

Hasil Ploidisasi Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Produksi Biomass (Ploidization of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.) on Forage Biomass Production)

Zulchi T¹, Husni A¹, Fransiska²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian
Jl. Tentara Pelajar 3 A Bogor

²Alumni Prodi Biologi Universitas Negeri Jakarta
tryzulchi@yahoo.co.id

ABSTRACT

Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) belongs to legumes (Fabaceae family) and pod-shaped, and multifunction as natural dyes, ornamental plants, medicinal plants, forage fertilizers, and animal feed. This activity aimed to determine the advance ploidization of butterfly pea on forage biomass production. This activity was carried out at the greenhouse of Cikeumeuh, ICABIOGRAD Bogor, from October 2019 until February 2020. The material genetics as butterfly pea ratoon have had growth and development good. This study used a simple complete randomized design with three replications and then data was analyzed statistically. The results showed that accession of butterfly pea consisted of each ninth accession of blue petal and white petal. In the flower type, all of butterfly pea accessions have a single petal type. Then fresh and dry weights of blue petal colour, accession of numbers 1 (24 hours colchicine immersion), and 5 (72 hours oryzalin immersion) had a higher weight than a control plant. At the fresh and dry weight of plants at white petal colour, all accession butterfly pea had a higher weight than the control plant except accession number of 3 and 4. The weight seed of butterfly pea were highest achieved by 6 and 7 accession of blue petals, which were 2, 3, 6, 7, and 8 accession white petals.

Key words: Dry weight, peanut, butterfly pea, colchine, petal

ABSTRAK

Kembang telang (*Clitoria ternatea* L.) atau *butterfly pea* termasuk suku polong-polongan (Fabaceae) dengan buah berbentuk polong, dan berfungsi ganda baik sebagai pewarna alami, tanaman hias, tanaman obat, pupuk hijau, dan pakan ternak. Kembang telang sebagai salah satu tanaman hijau pakan dan melengkapi nutrisi bagi pakan ternak sehingga tanaman ini dapat dikembangkan melalui program pemuliaan tanaman hijau pakan ternak. Kegiatan ini bertujuan untuk mengetahui hasil ploidisasi kembang telang terhadap produksi biomas. Kegiatan ini dilakukan di rumah kaca Cikeumeuh, BB Biogen Bogor, dari bulan Oktober 2019 hingga Februari tahun 2020. Bahan tanam berasal dari seleksi *ratoon* aksesori kembang telang yang tumbuh dan

berkembang. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap sederhana dengan 3 ulangan dan data dilakukan analisis statistik. Hasil pengamatan menunjukkan aksesori kembang telang terdiri dari 9 aksesori mahkota bunga warna biru dan 9 aksesori warna putih dengan tipe mahkota bunga tunggal. Pada bobot brangkasan segar dan kering, pada bunga warna biru dengan aksesori nomor 1 (perendaman kolkisin 24 jam) dan 5 (perendaman oryzalin 72 jam) mempunyai bobot yang besar dibandingkan dengan tanaman kontrol. Demikian juga bobot brangkasan segar dan kering dari kembang telang mahkota bunga warna putih mempunyai bobot lebih besar dibanding kontrol kecuali aksesori nomor 3 dan 4 (perendaman oryzalin 24-48 jam). Pada hasil bobot biji tertinggi dicapai oleh aksesori nomor 6 dan 7 dari kembang telang mahkota biru, sedangkan pada kembang telang mahkota putih terdapat pada aksesori 2, 3, 6, 7, dan 8.

Kata kunci: Bobot brangkasan, kacang, kembang telang, kolkisin, mahkota bunga

PENDAHULUAN

Secara alami kembang telang dikenal tumbuh sebagai tanaman semak (herba), dengan nama butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.), mudah ditemukan pada tempat-tempat terbuka, dan sifat merambat (Sutedi 2013). Tanaman ini juga berfungsi pewarna alami (Zussiva et al. 2012), tanaman hias (Mohamed & Rosna 2011), tanaman obat (Kazuma et al. 2003; Kusriani et al. 2017), tanaman penutup tanah, pupuk hijau, dan tanaman obat (Gomez & Kalamani 2003; Suarna 2005). Namun tanaman ini masih termasuk dalam kelompok *underutilized crop* (kurang dimanfaatkan) (Ulimaz et al. 2019).

