

بسم الله الرحمن الرحيم

کشت بافت و ریز افزایی انار مینیاتوری

۱۳۸۰ / ۱۰ / ۲۶

توسط  
حمیدرضا ستاری

پایان نامه

ارائه شده به دانشکده تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از  
فعالیت های لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد (ام.اس.)

در رشته

باغبانی

از

دانشگاه شیراز

شیراز، ایران

015712

۳۸۷۴۶

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

امضاء اعضاء کمیته پایان نامه

دکتر مرتضی خوشخوی، استاد بخش باغبانی (استاد راهنما).....

دکتر عنایت اله تفضلی، استاد بخش باغبانی.....

دکتر ابوالقاسم حسن پور، پژوهشیار مرکز تحقیقات کشاورزی فارس.....

شهریور ۱۳۸۰

۳۸۷۴۶

تقدیم به:

روشنایی بخش چشم های منتظران

پدر و مادر عزیزم

همسرفداکار و فرزندان دلبندم

برادر و خواهران مهربانم

## سپاسگزاری

سپاس و ستایش خداوند متعال را که در سایه الطاف بیکرانش با توفیق بررسی رمزی از رازهای بی انتهای هستی شایستگی عبادت او را یافتم لازم می دانم قدردان زحمات بی شائبه، توجه و راهنمایی های خالصانه و تشویق های پی در پی استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مرتضی خوشخوی باشم همچنین از استادان مشاور جناب آقای دکتر عنایت اله تفضلی و جناب آقای دکتر ابوالقاسم حسن پور که با ارائه نظرات ارزشمند خویش در تکامل این اثرکوشیده اند صمیمانه سپاسگزارم.

مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه اعضای محترم بخش باغبانی بویژه آقای مهندس حمید آذرخش که با ارائه خالصانه تجربیات ارزشمند خویش و تدارک وسایل و مواد لازم همکاری صمیمانه داشته اند ابراز می دارم. از دوستان گرامی آقایان مهندس علی توکلی حسینی، مهندس محمد رضا وظیفه شناس و مهندس محمدآرمیون به خاطر همکاری و همراهیشان متشکرم.

از شکیبایی و سعه صدر همسرفداکار و فرزندان عزیزم تشکر و قدردانی می نمایم.

## چکیده

### کشت بافت و ریزافزایی انار مینیاتوری

توسط:

حمیدرضا ستاری

انار مینیاتوری (*Punica granatum* L. var *nana Gracilissima* Hort.) که فرم پاکوتاه وزینتی درخت انار است، گیاهی است که رشد، خزان دار با تاج گرد که در تابستان گل های قرمز قیفی شکل با گلبرگ های چین دار می دهد. گل ها به میوه هایی کوچک و گرد به رنگ قرمز نارنجی تبدیل می شوند. این گیاه که به عنوان یک گیاه گلدانی کوچک جالب توجه می باشد، در ایجاد چشم انداز، کشت درون خانه ای و بنزایی مورد استفاده قرار می گیرد. انار مینیاتوری متعلق به تیره انارسانان (*Punicaceae*) است و بومی ایران و نواحی مدیترانه ای می باشد. این پژوهش در سال های ۱۳۷۸، ۱۳۷۹ و ۱۳۸۰ به منظور بدست آوردن بهترین غلظت تنظیم کننده های رشد برای ریزافزایی انار مینیاتوری انجام شد. گیاهان انار مینیاتوری از فروشندگان نهال در شیراز خریداری و در شرایط نورکاهش یافته و دمای  $7 \pm 2$  درجه سانتی گراد در گلخانه بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز نگهداری شدند. برگ های بالغ گیاهان گلدانی انار مینیاتوری پس از گندزدایی برای تهیه ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفتند. گندزدایی با فروبردن برگ ها در محلول الكل

