

تنوع مورفولوژیکی و فنولوژیکی و ترکیب شیمیایی مغز ژنوتیپ‌های پسته منطقه فیض‌آباد خراسان

Diversity of Morphological and Phenological Traits and Kernel Chemical Composition of Pistachio Genotypes from Feizabad Region, Khorasan, Iran

سمیه طایفه علی‌اکبرخانی^۱، علیرضا طلایی^۲ و محمدرضا فتاحی‌مقدم^۳

^{۱، ۲ و ۳}- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باگبانی، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۲۱

چکیده

طایفه علی‌اکبرخانی، س.، طلایی، ع. و فناحی‌مقدم، م. ر. ۱۳۹۲. تنوع مورفولوژیکی و فنولوژیکی و ترکیب شیمیایی مغز ژنوتیپ‌های پسته منطقه فیض‌آباد خراسان. مجله بهنژادی نهال و بذر ۱:۴۲۱-۴۰۵.

پسته به دلیل ویژگی دو پایه بودن و هتروزیگوسی بالا، تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی دارد و مغز آن حاوی پروتئین و مواد معدنی است. در این پژوهش ۴۰ ژنوتیپ نر و ماده پسته از منطقه فیض‌آباد خراسان با استفاده از صفات مورفولوژیکی، فنولوژیکی و ترکیبات شیمیایی مغز (۲۵ ژنوتیپ ماده) مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفت‌هایی چون تاج پوش درخت، رشد سالیانه، تراکم جوانه مرکب و زمان ایجاد گل آذین و برگ با داشتن ضریب تغییرات بالا، بیشترین تنوع را نشان دادند. همبستگی‌های مثبت و منفی بین صفات اندازه‌گیری شده وجود داشت که بعضی از آن‌ها از جمله همبستگی‌های مربوط به صفات فنولوژیکی با صفات مربوط به میوه، جوانه و گل قابل توجه بود. میزان پروتئین مغز در ژنوتیپ‌ها ۱۶/۲ تا ۲۲/۸ درصد و چربی ۴۵ تا ۵۷ درصد برآورد شد که بیشترین مقدار چربی در پسته گرمه ریز ۱ بود. حداقل مقدار فسفر در ژنوتیپ ۱۹ بود. تجزیه درصد و ۶۲/۴ ppm بود که بیشترین مقدار آهن در ژنوتیپ ۲۴ و بیشترین مقدار مقدار فسفر در ژنوتیپ ۱۹ بود. تجزیه خوش‌های داده‌های مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های ماده را به هفت گروه و ژنوتیپ‌های نر را به دو گروه تقسیم کرد. در بین ژنوتیپ‌های ماده، تعدادی از ژنوتیپ‌ها چون بادامی سفید^۱، سفید صابونی^۲، گرمه سیاه و قرمز زودرس بر اساس صفاتی چون اندازه، خندانی، درصد پروتئین و درصد چربی مغز برتری نسبی داشتند.

واژه‌های کلیدی: پسته، ژنوتیپ‌های نر و ماده، صفات مورفولوژیکی، درصد پروتئین و چربی مغز.

مقدمه

(Engler, 1883). در تحقیقی به منظور مطالعه تنوع مورفولوژیکی پایه‌های پسته، این نتیجه حاصل شد که همبستگی ساده صفات نشان دهنده همبستگی مثبت و منفی بین برخی از صفات مهم بود و ژنوتیپ‌ها در فاصله ژنتیکی ۱۰ به ترتیب به سه گروه ژنوتیپ‌های متعلق به گونه ورا، خنجوک و ژنوتیپ‌های متعلق به تمام زیر گونه‌های آتلاتیکا تقسیم شدند (Karimi *et al.*, 2008).

پسته گیاهی است که برای تشکیل میوه به پایه نر احتیاج دارد. قسمت قابل برداشت و فروش در پسته میوه آن است، بنابراین گرده‌افشانی نقش مهمی در تولید محصول پسته دارد. برای انتخاب درختان نر در باغ‌های پسته سه نکته مهم ضروری است: ۱- انتخاب درختان نر که از نظر گلدهی هم‌زمان با رقم ماده باشند، ۲- استفاده از درختان با تولید دانه گرده بالا و ۳- بالا بودن قدرت جوانه‌زنی و باروری دانه گرده (Ghareyazie *et al.*, 1995).

با وجود این که تحقیقات قابل توجهی در مورد ارقام ماده پسته در کشورهای مختلف انجام شده است، ولی در مورد ارقام نر اطلاعات کمی در دسترس است (Martinez *et al.*, 1994). ژنوتیپ‌های نر مشکلات گرده‌افشانی پسته ایفا کند. پسته منبع مناسبی برای مواد غذایی از جمله

پسته اهلی (*Pistacia vera*) از خانواده سماق (Anacardiaceae)؛ گیاهی دو پایه، خزان‌کننده مقاوم به خشکی است. این گیاه از دیرباز در نقاط مختلف ایران مورد کشت و پرورش قرار می‌گرفته است. جنگلهای وحشی و خودروی آن در شمال شرقی ایران و نواحی هم مرز با ترکمنستان و افغانستان پیشینه‌ای باستانی دارد (Barazani *et al.*, 2003). بر اساس مستندات تاریخی موجود، چنین محدوده‌ای در قلمرو فرهنگی ایران و در سرزمینی به نام خراسان قرار دارد (Abrishami, 1998). بنابراین مطالعه تنوع پسته این منطقه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد.

امروزه از روش‌های مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شود (Hormaza *et al.*, 1994a,b, 1998)، از جمله این روش‌ها می‌توان روش‌های مورفولوژیک میوه و برگ، بیوشیمیایی (آنزیمی و پروتئین‌های ذخیره‌ای) و روش‌های مولکولی (DNA) نظری (Karp *et al.*, 1998) RAPD، RFLP، SSR AFLP (Williams *et al.*, 1990) و (Vos *et al.*, 1995) را نام برد، اما صفات مورفولوژیکی یکی از قدیمی‌ترین ابزارهای طبقه‌بندی گیاهان بوده است (Caruso *et al.*, 1998).

