و یا $25^{\circ} - 20^{\circ}\text{C}$ درجه در دمای $35^{\circ} - 30^{\circ}\text{C}$ درجه آون و یا اینکه نمونه‌ها داخل شیشه ساعت به مدت $10 - 6$ دقیقه تحت حرارات چراغ الکلی قرار گرفتند. در این بررسی پارامترهایی از قبیل طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، $\frac{L}{S}$ و $\frac{D.R.L}{TF} \%$ و مقدار کروماتین نسبی محاسبه گردیدند. همچنین سطوح پلوئیدی گونه‌ها مشخص و ایدیوگرام آنها ترسیم گردید. براساس جدول لوان (Levan ۱۹۶۴) محل سانترومر و تقارن کاریوتیپ مورد بررسی قرار گرفت.

براساس نتایج حاصل از مطالعات سیتوژنتیکی، گونه‌های مورد مطالعه از نظر تعداد کروموزوم در چهار گروه قرار می‌گیرند.

- $S. crassa$, $S. nitraria$ - ۱ ($2n = 18$) شامل چهار گونه گروه شماره - ۱
- $S. incanescens$, $S. dendroides$
- $S. kali$, $S. tomentosa$ - ۲ ($2n = 36$) شامل دو گونه گروه شماره - ۲
- $S. richteri$ - ۳ ($2n = 54$) شامل گونه گروه شماره - ۳
- $S. rigida$ - ۴ ($2n = 72$) شامل گونه گروه شماره - ۴
- گونه‌های $S. crassa$, $S. nitraria$, $S. incanescens$, $S. dendroides$ دیپلوئید و $S. richteri$ هگزاپلوئید و $S. kali$, $S. tomentosa$ اکتاپلوئید

1- Difference of Range of Relative Length

2- Idiogram

بوده و پایه کروموزومی آنها ۹ می‌باشد. کلیه پارامترهای محاسبه شده و نتایج حاصله به تفکیک گونه‌ها عبارت است از:

گونه *S. richteri*: گونه‌ای است هگزاپلوئید با $2n = 54$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $27m$ می‌باشد (شکلهای شماره ۱و۲).

طول کل کروموزومهای این گونه $105/12$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $58/92$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $46/62$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $2/42$ میکرومتر و کوتاهترین $1/45$ میکرومتر طول دارد.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. tomentosa*: گونه‌ای است تترابلولوئید با $2n = 4x = 36$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $18m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکلهای شماره ۳ و ۴).

طول کل کروموزومهای این گونه $112/96$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $67/24$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $45/72$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $3/64$ میکرومتر و کوتاهترین $2/57$ میکرومتر طول دارد.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. kali*: گونه‌ای است تترابلولوئید با $2n = 4x = 36$ و عدد پایه $x = 9$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $18m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکلهای شماره ۵ و ۶).

طول کل کروموزومهای این گونه $78/08$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $43/92$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $34/16$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $2/71$ میکرومتر و کوتاهترین $1/77$ میکرومتر طول دارند.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. dendroides*: گونه‌ای است دیپلوئید با $2n=2x=18$ و عدد پایه $x=9$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $7m+2sm$ می‌باشد. بنابراین $77/7$ درصد از کروموزومها متاسانتریک و $22/3$ درصد ساب متاسانتریک می‌باشند. (شکلهای شماره ۷ و ۸).

طول کل کروموزومهای این گونه $50/5$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $30/38$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $20/12$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $3/23$ میکرومتر و کوتاهترین $2/24$ میکرومتر طول دارند.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. incanescens*: گونه‌ای است دیپلوئید با $2n=2x=18$ و عدد پایه $x=9$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $9m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکلهای شماره ۹ و ۱۰).

طول کل کروموزومهای این گونه $44/16$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $25/24$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $18/92$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $2/86$ میکرومتر و کوتاهترین $2/13$ میکرومتر طول دارند.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. nitraria*: گونه‌ای است دیپلولوئید با $2n=2x=18$ و عدد پایه $x=9$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $9m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکل‌های شماره ۱۱ و ۱۲).

طول کل کروموزومهای این گونه $41/1$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $24/02$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $16/08$ میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $2/64$ میکرومتر و کوتاهترین $1/84$ میکرومتر طول دارند.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. crassa*: گونه‌ای است دیپلولوئید با $2n=2x=18$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $9m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکل‌های شماره ۱۳ و ۱۴).