اتیلیک ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و سپس محلول کلراکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه و سپس چند بار آبکشی با آب مقطر انجام شد. در شرایط گندزدایی شده ریزنمونه های برگ روی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ (MS) تغییر داده شده با تیمارهای هورمونی ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر BA کشت شدند. قرار دادن گیاهان مادری در شرایط نیم سایه و تحریک رشد رویشی آنها موجب کاهش یا حذف تلفات ریزنمونه ها در اثر مواد فنولیک شد. پینه زایی ریزنمونه های برگ ۲۰ روز پس از کشت درون شیشه ای مشاهده شد. بهترین تیمار جهت پینه زایی ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۱ میلی گرم در لیتر BA بود. شاخساره های نابجا در حدود ۲۵ روز پس از زیر کشت پینه های اولیه روی محیط کشت نیم غلظت MS با ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA تشکیل شدند. شاخساره هایی که بیش از یک سانتی متر طول داشتند به منظور ریشه زایی به محیط کشت نیم غلظت MS دارای ۰، ۰/۰۲ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D انتقال داده شدند. ریشه زایی پس از ۱۵ روز در محیط کشت بدون تنظیم کننده رشد مشاهده شد.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فهرست جدول ها.....
	فهرست نمودارها.....
	فهرست تصویرها.....
۱	فصل اول: مقدمه.....
۲	۱-۱- تاریخچه و پیدایش انار.....
۵	۱-۲- گیاهشناسی انار.....
۶	۱-۳- جایگاه و نقش انارهای زینتی.....
۹	فصل دوم: مروری بر پژوهش های پیشین.....
۱۲	فصل سوم: مواد و روش ها.....
۱۲	۳-۱- مواد گیاهی.....
۱۵	۳-۲- شستشو.....
۱۵	۳-۳- سترون سازی.....
۱۵	۳-۴- استقرار.....
۱۶	۳-۵- محیط کشت.....
۱۹	۳-۶- ثبت و تجزیه داده ها.....
۲۳	فصل چهارم: نتایج.....
۲۳	۴-۱- کاهش ترکیبات فنولیک.....

صفحه	عنوان
۲۲	۴-۱-۱- ریزنمونه های برگ.....
۲۴	۴-۱-۲- ریزنمونه های نوک شاخساره.....
۲۵	۴-۲- پینه زایی ریز نمونه های برگ.....
۲۸	۴-۲-۱- اثر 2,4-D بر پینه زایی.....
۲۸	۴-۲-۲- اثر 2,4-D بر پینه زایی مطلوب.....
۲۸	۴-۲-۲- اثر BA بر پینه زایی.....
۲۸	۴-۲-۴- اثر BA بر پینه زایی مطلوب.....
۲۲	۴-۲-۵- اثر روشنایی و تاریکی بر پینه زایی.....
۲۳	۴-۲-۶- اثر روشنایی و تاریکی بر پینه زایی.....
	مطلوب
۲۳	۴-۳- شاخه زایی.....
۳۶	۴-۴- ریشه زایی.....
۳۷	فصل پنجم : بحث .....
۳۷	۵-۱- کاهش ترکیبات فنولیک.....
۳۹	۵-۲- پینه زایی.....
۳۹	۵-۲-۱- 2,4-D .....
۴۰	۵-۲-۲- BA .....
۴۱	۵-۲-۳- تاریکی و روشنایی.....
۴۱	۵-۳- شاخه زایی.....
۴۱	۵-۴- ریشه زایی.....

## فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
	جدول ۱-۲- ترکیبات موجود در محیط کشت تغییر یافته
۲۱	موراشیگی و اسکوک به کار رفته در این پژوهش.....
	جدول ۲-۲- ترکیبات موجود در محیط کشت نیم غلظت
۲۲	موراشیگی و اسکوک به کار رفته در این پژوهش.....
	جدول ۱-۴- درصد مواد فنولیک در اطراف ریز نمونه های
۲۴	برگ انار مینیاتوری در ماه های مختلف سال.....
	جدول ۲-۴- اثر زغال فعال شده بر ماندگاری ریزنمونه های
۲۵	نوک شاخساره روی محیط کشت MS.....
	جدول ۲-۴- برهمکنش غلظت های مختلف 2,4-D و BA در
	پینه زایی و پینه زایی مطلوب ریزنمونه های برگ انار
	مینیاتوری روی محیط کشت MS تغییر یافته در شرایط
۲۹	تاریکی و روشنائی.....
	جدول ۴-۴- تأثیر غلظت های مختلف BA بر شاخه زایی
	پینه های حاصل از برگ انار مینیاتوری در محیط
۳۴	کشت نیم غلظت MS.....



## فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۲۰	نمودار ۱-۴- اثر غلظت های 2,4-D بر پینه زایی.....
۲۰	نمودار ۲-۴- اثر غلظت های 2,4-D بر پینه زایی مطلوب.....
۲۱	نمودار ۳-۴- اثر غلظت های BA بر پینه زایی.....
۲۱	نمودار ۴-۴- اثر غلظت های BA بر پینه زایی مطلوب.....
۲۲	نمودار ۵-۴- اثرروشنایی وتاریکی بر پینه زایی.....
۲۲	نمودار ۶-۴- اثرروشنایی وتاریکی بر پینه زایی مطلوب.....