اولین مطالعه مورفولوژیکی انجام شده روی جنس پسته توسط انگلر انجام شد که هشت گونه و چند واریته برای این جنس شناسایی کرد

مواد و روش‌ها

تعداد درختان مورد مطالعه ۱۲۰ و سن آن‌ها ۳۰ ساله و پیوندی بودند (پایه بادامی سفید فیض آباد استفاده شده بود) که در یک باغ شخصی انتخاب شدند. چهار رقم شاهد اوحدی، اکبری، کله قوچی و ممتاز نیز در باغ کلکسیون پسته فیض آباد برای این پژوهش انتخاب شدند محل انجام آزمایش شهرستان مهولات بود که در شمال شرق کشور در مرکز استان خراسان رضوی و مشرف به کویر نمک شهرستان بجستان واقع شده است. بخش عمده‌ای از این شهرستان در محدوده گرم و خشک قرار دارد و دارای بارندگی کم، تابستان‌های داغ و زمستان‌های خشک و سرد است. این شهرستان مساحتی در حدود ۳۳۵۰ کیلومترمربع با طول جغرافیایی $54^{\circ}54'$ و عرض جغرافیایی $58^{\circ}00'$ را شامل می‌شود و ارتفاع آن ۹۵۰ متر از سطح دریا است. باغ مورد مطالعه در جنوب شرقی این شهرستان و با خاک لومی- شنی و به مساحت ۲۰ هکتار بود.

صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌ها براساس دیسکریپتور پسته (Anonymous, 1997) یادداشت برداری شد و برای هر صفت یادداشت برداری‌های لازم براساس فرم مربوطه انجام شد. در این پژوهش ۵۵ صفت گیاه‌شناسی و مورفولوژیکی گل، برگ و میوه، مراحل فنولوژیکی و خصوصیات رویشی اندازه‌گیری شد. ترکیبات شیمیایی برای ۲۵ ژنوتیپ ماده پسته اندازه‌گیری شد و ۲۵ صفت فنولوژیکی

پروتئین، ویتامین و مواد معدنی لازم برای سلامت انسان است. همچنین پسته منبع چربی‌های اشباع نشده است و برای پایین آوردن کلسترول و کاستن خطر بیماری‌های قلبی مفید است. در ضمن عناصر روی، فسفر، کلسیم و آهن موجود در آن نیز در رشد سلول‌ها و بافت‌های بدن بسیار مؤثر است (Anttonen and Sener, 2002) انجام شده روی میزان پروتئین و چربی پسته، میزان پروتئین را ۱۵-۳۱ درصد و میزان چربی را ۴۰-۶۳ درصد نشان داده است (Garcia et al., 1992)؛ Shokraii and Hosseini, 1997 (Kamangar and Farsam, 1997) در تحقیقی که بر اساس تأثیر عوامل محیطی روی میزان چربی و اسیدهای چرب ارقام پسته در ترکیه انجام شد، نتیجه گرفتند که ترکیبات اسید چرب یک رقم پسته در شرایط اقلیمی مختلف متفاوت است (Agar et al., 1995).

با توجه به این که پسته یکی از مهم‌ترین محصولات باطنی ایران است و ایران بیشترین تنوع و گسترش فنوتیپی و ژنوتیپی پسته را دارا است، لذا در این تحقیق ۴۰ ژنوتیپ نر و ماده پسته در منطقه فیض آباد خراسان رضوی با استفاده از صفات مورفولوژیکی، فنولوژیکی و ترکیبات شیمیایی مغز میوه مورد بررسی قرار گرفتند تا در نتیجه آن بتوان ژنوتیپ‌های برتر را از نظر صفات مختلف شناسایی کرد.

سدیم) و تیتراسیون (برای کلسیو و منیزیم) و برای عناصر کم مصرف منگنز، روی و آهن از دستگاه جذب اتمی استفاده شد.

برای اندازه گیری عناصر، ابتدا نمونه مغز پسته به صورت معدنی در آمد که بدین منظور از روش خاکستر گیری خشک استفاده شد. برای این کار یک گرم نمونه پودر شده در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت قرار داده شد تا به خاکستر تبدیل شود. سپس به این خاکستر سفید شده ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک دو نرمال اضافه و به مدت نیم ساعت روی بن ماری (حمام آب گرم) قرار داده شد. این عصاره با آب مقتدر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. از این عصاره برای اندازه گیری فسفر، پتاسیم، سدیم، منگنز، روی و آهن استفاده شد (Caruso *et al.*, 1995).

داده های مربوط به رشد رویشی و زایشی صفات مختلف در نرم افزار اکسل ثبت و سپس برای محاسبه شاخص های آماری، ضرایب همبستگی و تجزیه عامل ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. برای بررسی ضریب همبستگی صفات کیفی از ضریب Spereman و صفات کمی از ضریب Pearsan استفاده شد، تجزیه کلاستر داده ها با کمک روش Ward و مقایسه میانگین گروه بندی ژنو تیپ ها بر اساس آزمون دانکن انجام شد.

داده های مربوط به ترکیبات شیمیایی با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین داده ها بر اساس آزمون دانکن انجام شد.

برگ و گل و مورفولوژیکی برگ و گل و صفات مربوط به درخت برای ۱۵ ژنو تیپ نر یادداشت برداری شد.

در صد چربی مغز پسته با روش سوکسله اندازه گیری شد، به این صورت که یک گرم نمونه آسیاب شده با الک یک میلی متر، توزین و عصاره گیری چربی با دی اتیل اتر با استفاده از دستگاه سوکستک (Soxtec system, Ht, Foss Tecator1043) انجام شد (Garcia *et al.*, 1992).

برای اندازه گیری مقدار پروتئین مغز پسته از روش ماکرو کجل دال (Kjeldahl-Auto Vapor DW-10) استفاده شد. اصول کار در این روش، تعیین مقدار نیتروژن کل در نمونه مورد آزمایش است و با در نظر گرفتن ضریب پروتئین، مقدار پروتئین موجود در ماده غذایی محاسبه می شود. با در نظر گرفتن تحقیق انجام شده توسط شکرایی و حسینی (۱۹۷۷) ضریب پروتئین برای مغز پسته ۶/۲۵ در نظر گرفته شد. این آزمایش دارای چهار مرحله هضم، تقطیر، جمع آوری و تیتراسیون بود. مقدار نیتروژن کل (N%) و پروتئین کل (TP) با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

$$N\% = \frac{H_2SO_4 \times 0.0014}{\text{Sample weight}} \times 100$$

$$TP = N \times 6.25$$

برای اندازه گیری مقدار عناصر پر مصرف از روش های کجل دال (برای نیتروژن)، اولسن (برای فسفر)، فلیم فتو متری (برای پتاسیم و

نتایج و بحث

اسامی ژنوتیپ‌های پسته مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۱، صفات کیفی یادداشت شده در جدول ۲ و صفات کمی اندازه‌گیری شده در جدول ۳ نشان داده شده‌اند.

صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های ماده

ضرایب همبستگی صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده صفات موردنظر در برخی موارد همبستگی بالایی را با هم نشان دادند و در اکثر موارد همبستگی‌ها معنی دار بود. عادت رشد درختان ماده با زمان تمام گل ($r = +0.76$), ارتفاع درخت با زمان گلدهی ($r = +0.7$), زاویه شاخه‌ها با زمان رسیدگی میوه ($r = +0.55$) و تعداد جوانه مرکب با تاج پوش درخت ($r = +0.6$) همبستگی مثبتی در سطح احتمال ۰.۱٪ داشتند که احتمالاً این همبستگی‌ها به در اختیار قرار گرفتن نور کافی به درخت مربوط می‌شود.

می‌توان این گونه بیان کرد که ارتفاع بلند درخت و شاخه‌های گستره و باز درخت موجب می‌شود که نور بیشتری به برگ درختان رسیده و باعث افزایش فتوسنتز شده و از این طریق، گلدهی و عملکرد درخت تأثیر منتهی گذاشته شود.

خصوصیات مربوط به برگ با طول و عرض خشک میوه همبستگی نشان داد که این

همبستگی‌ها در تحقیقات مشابهی نیز گزارش شده است (Kafkas *et al.*, 2002; Karimi *et al.*, 2008). بین تعداد برگچه و زمان تمام گل ($r = -0.39$) همبستگی منفی در سطح احتمال ۰.۵٪ وجود داشت. بدین معنا که هرچه تعداد برگچه بیشتر باشد، زمان تمام گل زودتر است. این مسئله نیز احتمالاً با پرسه فتوسنتز در ارتباط است که مرحله گلدهی زودتر انجام می‌شود.

وزن صد مغز با تعداد برگچه ($r = +0.48$) در سطح احتمال ۰.۵٪ همبستگی مثبت داشت و این همبستگی با برخی گزارش‌ها مطابقت داشت (Esmailpour, 2003). این همبستگی مثبت را می‌توان به افزایش سطح فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای در مغز ارتباط داد. روی، یکی از عناصر مهم در مغز پسته است که مقدار آن با زمان ایجاد برگ ($r = +0.45$) در سطح احتمال ۰.۵٪، همبستگی منفی داشت، یعنی هرچه زمان ایجاد برگ زودتر باشد میزان عنصر روی مغز بیشتر است، دریافت نور زیاد و در نتیجه افزایش قند در گیاه و میوه باعث افزایش عناصر غذایی میوه همچون روح می‌شود (Caruso *et al.*, 1995).

نتایج تجزیه همبستگی در برنامه‌های به نزدیکی کاربرد فراوان دارد، به این طریق که می‌توان در برنامه‌های تحقیقاتی که حجم کار بالا است صفاتی را مورد ارزیابی قرار داد که با هم همبستگی نشان نداده‌اند. چون این صفات مستقل از هم دیگر هستند. در انتخاب ارقام و

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌ها و ارقام پسته مورد مطالعه
Table 1. Pistachio genotypes and cultivars used in this study

Male genotypes	ژنوتیپ های نر	Female genotypes	ژنوتیپ های ماده	Female genotypes	ژنوتیپ های ماده
Genotype 1	ژنوتیپ ۱	Badami Sefid 1	بادامی سفید ۱	Genotype 16	ژنوتیپ ۱۶
Genotype 2	ژنوتیپ ۲	Badami Sefid 2	بادامی سفید ۲	Genotype 17	ژنوتیپ ۱۷
Genotype 3	ژنوتیپ ۳	Badami Sefid 3	بادامی سفید ۳	Genotype 18	ژنوتیپ ۱۸
Genotype 4	ژنوتیپ ۴	Sefid Sabuni 1	سفید صابونی ۱	Genotype 19	ژنوتیپ ۱۹
Genotype 5	ژنوتیپ ۵	Sefid Sabuni 2	سفید صابونی ۲	Genotype 20	ژنوتیپ ۲۰
Genotype 6	ژنوتیپ ۶	Badami Ghermez	بادامی قرمز	Genotype 21	ژنوتیپ ۲۱
Genotype 7	ژنوتیپ ۷	Ghermez Zoodras	قرمز زودرس	Genotype 22	ژنوتیپ ۲۲
Genotype 8	ژنوتیپ ۸	Garme Rize 1	گرمه ریز ۱	Genotype 23	ژنوتیپ ۲۳
Genotype 9	ژنوتیپ ۹	Garme Rize 2	گرمه ریز ۲	Genotype 24	ژنوتیپ ۲۴
Genotype 10	ژنوتیپ ۱۰	Garme Siiyah	گرمه سیاه	Genotype 25	ژنوتیپ ۲۵
Genotype 11	ژنوتیپ ۱۱	Garme Zoodras	گرمه زودرس		
Genotype 12	ژنوتیپ ۱۲	Akbari	اکبری		
Genotype 13	ژنوتیپ ۱۳	Ohadi	اوحدی		
Genotype 14	ژنوتیپ ۱۴	Momtaz	ممتاز		
Genotype 15	ژنوتیپ ۱۵	Kaleghuchi	کله قوچی		

جدول ۲- صفات کیفی اندازه گیری شده در ژنوتیپ های نر و ماده پسته
Table 2. Quantitative characteristics measured in male and female genotypes of pistachio

شماره Number	Characteristic	صفت	واحد Unit	واحدها Method of measurement	نحوه اندازه گیری
1	Growth habit	عادت رشد درخت	Code	1. Vertical , 2. Semi-vertical , 3. Spread, 4.Drooping	
2	Height	ارتفاع درخت	Code	2. Short , 5. Average , 7. Tall	
3	Branching habit	زاویه شاخه ها	Code	3. Scattered and thin , 5. Average7. Dense	
4	Leaf bud burst	زمان ایجاد برگ	Days	Number of days from the first day of spring onward.	
5	Shedding leaves	خران و ریزش برگ	Days	Number of days from the first day of spring onward	
6	First bloom date	زمان شروع گلدهی	Days	Number of days from the first day of spring onward	
7	Peak bloom date	زمان تمام گل	Days	Number of days from the first day of spring onward	
8	Harvest date	زمان رسیدگی میوه	Days	Number of days from the first day of spring onward	
9	Shellcolour	رنگ پوسته سبز	Code	1. Light cream , 2. White- yellow ,3. White – orange , 4. Orange – yellow , 5. Orange – red , 6. Red , 7. Red – purple	
10	Testacolour	رنگ پوسته بذر	Code	1.Grayish , 2.Reddish , 3.Dark red , 99. Other colors	
11	Kernelcolour	رنگ مغز	Code	1.Yellow , 2.Greenish yellow , 3.Green , 99. Other colors	

جدول ۳- صفات کمی اندازه گیری شده در ژنوتیپ های نر و ماده پسته
Table 3. Quantitative characteristics measured in male and female genotypes of pistachio