Kembang telang termasuk ke dalam suku polong-polongan (Fabaceae) dan mudah dikenali dengan bentuk buahnya yang berbentuk polong (Kazuma et al. 2003; Danarto 2013). Tanaman ini merupakan tanaman asli Afrika dan India (ILDIS 2016), dan telah menyebar di Asia Tengah, Australia, Amerika Selatan, dan Asia Tenggara (Indonesia, Thailand, Malaysia, dan Filipina) (CABI 2018). Kembang telang memiliki keragaman karakter cukup tinggi (Karuniawan et al. 2010). Potensi kembang telang memiliki banyak manfaat, kadar protein cukup tinggi (protein-rich), lemak kasar, serat kasar, dan daya cerna yang baik, serta dapat diberikan bentuk hijauan atau jerami (*hay*) (Gomez & Kalamani 2003; Sutedi 2013). Pada kondisi kering, telang mampu tumbuh baik meskipun adanya perubahan kondisi lahan dan klimatologi (Suarna 2005) mencapai waktu 110-150 hari dalam pembentukan biji tersebut (Sutedi 2013).

Tanaman pakan ternak berupa legum dan kombinasi dengan rumput telah memberikan nilai positif dalam memenuhi kebutuhan pakan ternak. *Clitoria ternatea* lokal Bali mampu menghasilkan berat kering 34 g per pot dan konsisten hasilnya (Suarna 2005). Bahkan kembang telang telah dijadikan pakan ternak substitusi rumput dan disukai ternak (Nulik 2009). Kembang telang mempunyai morfologi daun-daun kecil, bentuk berpasangan 2-4 pasang (Budiasih 2017), dan memiliki produksi bahan kering sekitar 4-6 t/ha atau 8-12 t/ha/tahun (Nulik 2009), dengan

umur 42 hari, berat kering produksi hijauan mencapai 2,5-3,5 t/ha, dan produksi biji 2,7 t/ha (Sutedi 2013). Di Zambia, berat kering tanaman dapat mencapai 3,3 t/ha dan di lahan irigasi normal mencapai 13,5 t/ha/thn (Suarna 2005).

Dalam upaya mendukung produksi dan produktivitas tanaman dengan melakukan salah satu kegiatan, yaitu perakitan varietas unggul. Proses perakitan yang dapat dilakukan dengan upaya penggandaan kromosom tanaman (Doyle et al. 1990). Tanaman dengan kromosom ganda akan memiliki bentuk organ yang besar, lebih kokoh, dan kuat, serta adanya peningkatan kadar protein tanaman tersebut. Penggunaan kolkisin dapat diberikan pada titik tumbuh, kalus, embrio, atau kecambah tanaman. Hal ini berakibat tanaman memiliki jumlah kromosom yang lebih banyak, sehingga ukuran sel dan inti sel bertambah besar (Haryanti et al. 2009). Sifat umum dari tanaman poliploid mempunyai ukuran dan berat yang lebih besar baik pada organ akar, batang, daun, bunga, maupun buah (Escadon et al. 2006), dan dapat meningkatkan hasil panen (Alam et al. 2011). Larutan kolkisin efektif pada konsentrasi 0,001-1,0% dengan lama perlakuan 3-24 jam, benih aneka kacang dan jagung dengan konsentrasi 0,2% dengan waktu perendaman 24-96 jam. Akar bawang putih poliploid menggunakan kolkisin 0,01% dan lama perendaman 6 jam. Pada benih jagung manis, konsentrasi 0,25% dan perendaman selama 6 jam telah menginduksi menjadi tetraploid. Larutan kolkisin 0,02% dan lama perendaman 2 jam, atau konsentrasi 0,04% dengan lama perlakuan 1 jam telah menginduksi poliploid pada stevia (Haryanti et al. 2009).