طول کل کروموزومهای این گونه $36/9$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $20/9$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه 16 میکرومتر است. بلندترین کروموزوم $1/68$ میکرومتر و کوتاهترین $1/68$ میکرومتر طول دارند.

سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

گونه *S. rigida*: گونه‌ای است اکتاپلونید با $2n=4x=72$ که فرمول کاریوتیپی آن به صورت $36m$ می‌باشد. بنابراین همه کروموزومها متاسانتریک هستند (شکل‌های شماره ۱۵ و ۱۶).

طول کل کروموزومهای این گونه $213/76$ میکرومتر می‌باشد که طول کل بازوی بلند $121/44$ میکرومتر و طول کل بازوی کوتاه $92/06$ میکرومتر است. بلندترین

کروموزوم ۳/۷۲ میکرومتر و کوتاهترین ۲/۳۴ میکرومتر طول دارند. سایر خصوصیات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد TF، D.R.L در جدول شماره ۴ آمده است.

بحث

نتایج تجزیه کاریوتیپی ۴ گونه ۱۸ کروموزومی نشان می‌دهد که بیشترین مقدار طول کل، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه به ترتیب $۵۰/۵$ ، $۳۰/۳۸$ ، $۲۰/۱۲$ مربوط به گونه *S. dendroides* و کمترین مقدار طول کل، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه به ترتیب $۳۶/۹$ ، $۲۰/۹$ ، ۱۶ متعلق به گونه *S. crassa* می‌باشد. (جدول شماره ۴). مقایسه درصد TF در گونه‌های ۱۸ کروموزومی که با استفاده از آزمون کای اسکوائر (X²) انجام شد نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بین گونه‌ها وجود ندارد (جدول شماره ۵). بنابراین کاریوتیپهای گونه‌های مورد نظر نزدیک به هم می‌باشند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین محترم دفتر طرح و برنامه‌ریزی و هماهنگی امور پژوهشی سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی و مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراعع که امکانات اجرای طرح تحقیقاتی حاضر را فراهم کردند و همچنین اساتید محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراعع که در تمام مراحل اجرای طرح با نظارت و ارائه رهنمودهای لازم در انجام بهینه طرح مساعدت داشته‌اند تشکر می‌شود. از آقای مهندس محمد کاظمی ریاست محترم مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان سمنان و همچنین از مهندس سید حسن موسوی و مهندس غلامرضا مرادی و مهندس عباس بابایی که در انجام عملیات آزمایشگاهی و صحرایی همکاری داشته‌اند تشکر می‌شود.

جدول شماره ۱- بهترین ساعت نمونه‌گیری و مدت پیش تیمار ۸-هیدروکسی کینولین در گونه‌های مورد بررسی جنس *Salsola*

نام علمی گونه	بهترین ساعت نمونه‌گیری	مدت زمان (ساعت)
<i>S. dendroides</i>	۸-۸/۱۵	۳-۳/۲۰
<i>S. incanescens</i>	۷/۴۵-۸	۳/۳۰-۳/۴۰
<i>S. nitraria</i>	۸/۲۰-۸/۳۵	۱/۵-۲
<i>S. crassa</i>	۷/۳۰-۷/۳۵	۳-۳/۱۵
<i>S. tomentosa</i>	۷/۲۰-۷/۳۵	۳/۴۰-۴
<i>S. richteri</i>	۸-۸/۱۵	۴-۴/۲۰
<i>S. rigida</i>	۷/۰۰-۸/۱۰	۴/۴۵-۵
<i>S. kali</i>	۷/۳۰-۹/۱۵	۳/۱۰-۳/۲۰

جدول شماره ۲- تعیین بهترین مدت زمان ثبیت فارمر برای گونه‌های مورد بررسی
مدت زمانی که نمونه‌ها در فارمر قرار می‌گیرند

نام علمی گونه	مدت زمانی که نمونه‌ها در فارمر قرار می‌گیرند
<i>S. dendroides</i>	۲۴ ساعت
<i>S. incanescens</i>	۱۶ ساعت
<i>S. nitraria</i>	۱ ساعت
<i>S. crassa</i>	۱ ساعت
<i>S. tomentosa</i>	۱۸ ساعت
<i>S. richteri</i>	۱ ساعت
<i>S. rigida</i>	۱ ساعت و ۱۶ ساعت
<i>S. kali</i>	۱۶ ساعت