ردیف No.	Character	صفت	واحد و روش اندازه گیری Unit and method of measurement	ردیف No.	Character	صفت	واحد و روش اندازه گیری Unit and method of measurement
1	Canopy	تاج پوش درخت	m	18	Blank production	پوکی	Percentage
2	Diameter	قطر درخت	m	19	Number of nut in 100g	انس صد پسته	g - Sensitive balance
3	Yearly growth of trees	رشد سالیانه درخت	m - Calipers	20	100-Nutweight	وزن صد پسته خشک	g - Sensitive balance
4	Number of inflorescence buds	تعداد جوانه	Current year branch	21	100-Kernel weight	وزن صد مغز خشک	g - Sensitive balance
5	Bud density	تراکم جوانه	-	22	Kernel dry weight/nut dry Weight X 100	نسبت وزن صد مغز به وزن صد پسته	g - Sensitive balance
6	Length, width, and thickness of multiple buds	طول، عرض و ضخامت جوانه مرکب	cm - Calipers	23	The ratio of the pistachio kenel to the testa	نسبت مغز به پوست	g - Sensitive balance
7	Number of leaflets	تعداد برگچه	-	24	Kernel length	طول مغز	cm - Calipers
8	Length and width of leaves	طول و عرض برگ	cm - Calipers	25	Kernel width	عرض مغز	cm - Calipers
9	Length of petioles	طول دمبرگ	cm - Calipers	26	Kernel thickness	ضخامت مغز	cm - Calipers
10	Length and width of the terminal leaf	طول و عرض برگ انتهایی	cm - Calipers	27	Kernel lipid content	چربی	% - Soxhlet extractor
11	Length of inflorescence	طول گل آذین	cm - Calipers	28	Kernel protein content	پروتئین	% - Kjeldahl flask
12	Number of inflorescence cluster	تعداد خوشچه های گل	-	29	N content	میزان نیتروژن	% - Kjeldahl flask
13	Percentage of fruitset	درصد تشکیل میوه	-	30	Na and K content	میزان سدیم و پتاسیم	% - Film photometer
14	Length, width, and thickness of nut	طول، عرض و ضخامت میوه	cm - Calipers	31	Ca and Mg content	میزان کلسیم و منیزیم	% - Titration
15	Number of nutcluster	تعداد میوه در خوشة	-	32	Fe, Mg and Zn content	میزان آهن، منگنز و روی	Mgl ⁻¹ - Atomic absorption spectrophotometer
16	Kernel infestation	آلودگی مغز	%	33	P content	فسفر	% - Spectrophotometer
17	Dehiscense nut	خندانی	%	34	Pollen germination	جوانهزنی گرده	% - Counting

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیکی ژنتیپ‌های ماده پسته
Table 4. Correlation coefficients between morphological characteristics of female pistachio genotypes

Character	صفت	ضریب همبستگی Correlation coefficient
Growth habit with peak bloom date	عادت رشد درخت با زمان تمام گل	0.76**
Height with first bloom date	ارتفاع درخت با زمان گلدهی	0.70**
Branching habit with harvest date	زاویه شاخه ها با زمان رسیدگی میوه	0.55**
Branching habit with peak bloom date	زاویه شاخه ها با زمان تمام گل	-0.42*
Number of buds with canopy width with harvest dateBuds	تعداد جوانه هر کمب با تاج پوش درخت عرض جوانه هر کمب با زمان رسیدگی میوه	0.60** -0.60**
Buds thickness with harvest date	ضخامت جوانه هر کمب با زمان رسیدگی میوه	0.57**
Leaves length with canopy	طول برگ با تاج پوش	-0.59**
Leaves length with first bloom date	طول برگ با زمان گلدهی	-0.61**
Length of petioles with yearly growth of trees	طول دمبرگ با رشد سالیانه درخت	0.51**
Nut width with harvest date	عرض میوه با زمان رسیدگی	-0.55**
Nut width with number of leaflets	عرض میوه با تعداد برگچه	0.50**
Nut thickness with peak bloom date	ضخامت میوه با زمان تمام گل	0.64**
Number of nut per branches with nut width	تعداد میوه در خوش بار عرض میوه	-0.66**
100-Kernel weight with number of leaflets	وزن صد مغز خشک با تعداد برگچه	0.48*
Na content with leaves length	مقدار سدیم مغز با طول برگ	0.51**
K content with Na content	مقدار پاتسیم مغز با مقدار سدیم مغز	-0.50*
Mncontent with Splits nut	مقدار منگنز مغز با درصد خندانی	-0.42*
Ca content with growth habit	مقدار کلسیم مغز با عادت رشد درخت	-0.57**
Length of petioles with first bloom date	طول دمبرگ با زمان گلدهی	-0.52**

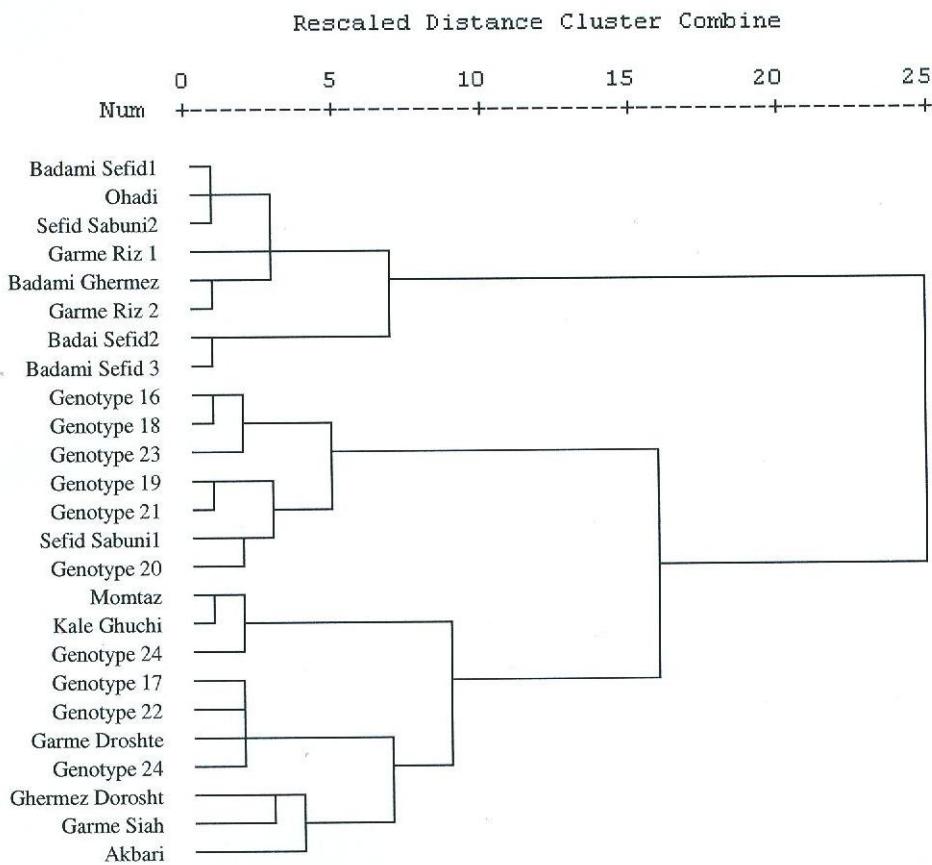
* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