Dengan potensi keunggulan kembang telang ini membuka peluang baru dalam program pemuliaan tanaman hijauan pakan ternak. Dengan pertimbangan tersebut, kegiatan awal melalui karakterisasi agronomi dari koleksi plasma nutfah kembang telang merupakan langkah awal yang sangat relevan untuk dilakukan dalam rangka menentukan aksesori kembang telang berikutnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hasil ploidisasi kembang telang terhadap produksi biomasa hijauan.

MATERI DAN METODE

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di rumah kaca Cikeumeuh, BB Biogen Bogor dan dimulai dari bulan Oktober 2019 hingga Februari 2020. Asal bahan tanam berasal dari hasil ratoon dari pertumbuhan telang lokal NTT yang telah diinduksi mutagen kimia. Kecambah telang dilakukan perlakuan induksi mutagen kimia, yaitu kolkisin 0,5 mM atau oryzalin 12 uM dengan waktu perendaman 24 sampai 144 jam. Lama perendaman kolkisin lebih dari 72 jam tidak mampu menumbuhkan kembang telang, sedangkan perendaman oryzalin hingga 144 jam tanaman masih tumbuh dan berkembang. Tanaman control, yaitu tanaman yang tanpa diinduksi mutagen kimia. Kemudian seleksi bahan tanam yang berasal dari aksesori kembang telang yang bertahan hidup dan berkembang. Hasil seleksi tanaman dapat dikumpulkan sebanyak 18 aksesori telang, yang terdiri dari mahkota bunga warna biru sebanyak 9 aksesori dan warna putih 9 aksesori. Rancangan penelitian ini

menggunakan rancangan acak lengkap sederhana dengan perlakuan lama rendaman mutagen yang diulang 3 ulangan dan selanjutnya data pengamatan dilakukan analisis statistik.

Tiap aksesi kembang telang yang hidup ditanam dalam ember kapasitas 10 kg tiap nomor aksesi. Selanjutnya masing-masing tanaman diberikan pupuk kandang 0,5 kg, sedangkan pupuk anorganik dengan dosis 5 g urea, 3 g TSP, dan 3 g KCl diberikan saat tanam. Kemudian kembang telang dan aksesi nya dipelihara dengan 1 tanaman per ember dan diberi tegakan bambu (ajir), hingga panen polong dan biji. Selama pertumbuhan, kembang telang dan regenerasi diamati karakter warna mahkota bunga, tipe bunga, sedangkan akhir panen diamati tinggi tanaman, jumlah cabang, bobot brangkasan segar dan kering, serta bobot biji per tanaman, dan selanjutnya data pengamatan dilakukan analisa statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aksesi kembang telang dan kultivar lokal NTT sebagai kontrol mempunyai pertumbuhan seperti semak dan menjalar, daun kecil-kecil serta bentuk bunga seperti kupu-kupu. Pertumbuhan tanaman mempunyai keragaman morfologi tanaman yang cukup terhadap tinggi tanaman namun jumlah cabang mengalami penurunan dibandingkan tanaman kontrol (Tabel 1). Pada bobot brangkasan segar dan kering dan bobot biji mempunyai hasil bervariasi (Gambar 1, 2, dan 3). Pada pengamatan warna mahkota bunga dan tipe bunga mempunyai karakter yang relatif seragam. Untuk karakter warna mahkota bunga telah mengelompok dalam warna mahkota bunga biru dan putih, sedangkan tipe bunga termasuk tipe mahkota tunggal. Aksesi kembang telang yang ada terdiri atas 9 aksesi mahkota bunga warna biru dan 9 aksesi warna putih, dengan tipe mahkota bunga tunggal (Tabel 1).

Aksesi kembang telang yang ada merupakan hasil viabilitas individu tanaman yang dikelompokkan dalam satu nomor aksesi sesuai dengan jenis dan waktu perendaman dari mutagen kimia. Penggunaan mutagen kolkisin dan oryzalin merupakan agen pengganda kromosom namun terdapat perbedaan pengaruhnya, yang mana mutagen kolkisin berpengaruh terhadap viabilitas tanaman dibandingkan oryzalin. Pemberian mutagen pada tanaman dapat meningkat atau menghambat pertumbuhan dan hal ini dipengaruhi oleh bahan dan jenis tanaman (Haryanti et al. 2009). Dengan konsentrasi larutan, lama rendaman, pH, dan organ adventitious yang tepat dapat membuat terjadinya penggandaan kromosom (Gardner et al. 1991).