جدول شماره ۳- مدت هیدرولیز در گونه‌های مورد بررسی

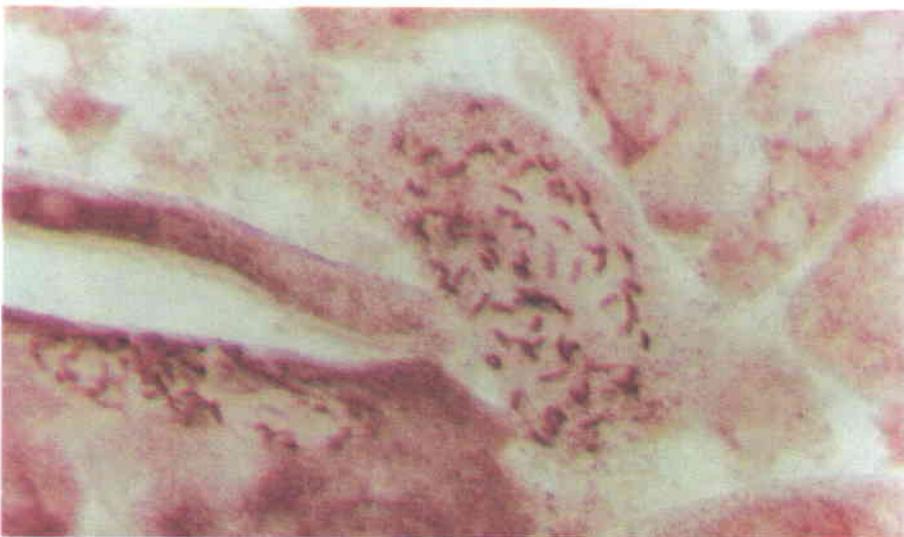
نام علمی گونه	مدت زمان هیدرولیز
<i>S. dendroides</i>	۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. incanescens</i>	۸ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. nitraria</i>	۱۲ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. crassa</i>	۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. tomentosa</i>	۶-۸ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. richteri</i>	۱۰-۱۲ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. rigida</i>	۱۲-۱۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد
<i>S. kali</i>	۱۰-۸ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد

جدول شماره ۸- نتایج تعزیزیه کاربروئیپ گونه‌های مختلف جنس سالسولا

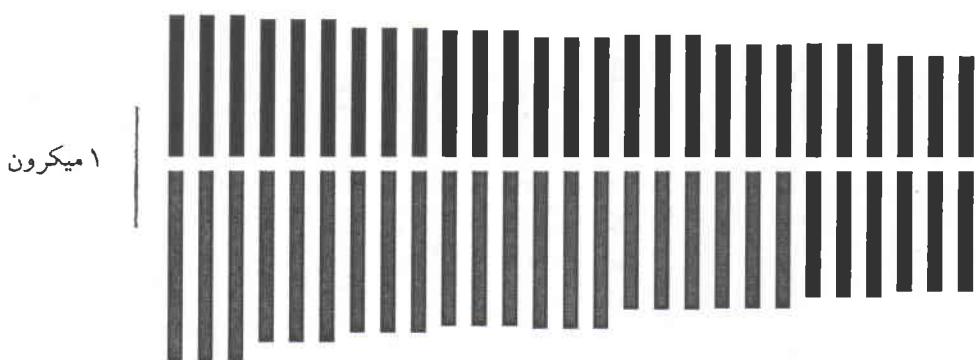
جدول شماره ۵- مقایسه گونه‌های مورد بررسی از حیث میزان کروماتین نسبی
با استفاده از آزمون χ^2

گونه‌های مورد بررسی	درصد TF	مقدار کروماتین نسبی
گونه‌های با $2n = 18$	۰/۲ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}
گونه‌های با $2n = 36$	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}

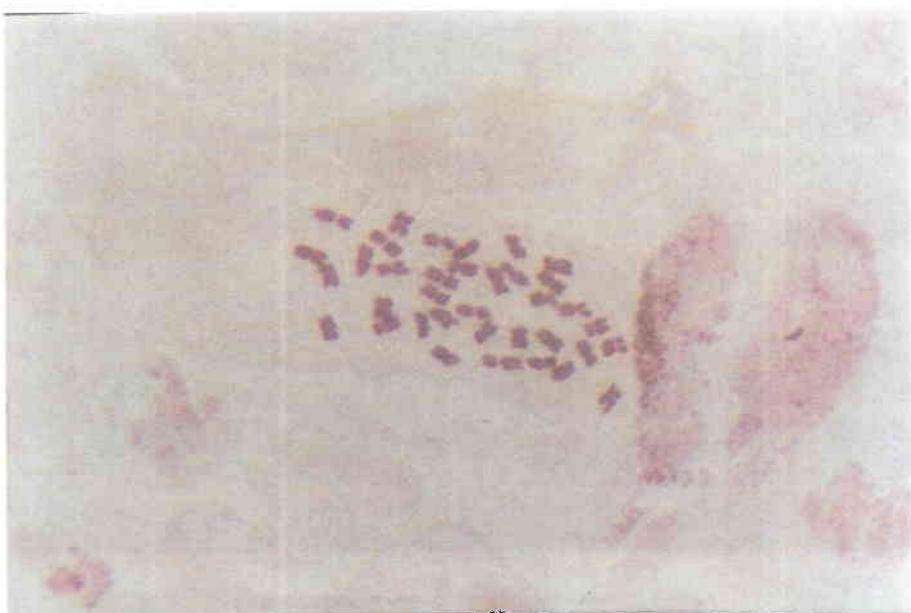
.ns: اختلاف معنی دار ندارند.