این اساس ۲۵ ژنتیپ ماده پسته در فاصله ۱۰ (تجزیه کلاستر) به سه گروه تقسیم شدند. بر اساس مقایسه میانگین داده ها، ژنتیپ هایی که در گروه اول قرار گرفتند دارای درختانی با ارتفاع کوتاه و دیر گل بودند که خندانی پسته در این ژنتیپ ها بالا اما میزان پروتئین مغز آن ها پایین بود. گروه دوم ژنتیپ هایی با ارتفاع بلندتر نسبت به دو گروه دیگر داشتند و طول میوه

ژنتیپ های با صفات خاص که اثر فنو تیپی آن صفت در زمان خاص ظاهر شده و یا شناسایی آن نیاز به زمان و اندازه گیری های دقیق داشته باشد، می توان صفاتی را ملاک انتخاب قرار داد که دارای همبستگی معنی دار با صفت مورد نظر باشند.

تجزیه کلاستر بر اساس پانزده عامل با واریانس ۹۱/۵ درصد انجام شد (شکل ۱). بر



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ماده پسته بر اساس صفات مورفولوژیکی با استفاده از روش Ward

Fig. 1. Dendrogram of female genotypes of pistachio based on morphological characteristics using Ward method

بادامی قرمز قرار داشتند. ژنوتیپ‌های این گروه برگ‌هایی با سطح بزرگ، میوه‌هایی با اندازه‌های کوچک‌تر و وزن کمتر نسبت به سایر گروه‌ها داشتند و درصد خندانی آن‌ها نسبتاً بالا بود. صفات بارز و مهم گروه دوم دیر گلدهی و دیررسی میوه بود و میزان روی در مغز پسته‌های این گروه نسبت به گروه‌های دیگر کمتر بود. گروه سوم (ژنوتیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۲۳) کمترین ابعاد برگ خندانی نسبتاً بالا و میزان بالای آهنگ مغز را داشتند. صفات مربوط به اندازه میوه در

آن‌ها کشیده‌تر بود. این ژنوتیپ‌ها متوسط گل بودند. گروه سوم که شامل سه رقم مهم از ارقام پسته ایران (اکبری، کله قوچی و ممتاز) بود، درختانی با ارتفاع متوسط و از نظر گلدهی، زود گل و متوسط گل بودند که وزن صد مغز آن‌ها نیز نسبت به سایر گروه‌ها بالاتر بود.

در نمودار در فاصله کمتر و پنج ژنوتیپ‌های مورد بررسی به هفت گروه تقسیم شدند. در گروه اول ژنوتیپ‌های بادامی سفید ۱، اوحدی، سفید صابونی ۲، گرمه ریز ۱ و ۲ و

معنی داری وجود داشت. همبستگی مثبتی بین زمان تمام گل و زمان ایجاد برگ ($r = +0.91$) در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت که نشان می دهد هر چه زمان ایجاد برگ زودتر باشد، درختان زودتر گل می دهند و به مرحله $\%50$ گلدهی می رسند. درصد جوانه زنی گرده با زمان ایجاد گل آذین ($r = -0.53$) در سطح $\%5$ همبستگی منفی داشت که نشان می دهد ژنتیک هایی که گلدهی آنها زودتر بود، میزان جوانه زنی آنها بیشتر بود و این نتیجه احتمالاً اثبات می کند که گرده های دارای قوه نامیه بالا پروسه گلدهی را تسریع می کند. در گزارشی همبستگی بین سطح برگ و وزن برگ ($r = +0.44$) و همچنین سطح برگ با طول برگچه ($r = +0.55$) معنی دار گزارش شد (Esmailpour, 2003).

از همبستگی بین صفات می توان استفاده کرد به خصوص که برای گرده افشاری ارقام ماده و عملکرد بالا نیاز به ژنتیک های نر با دوره گلدهی طولانی و میزان بالای جوانه زنی گرده است. بدین منظور به نژاد گران می توانند با شناسایی این همبستگی ها و ژن های کنترل کننده آنها در ایجاد ژنتیک های نر با دوره گلدهی طولانی و جوانه زنی گرده بالا استفاده کرده و بسیاری از مشکلات مربوط به گرده افشاری را در پسته از بین برند.

تجزیه خوش های، ژنتیک های نر را به دو گروه تقسیم کرد (شکل ۲). در گروه اول ژنتیک های ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ قرار گرفتند که

آنها بالا بود و پروتئین بالایی داشتند. گروه پنجم از نظر صفات فنولوژی چون زمان ایجاد برگ و گل آذین و رسیدگی میوه متوسط رس بودند. در این گروه میزان عناصر آهن، منگنز و روی موجود در مغز نیز بالا بود.

گروه ششم (ژنتیک های $22, 25, 17$) در سطح درشت زودرس با میزان خندانی کمتر نسبت به دیگر گروه ها بودند و گروه هفتم دارای ویژگی هایی چون اندازه بزرگ طول و عرض برگ، خندانی بالا و همچنین زودرس بودند. میزان پروتئین، آهن و منگنز مغز این گروه هم پایین بود.

بر اساس دنдрو گرام حاصله، ژنتیک های بادامی سفید ۱، سفید صابونی ۲، ژنتیک 24 گرمه سیاه و قرمز درشت زودرس با ارقام اصلی تجاری اوحدی، کله قوچی، ممتاز و اکبری در یک گروه قرار گرفتند که نشان دهنده وجود صفات مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی مشابه با این ارقام هستند. با بررسی های بیشتر، می توان از این ژنتیک ها در سطح وسیع و همچنین در برنامه های به نژادی استفاده کرد. البته یک نکته قابل توجه شرایط آب و هوایی است که باید در نظر گرفته شود چون عملکرد و باردهی درختان پسته با شرایط متفاوت تغییر می کند.