Hasil pengamatan menunjukkan aksesi kembang telang memiliki tinggi tanaman, bobot brangkasan segar dan kering, serta bobot biji yang beragam, sedangkan jumlah cabang mengalami penurunan. Pada mahkota bunga warna biru, aksesi nomor 1 (perendaman kolkisin 24 jam) dan aksesi nomor 5 (perendaman oryzalin 72 jam) mempunyai bobot brangkasan segar lebih besar dibandingkan

tanaman kontrol dengan peningkatan bobot 5 dan 8%, sedangkan nomor 2 (perendaman kolkisin 48 jam), nomor 3, 4, 6, 7, dan 8 (perendaman oryzalin 24, 48, 96, 130, dan 144 jam) terjadi penurunan bobot brangkasan segar. Demikian juga bobot brangkasan kering, aksesori nomor 1 dan nomor 5 mempunyai bobot yang lebih tinggi dengan peningkatan bobot kering masing-masing sebesar 2 dan 5% dibandingkan tanaman kontrol (Gambar 1).

Tabel 1. Karakter warna mahkota bunga, tinggi tanaman, dan jumlah cabang aksesori kembang telang di rumah kaca Cikeumeuh Bogor

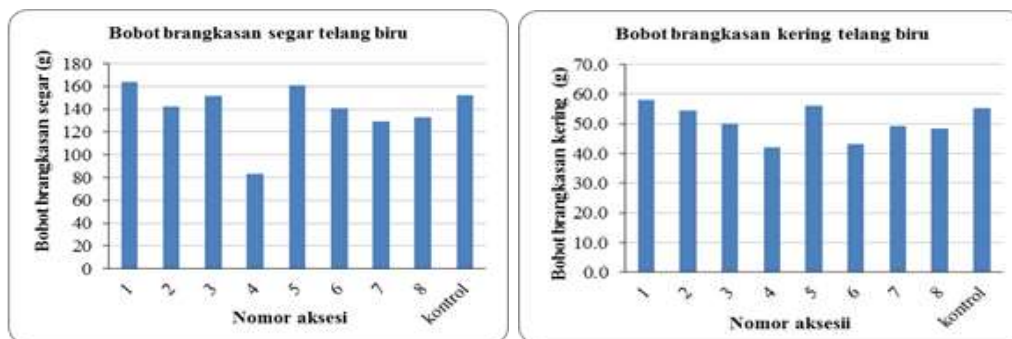
Nama aksesori	Perlakuan mutagen kimia	Karakter		
		Warna mahkota bunga	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah cabang
Aksesori 1	K 24 jam	Biru	109,6	18,3
Aksesori 2	K 48 jam	Biru	80	6,9
Aksesori 3	O 24 jam	Biru	121,60	16,6
Aksesori 4	O 48 jam	Biru	124,70	17,0
Aksesori 5	O 72 jam	Biru	142,40	23,0
Aksesori 6	O 96 jam	Biru	104,90	16,9
Aksesori 7	O 130 jam	Biru	99,04	16,0
Aksesori 8	O 144 jam	Biru	123,04	19,9
Kontrol	Tanpa induksi	Biru	116,80	25,7
Aksesori 1	K 24 jam	Putih	104,40	12,0
Aksesori 2	K 48 jam	Putih	103,40	17,8
Aksesori 3	O 24 jam	Putih	102,06	19,0
Aksesori 4	O 48 jam	Putih	119,66	20,0
Aksesori 5	O 72 jam	Putih	116,50	19,5
Aksesori 6	O 96 jam	Putih	109,96	13,4
Aksesori 7	O 130 jam	Putih	96,46	14,4
Aksesori 8	O 144 jam	Putih	111,43	17,7
Kontrol	Tanpa induksi	Putih	118,24	19,8