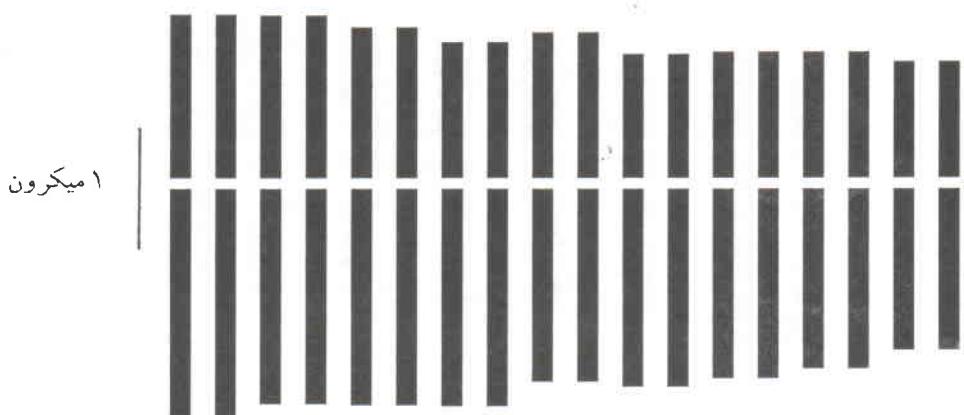
شکل شماره ۱- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola richteri*



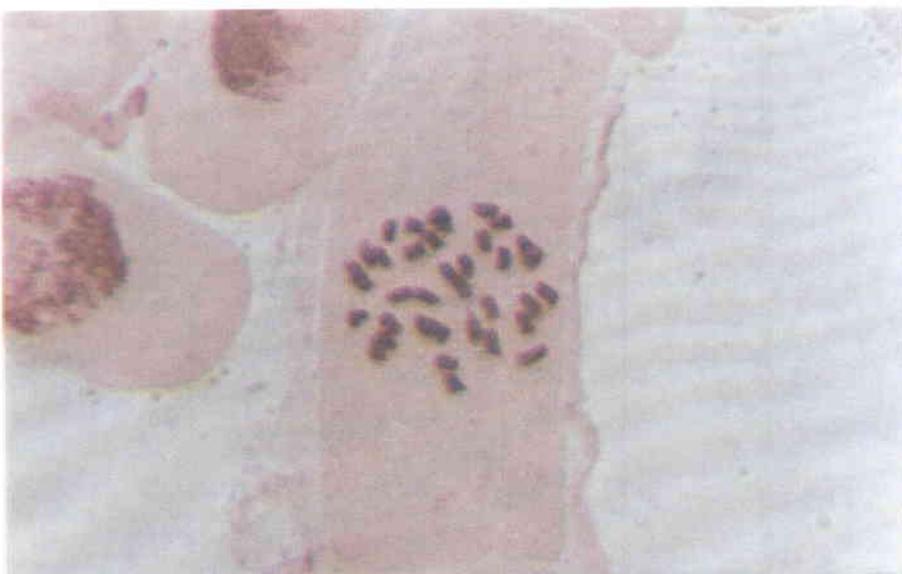
شکل شماره ۲- ایدیوگرام گونه *Salsola richteri*