## فهرست تصویرها

صفحه	عنوان
۸	نگاره ۱-۱- انار مینیاتوری.....
	نگاره ۱-۲- پیرایش گل ها و میوه های ظاهرشده به منظور
۱۳	افزایش رشد رویشی گیاهان انار مینیاتوری.....
	نگاره ۲-۲- چیدن ۱۰ سانتی متری انتهای شاخه های در حال
	رشد به منظور استفاده از برگ های بالغ و نوک شاخساره
۱۴	برای تهیه ریزنمونه.....
	نگاره ۳-۲- الف- استقرار ریزنمونه روی محیط کشت ب: قرار
۱۷	دادن شیشه های کشت در اتاقک رشد.....
	نگاره ۱-۴- پینه زایی مطلوب در ریزنمونه های برگ انار
۲۶	مینیاتوری.....
	نگاره ۲-۴- پینه زایی نامطلوب در غلظت $2,4-D \leq 0.2$
۲۷	میلی گرم در لیتر.....
	نگاره ۳-۴- تولید جوانه و شاخساره نابجا ۲۵ روز پس از
	زیرکشت پینه ها روی محیط کشت نیم غلظت MS با ۰/۵
۲۵	میلی گرم در لیتر BA.....
	نگاره ۴-۴- ریشه زایی شاخساره ۱۵ روز پس از انتقال به
۳۶	محیط کشت نیم غلظت MS بدون تنظیم کننده رشد.....

# فصل اول

## مقدمه

پیشرفت در توسعه کشاورزی در برگیرنده برهمکنش<sup>۱</sup> دو فعالیت جداگانه است اول این که انواع ویژه ای از گیاهان گزینش شوند، دوم این که این انواع به گونه ای افزوده شوند که ویژگی های ارزشمندشان در تولید انبوه حفظ گردد (۱۳).

در گام اول، بشر به منظور یافتن گیاهان برتر علاوه بر بهره گیری از تنوع طبیعی اقدام به بهنژادی گیاهان کرده است. در گام دوم، که هدف آن افزایش<sup>۲</sup> انبوه و سریع این گیاهان برتر با حفظ ویژگی های ارزشمندشان می باشد، از افزایش بذری و افزایش رویشی به روش هایی مانند قلمه زدن، پیوند زدن، افکندن، جدا سازی و تقسیم استفاده شده است. ولی محدودیت ویژه هر کدام از روش های فوق موجب شده که بشر همواره به دنبال روش هایی برتر باشد. با به اثبات رسیدن فرضیه توانمندی<sup>۳</sup> (۲۲، ۱۴) که بر اساس آن هریاخته گیاهی قابلیت ژنتیکی تولید یک گیاه کامل را دارد، امکان کشت بافت گیاهان مطرح شد و در مورد بسیاری از گیاهان

- 
1. Interaction
  2. Propagation
  3. Totipotency

کاربرد عملی یافت. کشت بافت های گیاهی به طور کلی به کشت درون شیشه ای تمام بخش های گیاهی اعم از تک یاخته، بافت و اندام ها در شرایط گند زدایی شده گفته می شود (۲). از کشت هر کدام از این قسمت ها ممکن است در اندام زایی غیرمستقیم بافتی به نام پینه<sup>۱</sup> به وجود آید. این بافت از تعداد زیادی یاخته های نامتمایز تشکیل شده است. در بسیاری از موارد، از بافت پینه در ریزافزایی<sup>۲</sup> استفاده می شود و با فراهم آوردن شرایط مناسب از آن ها گیاهان کامل به تعداد زیاد بدست می آید (۲۰).

امروزه فنون کشت بافت نه تنها به عنوان ابزاری در افزایش انبوه و سریع گیاهان برتر بلکه در بهنژادی، کنترل عوامل بیماری زا و تولید و جداسازی بعضی مواد ارزشمند شیمیایی از دیدگاه های پژوهشی و اقتصادی اهمیت ویژه ای یافته است (۲، ۲۰).

به خاطر ویژگی های خاص، ریزافزایی روز به روز بیشتر مورد توجه قرار می گیرد. در آمریکا و کشورهای اروپایی هرکدام سالانه ۲۵ میلیون گیاه با این روش تولید می شوند که اغلب گیاهان زینتی را در بر می گیرد (۲۰).

یکی از علل توجه بیشتر به کشت بافت گیاهان زینتی لزوم پیشبرد این گیاهان از نظر کمی و کیفی است زیرا این گیاهان در کنترل آلودگی های زیست محیطی، ایجاد چشم اندازهای زیبا، کاهش تنش های زندگی شهرنشینی و ارضای نیازهای روانی بشر نقش بسیار مهمی ایفا می کنند (۶، ۱۱).

---

1. Callus

2. Micropropagation

آرایش و زیبا سازی محیط با گیاهان زینتی به گذشته های دور بازمی گردد ولی با گسترش زندگی شهر نشینی و دور شدن روز افزون بشر از طبیعت توجه به گل ها و گیاهان زینتی ضرورت بیشتری یافته است (۶).