صفات مورفولوژیکی ژنتیک های نر
جدول ۵ همبستگی صفات مورفولوژیکی در ژنتیک های نر را نشان می دهد. بین عرض برگ و تراکم جوانه ($r = +0.52$) همبستگی

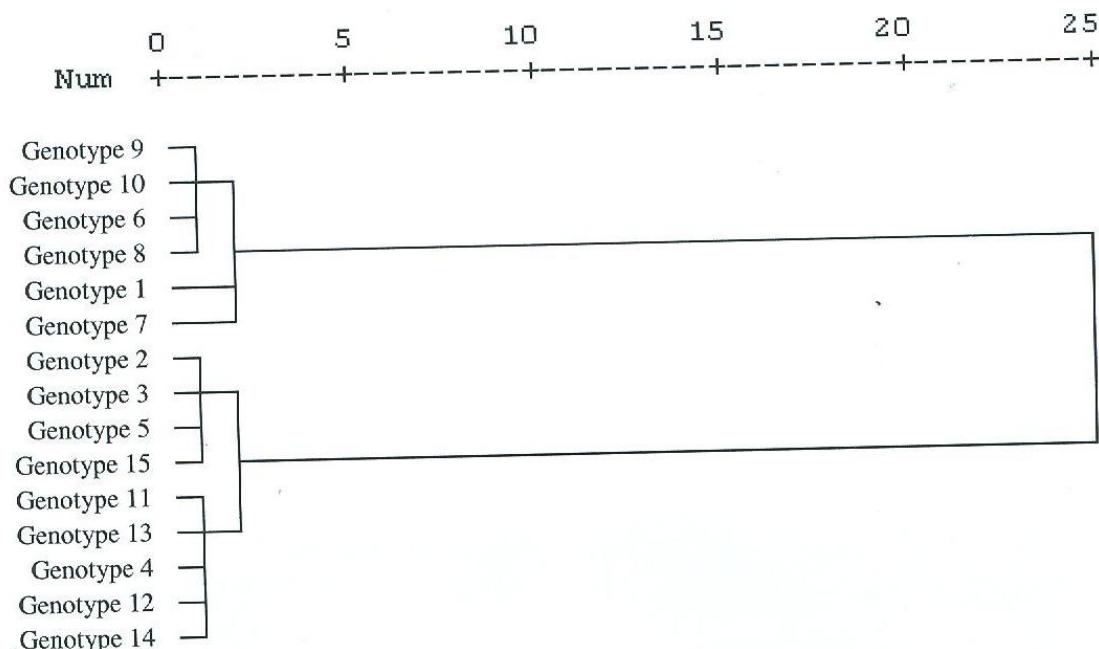
جدول ۵- ضریب همبستگی بین صفات مورفولوژیکی ژنتیپ‌های نر پسته

Table 5. Correlation coefficients between morphological characters in the male pistachio genotypes

Character	صفت	ضریب همبستگی
Length of the terminal leaf with length of petioles	طول برگ انتهایی با طول دمبرگ	0.66**
Length of inflorescence with bud density	طول گل آذین با تراکم جوانه	0.60*
Peak bloom date with leaf bud burst	زمان تمام گل با زمان ایجاد برگ	0.91**
Pollen germination with first bloom date	درصد جوانه زنی گرده با زمان گلدهی	-0.53*
Length of the terminal leaf with number of leaflets	طول برگ انتهایی با تعداد برگچه	-0.61**
Bud density with yearly growth of trees	تراکم جوانه با رشد سالیانه	0.76**
Buds thickness with number of buds	ضخامت جوانه با تعداد جوانه	-0.66**
Leaf width with bud density	عرض برگ با تراکم جوانه	0.52*
Leaves width with number of leaflets	عرض برگ با تعداد برگچه	-0.65**
Length of petioles with leaves length	طول دمبرگ با طول برگ	0.53*

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۲- گروه‌بندی ارقام و ژنتیپ‌های نر پسته بر اساس صفات مورفولوژیکی با استفاده از روش Ward

Fig. 2. Dendrogram of male genotypes of pistachio based on morphological characteristics using Ward method

مغز پسته را، ۲۱-۱۵٪ عنوان کردند، تقریباً مطابقت داشت. در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، چربی به میزان ۵۷-۴۸٪ برآورد شد که بیشترین مقدار آن در پسته گرمه ریز ۱ مشاهده شد. دیگر محققین نیز میزان چربی مغز پسته را در بازه ۶۰-۴۰٪ زوی ارقام تجاری ایران گزارش کردند (Garcia *et al.*, 1992؛ Shokrai and Hosseini, 1997 و Kamangar and Farsam, 1997).

عنصر کلسیم نیز بیشترین مقدار را در پسته‌های بادامی قرمز، سفید ۱ و ژنوتیپ ۲۳ داشت که حداکثر مقدار آن ۴۷٪ بود. میزان منیزیم در اکثر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در یک محدوده و بیشترین مقدار آن ۰/۱۸٪ در پسته گرمه ریز ۲ بود. فسفر که یکی از عناصر بسیار مفید برای انسان محسوب می‌شود در ژنوتیپ‌های مورد بررسی به میزان قابل قبول و در محدوده ۰/۴۳-۰/۷۳٪ قرار داشت که در این میان مرغوبیت پسته ممتاز مشخص بود. بیشترین میزان عناصر پتاسیم و روی در ژنوتیپ‌های بادامی قرمز، گرمه سیاه و اکبری مشاهده شد (جدول ۶).

بیشترین میزان سدیم در پسته سفید ۱ و به میزان ۰/۱۷٪ و بیشترین مقادیر آهن و منگنز نیز به ترتیب در ژنوتیپ ۲۴ و ممتاز اندازه گیری شد. مقادیر آهن در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نسبت به تحقیقات قبلی بسیار بالاتر بود و حداکثر مقدار آن ۶۲/۵ میلی گرم در لیتر بود. همان‌طور که ترکیبات اسید چرب یک رقم پسته در

دیرگل بودند و درصد جوانه‌زنی گرده در بازه ۷۸-۴۵٪ بود که نسبت به گروه دوم کمتر بود و در گروه دوم ژنوتیپ‌های ۲، ۳، ۵، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۵ بودند که این ژنوتیپ‌ها از نظر گلدهی زودگل و متوسط‌گل بودند و درصد جوانه‌زنی بالایی نیز داشتند با تطبیق زمان گلدهی این ژنوتیپ‌ها با ارقام ماده می‌توان از آن‌ها بهره برد. به طور کلی در ۲۵ ژنوتیپ ماده در تجزیه به عامل‌ها، ۱۵ عامل (گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها) دخالت داشت که دارای واریانس تجمعی ۵۳/۹۱٪ بود، در حالی که در ژنوتیپ‌های نر ۸۹/۸۱٪ هشت عامل و میزان واریانس تجمعی ماده بود. میزان واریانس صفات در ژنوتیپ‌های ماده بیشتر بود که مهم‌ترین عامل آن را می‌توان به تعداد صفات بیشتر و تأثیرگذارتر مورد بررسی برای ژنوتیپ‌های ماده و نیز تنوع بیشتر در ژنوتیپ‌های ماده بیان کرد.