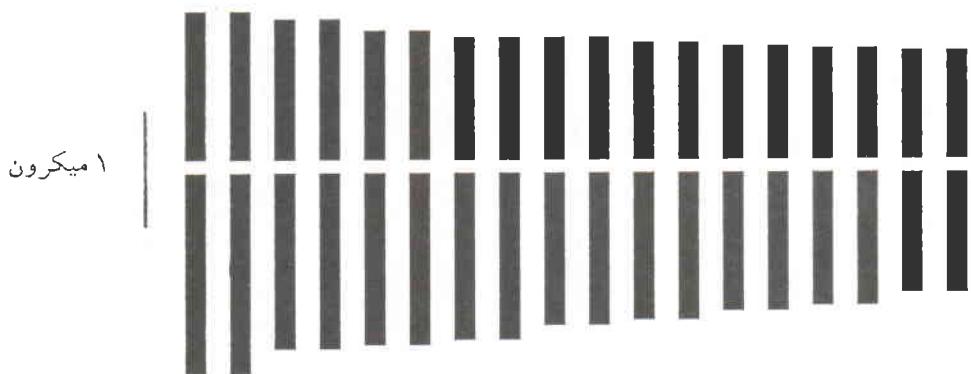
شکل شماره ۳- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola tomentosa*



شکل شماره ۴- ایدیوگرام گونه *Salsola tomentosa*



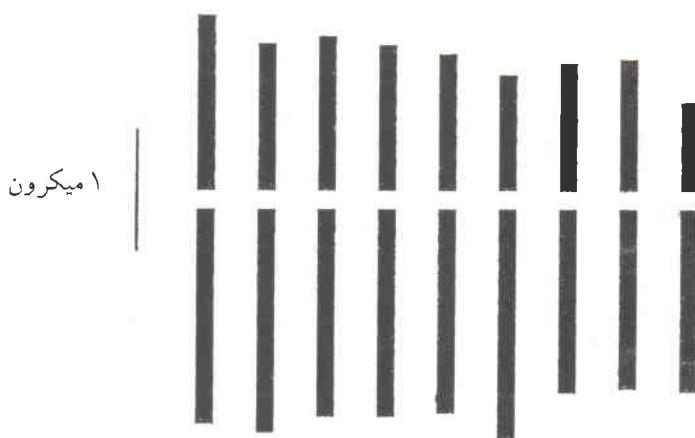
شکل شماره ۵- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola kali*



شکل شماره ۶- ایدیوگرام گونه *Salsola kali*



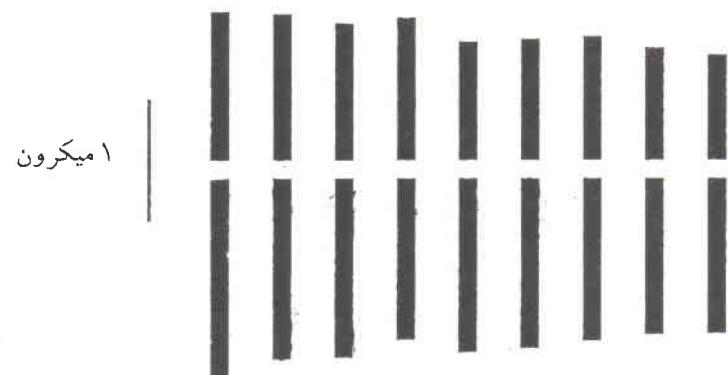
شکل شماره ۷- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola dendroides*



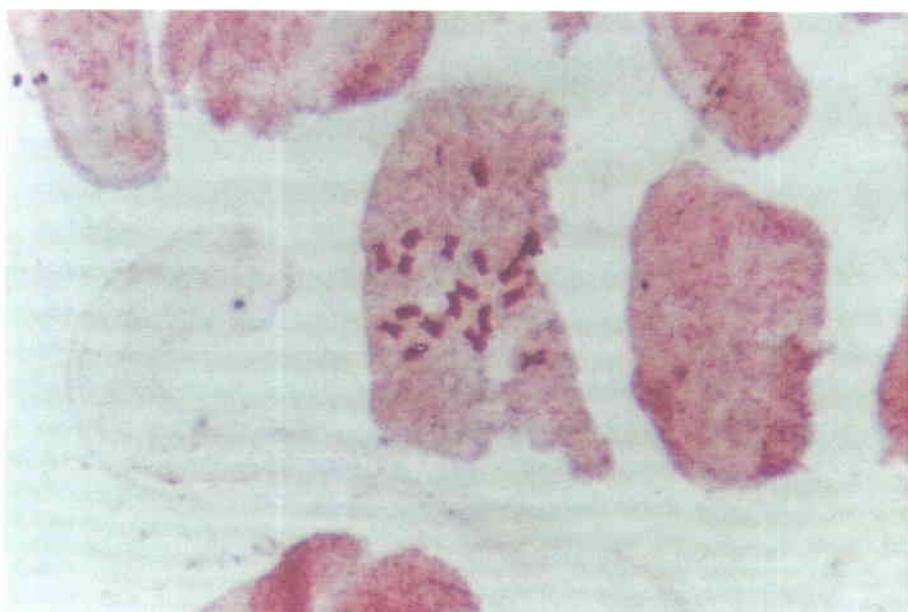
شکل شماره ۸- ایدیوگرام گونه *Salsola dendroides*