### ۱-۱: تاریخچه و پیدایش انار

بنابه عقیده برخی از گیاهشناسان و مورخین منشاء انار<sup>۱</sup> کشور ایران است ، اما بعضی آن را از بین النهرین هم می دانند (۸، ۱۲).

واویلوف<sup>۲</sup> گیاهشناس روسی که معتقد بود مراکز تنوع<sup>۳</sup> ، مراکز پیدایش<sup>۴</sup> گیاهان نیز می باشند، ایران را مبدأ بسیاری از میوه های معتدله نیمه گرمسیری از جمله انار، گیلان، گردو، بادام، به و انجیر دانسته است (۶). بر اساس نظریه دکاندول<sup>۵</sup> انار بومی ایران و کشورهای همجوار می باشد که بطور طبیعی وبه تدریج در مناطق آسیای مرکزی تا هیمالیا، خاورمیانه، آسیای صغیر و حوزه مدیترانه گسترش یافته است (۳۴).

- 
1. Pomegranate (*Punica granatum* L.)
  2. Vavilov
  3. Center of diversity
  4. Center of origin
  5. De Candolle

رشینگر<sup>۱</sup> گسترش طبیعی آن را در ایران در سواحل شمالی و همچنین در بعضی نقاط دامنه های جنوبی البرز و جنگل های غرب و جنوب تا بلوچستان ذکر کرده است (۳۵). ثابتی نیز همین نواحی را به عنوان پراکنش طبیعی انار در ایران نام برده است (۲، ۵). هومر<sup>۲</sup> شاعریونانی در قرن هفتم قبل از میلاد از درخت انار در کتاب ادیسه نام برده است. و به عنوان درختی که در باغ های فریسه<sup>۳</sup> و فریحیه<sup>۴</sup> پرورش داده می شود به آن اشاره نموده است. یونانیان قدیم بر این عقیده بوده اند که آفرودیت<sup>۵</sup> الهه عشق این گیاه را در یونان کاشته و وجود آن سبب گشایش و فراوانی می گردد (۱۰). انار از زمان های قدیم در کارتاژ کشت و کار می شده و نام قدیمی آن سیب کارتاژ بوده است (Punic نام انار به زبان کارتاژی است) (۸).

در آیین زرتشت کشت این درخت در منازل از کارهای نیکو و پسندیده به شمار آمده است. در کتیبه های تخت جمشید می توان کنده کاری های بزرگ انار را مشاهده کرد و این خود نشان و دلیل بر شناخت ایرانیان و کشت آن در ایران باستان است. دین مبین اسلام نیز اهمیت ویژه ای برای این میوه قائل شده است. در سوره های انعام (آیات ۹۹ و ۱۴۱) و سوره الرحمن (آیه ۶۸) به انار اشاره شده است (۲۰). بهزادی شهر بابکی (۱) توانست بیش از ۷۶۰ رقم انارهای اهلی، وحشی، زینتی و مینیاتوری را در ایران شناسایی کند. بخشی

---

1. Rechingner

2. Homer

3. Frisse

4. Frihia

5. Afrodit

از این مجموعه به صورت زنده در ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی  
یزد موجود می باشد.

## ۱-۲: گیاهشناسی انار

انار به تیره Punicaceae تعلق دارد. این تیره دارای یک جنس  
*Punica* و دو گونه است.

۱- گونه *P. granatum* L. که بومی ایران و نواحی مدیترانه ای است و  
شامل انارهای خوراکی می باشد (۳۳).

۲- گونه *P. protopunica* Balf. که بومی جزایر سکوترا<sup>۱</sup> در اقیانوس  
هند است و میوه آن خوراکی نیست.

از گونه *P. granatum* ارقام زیادی در مناطق مختلف کشت می گردد  
که جنبه خوراکی و زینتی دارند:

۱- واریته گیاهشناسی انارهای وحشی و پر خار که دارای میوه های  
ریز و ترش می باشند.

*P. granatum* L. var. *Spinosa* Lam.

۲- واریته گیاهشناسی انارهای معمولی و بدون خار که میوه های  
خوراکی دارند.

*P. granatum* L. var. *Sativa* K. Maly.

۳- واریته گیاهشناسی انارهای پا کوتاه و مینیاتوری .

*P. granatum* L. var. *Nana Gracilissima* Hort.

۴- واریته گیاهشناسی انارهای پرپر با گل های سفید و کرمی.

*P. granatum* L. var. *Albescens*.

۵- واریته گیاهشناسی انارهای پر پر با گل های قرمز درشت.