ترکیبات شیمیایی مغز پسته

نتایج به دست آمده از اندازه گیری ترکیبات شیمیایی مغز پسته شامل میزان پروتئین، چربی و عناصر غذایی در ۲۵ ژنوتیپ مورد نظر، همگی در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار داشتند، که این نتایج را می‌توان در جدول ۶ مشاهده کرد. در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، میزان پروتئین در بازه ۲۶/۸-۱۶/۲٪ بود که با گزارش‌های Garcia *et al.* (1992) که میزان پروتئین در بازه ۳۱-۲۵٪ همچنین گزارش Kamangar and Farsam (1997) که پروتئین

جدول ۶- عناصر غذایی، پروتئین و چربی در مغز ژنوتیپ‌های ماده پسته
Table 6. Nutrient elements, protein and lipid contents of the kernels of female pistachio genotypes

Genotype	ژنوتیپ	Ca(%)	Mg(%)	N(%)	P(%)	K(%)	Na(%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	پروتئین Protein (%)	چربی Lipid (%)
Sefid1	۱ سفید	0.45a	0.14cdefgh	3.86bc	0.58c	0.96fg	0.12ab	29.66a	45.16f	14.86cd	24.15c	48.13i
Sefid2	۲ سفید	0.36cdef	0.15abcdef	2.72fg	0.58c	0.98ef	0.12a	6.76i	31.23k	5.73m	17.02fg	54.63b
Sefid3	۳ سفید	0.45a	0.17ab	3.15e	0.47g	0.68j	0.07efghi	23.46e	29.73m	10.06j	19.70e	57.29a
Sabuni1	۱ صابونی	0.34efg	0.15abcdefg	3.09e	0.64b	1.179c	0.1bcd	23.56e	21.40o	12.46g	19.35e	51.23e
Sabuni2	۲ صابونی	0.36def	0.15abcdef	3.82bc	0.57c	0.95fg	0.09cde	22.56f	20.60o	12.03gh	23.89bc	54.53b
Badami Ghermez	بادامی گرمسر	0.39cd	0.13fgh	3.27de	0.51def	0.97f	0.06hi	23.50e	23.16n	13.20f	20.47de	51.58e
Ghermez Zoodras	قرمز زودرس	0.36def	0.17a	3.05ef	0.51def	0.85i	0.11abc	20.03g	18.70p	15.16c	19.05ef	53.75c
Garme Riz1	۱ گرمه ریز	0.36def	0.15abcdefg	3.22e	0.49fg	0.92gh	0.12ab	24.8d	17.00q	7.46l	20.13e	50.46f
Garme Riz2	۲ گرمه ریز	0.33fg	0.17a	3.98ab	0.62b	1.02de	0.09cdef	26.6b	33.63j	14.8cd	25.50ab	49.62g
Garme Siaah	گرمه سیاه	0.38cde	0.13efgh	3.8bc	0.64b	1.35a	0.126a	30.3a	23.16m	8.56k	20.06e	53.75c
Garme Zoodras	گرمه زودرس	0.28h	0.16abcd	3.21e	0.63b	0.96fg	0.07efghj	24.73d	42.66g	14.13e	23.78bc	48.73h
Akbari	اکبری	0.34efg	0.13defgh	3.22d	0.53d	1.23b	0.08defgh	25.66c	36.63h	14.76cd	20.14e	51.11e
Ohadi	اوخدی	0.47a	0.17a	4.01ab	0.64b	0.92gh	0.07fghj	25.70c	42.36g	12.13gh	25.08ab	51.53e
Momtaz	ممتاز	0.44ab	0.15abcdef	4.29a	0.56c	0.87hj	0.08defghj	23.36e	52.50d	16.26b	25.5ab	52.54d
Kaleghuchi	کله قوچی	0.23i	0.13efgh	3.19e	0.52de	1.06d	0.09cdefg	22.80ef	57.80c	11.70h	19.99e	52.96d
Genotype 16	۱۶ ژنوتیپ	0.47a	0.16abc	2.60g	0.47fg	0.88hj	0.06j	25.66c	59.60b	10.70j	16.26g	54.23c
Genotype 17	۱۷ ژنوتیپ	0.40bc	0.12gh	3.96ab	0.64b	1.02de	0.07fghj	23.53e	62.40a	14.46de	24.79ab	52.56d
Genotype 18	۱۸ ژنوتیپ	0.23i	0.11h	3.58cd	0.5ef	0.86j	0.06hj	14.73h	33.86j	13.10f	22.37cd	49.43g
Genotype 19	۱۹ ژنوتیپ	0.33fg	0.14bcdefg	3.88bc	0.73a	1.14c	0.08defghj	25.63c	51.60d	17.33a	24.28bc	47.94j
Genotype 20	۲۰ ژنوتیپ	0.31gh	0.16abcde	2.73fg	0.42h	0.85j	0.07ghj	24.36d	49.83e	15.90b	17.08fg	52.78d
Genotype 21	۲۱ ژنوتیپ	0.47ab	0.17ab	4.01b	0.64c	0.92ghij	0.07jkl	25.70e	42.60h	12.13l	25.08 abc	51.53g
Genotype 22	۲۲ ژنوتیپ	0.37def	0.15efgh	2.86gh	0.55fg	0.86j	0.07ijk	24.43fg	39.30i	15.16d	19.59 bcd	49.89j
Genotype 23	۲۳ ژنوتیپ	0.47a	0.16bcde	2.60i	0.47kl	0.88hij	0.06lm	25.66e	59.60b	10.70n	16.26d	54.23c
Genotype 24	۲۴ ژنوتیپ	0.40c	0.12jk	3.96b	0.64c	1.02ef	0.07jkl	23.53h	62.40a	14.46f	24.79bcd	52.57f
Genotype 25	۲۵ ژنوتیپ	0.38def	0.13ij	3.80bc	0.63c	0.96fg	0.07ijk	24.73fg	42.66h	14.13g	23.78bcd	48.73l

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different.

تازه‌خوری پیشنهاد می‌شوند برای ژنوتیپ‌های نر می‌توان از ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴ که دارای دوره گلدهی طولانی و درصد جوانه‌زنی بالا هستند، استفاده شود، البته نکته قابل توجه این است که ژنوتیپ‌های ذکر شده متوسط گل هستند و باید با ارقام و ژنوتیپ‌های ماده که همپوشانی گلدهی دارند، استفاده شود.