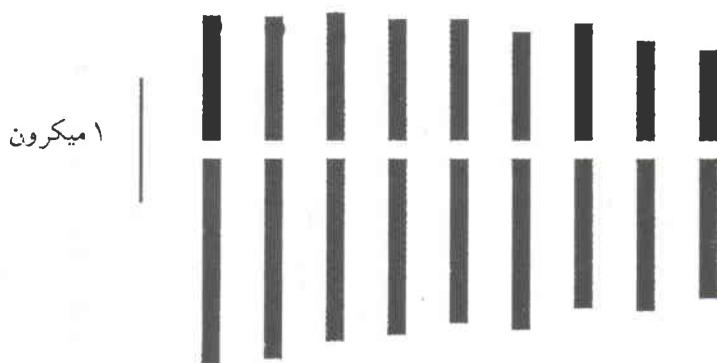
شکل شماره ۹ - کروموزومهای متافازی گونه *Salsola incanescens*



شکل شماره ۱۰ - ایدیوگرام گونه *Salsola incanescens*



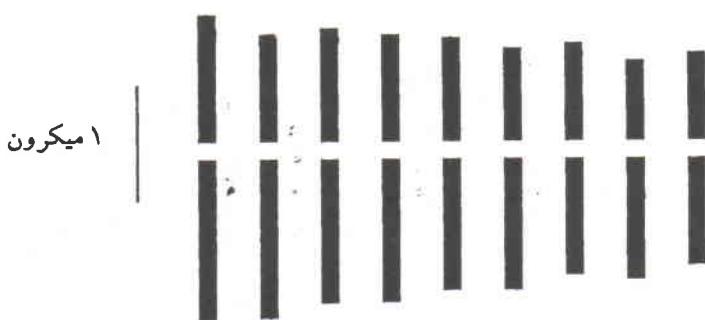
شکل شماره ۱۱- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola nitraria*



شکل شماره ۱۲- ایدیوگرام گونه *Salsola nitraria*



شکل شماره ۱۳- کروموزومهای متافازی گونه *Salsola crassa*

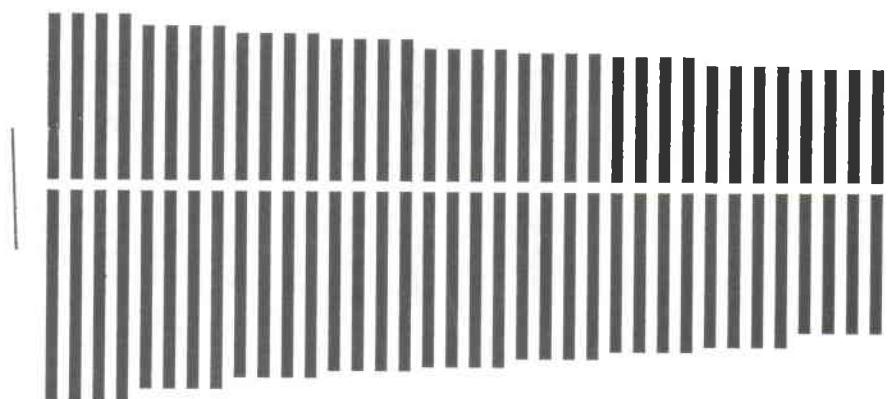


شکل شماره ۱۴- ایدیوگرام گونه *Salsola crassa*



شکل شماره ۱۵ - متافاز گونه *Salsola rigida*

۱ میکرون



شکل شماره ۱۶ - ایدیوگرام گونه *Salsola rigida*

منابع

- ۱- سالار، ن.، ۱۳۷۴ بررسی اکولوژیکی سالسولا در مراتع استان سمنان. وزارت جهاد سازندگی، معاونت آموزش و تحقیقات، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان سمنان.
- ۲- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات مؤسسه فرهنگی معاصر.
- 3- Levan, A., Fredga, K. and Venkateswara, R., 1984. Karyological and morphological investigations on some inbred strains of *Trigonella Genetica-Iberica*, 36:187-200.