K = Kolkisin , O = Oryzalin, Lama perendaman mutagen kimia = 24, 48, 72, 96, 130, 144 jam

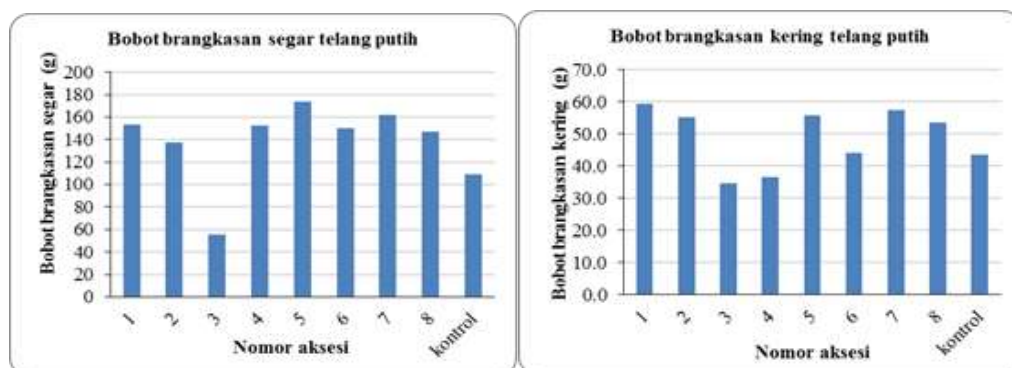
Pada Gambar 2 terlihat mahkota bunga warna putih dengan semua aksesori telang (perendaman kolkisin dan oryzalin 24-144 jam) telah memiliki bobot brangkasan segar lebih besar dengan peningkatan bobot sekitar 40% (no. 1) dan 59%

(no. 5) dibandingkan dengan tanaman kontrol, kecuali aksesori nomor 3 (perendaman oryzalin 24 jam). Pada bobot brangkasan kering, semua aksesori kembang telang (perendaman kolkisin dan oryzalin 24-144 jam) telah memiliki peningkatan bobot daripada tanaman kontrol kecuali aksesori nomor 3 dan 4 (perendaman oryzalin 24-48 jam). Peningkatan bobot brangkasan kering ini sebesar 36% (no. 1) dan 27% (no. 5) dibandingkan dengan tanaman kontrol.

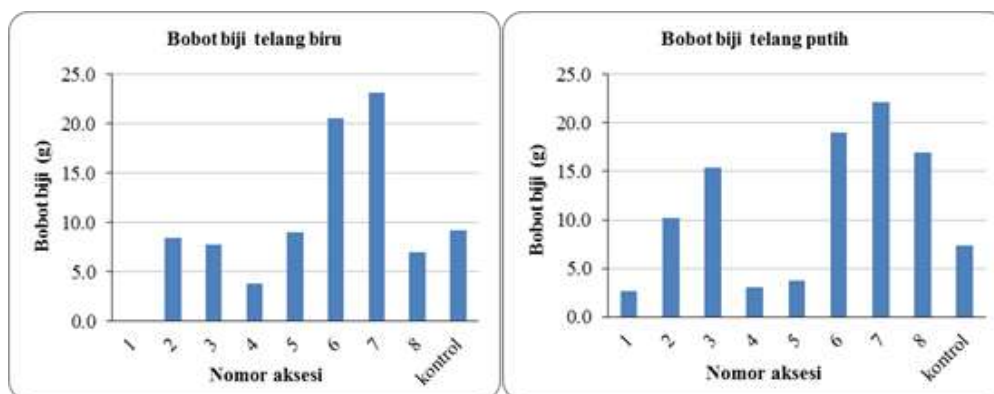
Pada Gambar 3 terlihat pada bobot biji kembang telang warna biru pada aksesori nomor 6 dan 7 (oryzalin perendaman 96 dan 130 jam) memperoleh hasil biji tertinggi dibandingkan tanaman kontrol. Sedangkan pada mahkota warna putih, aksesori nomor 2 (kolkisin dengan perendaman 48 jam), dan nomor 6, 7, dan 8 (oryzalin perendaman 96, 130, dan 144 jam) memiliki bobot biji yang tinggi dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3). Perendaman kolkisin (aksesori 2, 3) terjadi peningkatan bobot biji sebesar 1,5-2 kali dari tanaman kontrol, sedangkan perendaman oryzalin (aksesori 6, 7, dan 8) terjadi peningkatan mencapai 2,5-3 kali dibandingkan dengan tanaman kontrol.