از نظر ترکیبات شیمیایی بررسی شده ژنوتیپ‌های گرمه ریز^۱، بادامی سفید^۳ و بادامی قرمز قابل توجه بودند و باید مورد بررسی بیشتر قرار گیرند. ایران دارای غنی‌ترین، متنوع‌ترین و متعددترین ارقام پسته در جهان است. دستیابی به منابع ژنتیکی پسته، تعیین و شناسایی صفات، خصوصیات رویشی و زایشی ارقام و فنوتیپ‌های این گیاه، اولین گام در زمینه اصلاح پسته است و مطالعات منطقه‌ای در مناطق پسته‌خیز، ما را به این اهداف نزدیک‌تر می‌کند.

شرایط اقلیمی مختلف متفاوت است، می‌توان بیان کرد که نوع و شرایط آب و هوایی مختلف می‌تواند روی میزان پروتئین و عناصر معدنی مغز نیز تأثیر گذار باشد (Agar *et al.*, 1995) فاکتورهای مورد اندازه‌گیری در ژنوتیپ‌های مورد بررسی تنوع زیادی را نشان دادند که احتمالاً ناشی از عوامل ژنتیکی و یا محیطی است. برای تعیین دقیق عامل تأثیر گذار و همچنین معرفی ژنوتیپ برتر نیاز به انجام مطالعات بیشتری است.

به طور کلی در این بررسی بر اساس تجزیه و تحلیل میانگین داده‌ها، در بین ژنوتیپ‌های ماده مورد بررسی بادامی سفید ۱ و سفید صابونی ۲ با داشتن میوه‌های درشت و رنگ مناسب و بازارپسند و خندانی بالا برای استفاده در سطح وسیع در مناطقی با شرایط آب و هوایی مشابه فیض آباد توصیه می‌شوند. ژنوتیپ‌های گرمه سیاه و گرمه درشت زودرس نیز با داشتن ویژگی مهم زودرس بودن برای مصرف

References

- Abrishami, M. H. 1994.** Persian Pistachio, Historical Approach. University of Tehran Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Agar, I. T., Kaska, N., and Kafkas, S. 1995a.** Effect of different ecologies on the fat content and fatty acid composition of different *Pistacia vera* varieties grown in different parts of Turkey. Acta Horticulturae 419: 411-416.
- Agar, I. T., Kaska, N., and Kafkas, S. 1995b.** Characterization of lipids in *Pistacia* species in Turkey. Acta Horticulturae 419: 417-422.
- Agar, I. T., Kafkas, S., and Kaska, N. 1998.** Lipid characteristics of Turkish and

- Iranian pistachio kernels. *Acta Horticulturae* 470: 378- 384.
- Anto Anttonen, M. O., and Sener, B. 2002.** Composition of the seed oils of *Pistachio vera* L. of different origins respect to fatty acids. *International Journal of Food Science and Technology* 31: 331-334.
- Barazani, O., Atayev, A., Yakubov, B., Kostiukovsky, V., Popov, K., and Golani-Goldhirsh, A. 2003.** Genetic variability in Turkmen populations of *Pistacia vera* L., *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 383–389.
- Caruso, T., Iannini, C., Monastra, F., Zakynthinos, G., Rouskas, D., Barone, E., Marra, F. P., Sottile, F., Battile, I., Vargas, F., Romero, M., Padulosi, S., Greco, C. I., Cabina, M. R., Martelli, G., Ak, B. E., and Laghezali, M. 1998.** Genetic and phenotypic diversity in pistachio (*Pistacia vera* L.) germplasm collected in Mediterranean countries. *Acta Horticulturae* 470: 168-178.
- Caruso, T., Sottile, F., and Motisi, A. 1995.** Growth analysis and mineral content in pistachio (*Pistacia vera* L.) infructescence and its components. *Acta Horticulturae* 419: 122-124.
- Engler, A. 1883.** Burseraceae et Anacardiaceae. pp. 284-329. In: De Candolle, A. C. (ed.), *Monographiae Phanerogamarum*. Paris.
- Esmailpour, A. 2003.** The Effect of *Pistacia mutica*, *P. vera*, and *P. vera* var. Sarakhs rootstocks on yield, qualitative and quantitative characteristics of three commercial pistachio cultivars. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research* 10: 333-345 (in Persian).
- Garcia, J. M., Agar, I. T., and Streif, J. 1992.** Fat content and fatty acid composition in individual seeds of pistachio varieties grown in Turkey. *Gartenbauwissenschaft* 57(3): 130-133.
- Ghareyazie, B., Huang, N., Second, G., Bennett, J., and Khush, G. S. 1995.** Classification of rice germplasm. 1. analysis using AFLP and PCR-based RFLP. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 218-227.
- Hormaza, J. I., Dollo, L., and Polito, V. S. 1994.** Identification of a RAPD marker linked to sex determination in *Pistacia vera* using bulked segregant analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 9-13.
- Hormaza, J. I., Dollo, L., and Polito, V. S. 1994b.** Determination of relatedness and geographical movements of *Pistacia vera* L. (Pistachio, Anacardiaceae) germplasm

- by RAPD analysis. Economic Botany 48: 349–358.
- Hormaza, J. I., Pinney, K., and Polito, V. S. 1998.** Genetic diversity of pistachio (*Pistacia vera*, Anacardiaceae) germplasm based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Economic Botany 52(1): 78–87.
- Kafkas, S., Kafkas, E., and Perl-Treves, R. 2002.** Morphological diversity and a germplasm survey of three wild Pistacia species in Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution 49: 261–270.
- Kamangar, T., and Farsam, H. 1977.** Composition of pistachio kernels of various Iranian origins. Journal of Food Science 42: 1135-1136.
- Karimi, H. R., Zamani, Z., Ebadi, A., and Fatahi, M. R. 2008.** Morphological diversity of Pistacia species in Iran. Genetic Resources and Crop Evolution 56: 561–571.
- Karp, A., Isaac, P. G., and Ingram, D. S. 1998.** Molecular Tools for Screening Biodiversity. Chapman and Hall, London, UK.
- Martinez, E., and Herreco, M. 1994.** Male performance in pistachio (*Pistacia vera L.*). Journal of Horticultural Science 69 (4): 1117-1122.
- Shokraii, H., and Hosseini, E. 1997.** Chemical composition of the pistachio nuts of Kerman, Iran. Journal of Food Science 42: 244-245.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandeleer, T., Homes, M., Frijters, A., Plot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeae, M. 1995.** AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 21: 4407-4414.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6531–6535.