Gambar 1. Grafik rata-rata bobot brangkasan segar dan kering terhadap aksesori telang biru



Gambar 2. Grafik rata-rata bobot brangkasan segar dan kering terhadap aksesori telang putih



Gambar 3. Grafik rata-rata bobot biji berbagai aksesii telang dengan mahkota bunga warna biru dan putih

Setiap tanaman mempunyai nilai ambang batas optimum terhadap pemberian mutagen kimia, sehingga tanaman memiliki bentuk yang normal atau lemah bertahan hidup (Escadon et al. 2006). Saat keadaan tanaman normal, tanaman mengalami pembelahan dan pembentukan sel yang sangat cepat, sehingga pertumbuhan dan perkembangan akan mempengaruhi bobot brangkasan tanaman. Masing-masing aksesii telah menunjukkan seleksi yang responsif. Morfologi dan viabilitas tanaman yang mampu bertahan hidup menunjukkan terjadinya pertumbuhan dan perkembangan sel-sel jaringan tanaman. Mutasi terjadi pada bagian (sel) yang sedang aktif mengadakan pembelahan sel (Escadon et al. 2006).

Induksi poliploid dimanfaatkan oleh para pemuliaan tanaman karena telah dapat meningkatkan hasil panen (Alam et al. 2011). Bahkan penampilan tanaman terlihat lebih kuat, dan ukuran lebih besar pada organ-organ tanaman (Escadon et al. 2006), maupun bentuk tanaman secara keseluruhan yang lebih besar (Haryanti et al. 2009). Akibat kromosom yang telah mengganda selama interfase gagal memisah pada anaphase, sehingga sebuah membrane inti terbentuk dengan mengelilingi dua sel kromosom diploid untuk menghasilkan dua sel kromosom, tiga sel kromosom (triploid) atau empat sel kromosom (tetraploid) (Gardner et al. 1991). Kromosom yang telah mengganda akibat gagal berpisah pada anaphase, sehingga rusaknya formasi mikrotubula penyusun benang-benang spindle oleh kolkisin. Dengan pembelahan sel terhambat dan interfase kromosom gagal memisahkan diri mengakibatkan membentuk sel yang mengganda.

KESIMPULAN

Dari 18 aksesii telang diperoleh 9 aksesii mahkota bunga warna biru dan 9 aksesii warna putih dengan bentuk mahkota tunggal. Pada bobot brangkasan segar maupun kering, kembang telang mahkota warna biru, dengan aksesii nomor 1 (perendaman kolkisin 24 jam) dan aksesii nomor 5 (perendaman oryzalin 72 jam) yang tinggi dibanding tanaman kontrol. Pada bobot brangkasan segar dan kering

pada kembang telang mahkota warna putih mempunyai bobot lebih tinggi dibanding kontrol keculi aksesori nomor 3 (perendaman oryzalin 24 jam). Hasil bobot biji tertinggi dicapai oleh aksesori nomor 6 dan 7 dari kembang telang mahkota biru, sedangkan aksesori 2, 3, 6, 7, dan 8 dari kembang telang mahkota putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam MM, Karim MK, Aziz MA, Hossain MM, Ahmed B, Mandal A. 2011. Induction and evaluation of polyploidy in some local potato varieties of Bangladesh. *J Biodivers. Environ. Sci.* 1: 16-21.
- Budiasih KS. 2017. Kajian potensi farmakologis bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Dalam: Sinergi penelitian dan pembelajaran untuk mendukung pengembangan literasi kimia pada era global. Prosiding Seminar Nasional Kimia. Yogyakarta (Indones). hal. 201-206.
- [CABI] Centre in Agricultural and Biological Institute. 2018. *Clitoria ternatea* L (Butterfly Pea). London (UK): Cabi Publishing.
- Danarto S. 2013. Keragaman dan potensi koleksi polong-polongan (Fabaceae) di Kebun Raya Purwodadi-LIPI. Proceeding Biology Education Conference / Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS. 10:1-9.
- Doyle JJ, Doyle JL, Brown AH, Grace JP. 1990. Multiple origins of polyploids in the *Glycine tabacina* complex inferred from chloroplast DNA polymorphism. *PNAS.* 87:714-717.
- Escadon AS, Hagiwara JC, Alderete LM. 2006. A new variety of *Bacopa monnieri* obtained by in vitro polyploidization. *Electron. J Biotechnol.* 9:181-186.
- Gardner EJ, Simmons MJ, Snustad DP. 1991. Principles of Genetics. Edisi ke-2. New York (US): John Wiley and Sons Inc.
- Gomez SM, Kalamani A. 2003. Butterfly Pea (*Clitoria ternatea*): A nutritive multipurpose forage legume for the tropics - an overview. *Pak. J Nutr.* 2: 374-379.
- Haryanti S, Hastuti RB, Setiari N, Banowo A. 2009. Pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan, ukuran sel metafase dan kandungan protein biji tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* (L) Wilczek). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi.* 10: 112-120.
- [ILDIS] International Legume Database and Information Service. 2016. Reading UK. School of plants Sciences. Universitas of Reading. [diakses 4 Juli 2020]. www.ildis.org.
- Karuniawan A, Ulimaz TA, Kusumiyati E, Yulia, Widiyanti F, Wijaksana N, Dudi, Suganda T. 2010. Early identification on the genetic diversity on Indonesia butterfly pea accession as colorant food based on morphological traits. Dalam: Wahyu Y, Wirnas D, Trikoesoemaningtyas, Ritonga AW, Marwiyah S. Sustainable Use of Genetic Resources for Quality and Productivity Improvement. Prosiding Peripi ke 17 International. Bogor. 2 Oktober 2017. Bogor (Indonesia): Peripi Indonesia Breeding Science Society. hlm. 78-83.

- Kazuma K, Noda N, Suzuki M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*. 64:1133-1139.
- Kusrini E, Dewi T, Ni'matul I. 2017. Uji aktivitas ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L) sebagai agen anti-katarak. *J Jamu Indones*. 2: 30-36.
- Mohamed N, Rosna MT. 2011. Plant regeneration of *Clitoria ternatea* L. from leaf explant cultured in vitro. *J Food Agric Environ*. 9:268-270.
- Nulik J. 2009. Kacang kupu *Clitoria ternatea* leguminosa herba alternatif untuk sistem usaha tani integrasi sapi dan jagung di Pulau Timor. *Wartazoa*. 19:43-51.
- Suarna IW. 2005. Kembang telang (*Clitoria ternatea*) tanaman pakan dan penutup tanah. Dalam: Subandriyo, Diwyanto K, Inounu I, Prawiradiputra BR, Setiadi B, Nurhayati, Priyanti A, penyunting. *Lokakarya Nasional Tanaman Pakan Ternak*. Bogor, 16 September 2005. Bogor (Indonesia): Puslitbang Peternakan. hlm. 95-98.
- Sutedi E. 2013. Potensi kembang telang (*Clitoria ternatea* L) sebagai tanaman pakan ternak. *Wartazoa*. 23:51-62.
- Ulimaz TA, Ustari DV, Aziza V, Suganda T, Concibido V, Levita J, Karuniawan A. 2019. Keragaman genetic bunga telang ((*Clitoria ternatea* L) asal Indonesia berdasarkan karakter bunga dan komponen hasil pada dua lahan berbeda. *J Agrobiogen*. 16:1-6.
- Zussiva AK, Bertha C, Sri B. 2012. Ekstraksi dan analisis zat warna biru (antosianin) dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L) sebagai pewarna alami. *J Teknol. Kimia dan Indust*. 1:356-365.