بسم الله الرحمن الرحیم

همه امتیازات این پایان نامه به دانشگاه لرستان تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب در مجلات، سمینارها یا سخنرانی ها، باید نام دانشگاه لرستان (استاد یا اساتید راهنمای پایان نامه) و نام دانشجو با ذکر مأخذ و ضمن کسب مجوز از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

دانشگاه لرستان

دانشکده کشاورزی

عنوان پایان نامه:

بررسی بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین پوست ارقام مختلف انار با استفاده از تکنیک Real Time PCR

نگارش:

سپیده روح الامین

اساتید راهنما:

دکتر بهمن زاهدی

دکتر علی ساعی

استاد مشاور:

دکتر فرهاد نظریان فیروز آبادی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در

رشته مهندسی تولیدات گیاهی (اصلاح گیاهان باغبانی)

زمستان ۱۳۹۲

تقدیم به گنجینه های پر مهر زندگیم

پدر و مادر عزیزم

همراه همیشگی ام

سحر مهربانم

تشکر و قدردانی:

سپاس و ستایش پرودگار یکتایی که ذات بی کرانش آکنده از علم و دانش است و چه با سخاوت از این خوان بی همتا بشر را موهبتی شگرف ارزانی داشت و دریای کمالات خود را بر روی او گشود.

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نسیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آن‌ها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود پس از پروردگار

مایه هستی ام بوده اند. از دوست و یگانه خواهرم سحر مهربانم تشکر می‌کنم که در تمام مراحل زندگیم زیبایی حضورش در کنارم خستگی‌ها را به امید و روشنی تبدیل می‌کرد.

از اساتید راهنمای بزرگوارم، آقای دکتر بهمن زاهدی و آقای دکتر علی ساعی و استاد مشاور ارجمندم آقای دکتر فرهاد نظریان به خاطر تمام زحمات و همراهیشان در طی انجام این پژوهش صمیمانه قدردانی می نمایم.

از اساتید ارجمند آقایان دکتر عبداله خدیوی خوب و دکترعبدالهادی احمدی که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را تقبل نمودند سپاسگزاری می‌نمایم

همچنین از اساتید گروه تولیدات گیاهی آقایان دکتر رضایی نژاد، دکتر غلامرضایی، دکتر شهبازی که در محضر ایشان کسب علم نموده‌ام صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم.

در پایان شادکامی و توفیق روز افزون برای همگان آرزومندم.

سپیده روح الامین

زمستان ۹۲

فهرست مطالب:

عنوان.....صفحه

چکیده..... ۱

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- اهمیت و اهداف..... ٤

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- رده بندی انار..... ۸

۲-۲- خصوصیات رویشی و زایشی انار..... ۹

۲-۳- گرده افشانی انار..... ۱۱

۲-٤- پراکنش انار..... ۱۲

۲-۵- موقعیت انار در ایران..... ۱۲

۲-٦- ارقام انار..... ۱۳

۲-٦-۱- ارقام اهلی انار..... ۱۳

۲-٦-۲- ارقام انار زینتی..... ۱۳

۲-٦-۳- ارقام انار وحشی..... ۱٤

۲-۷- خصوصیات دارویی و بیوشیمیایی انار..... ۱٤

۲-۸- فلاونوئید..... ۱٦

۲-۹- آنتوسیانین..... ۱۷

۲-۱۰- ساختار آنتوسیانین..... ۱۷

۲-۱۱- مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ۲۱

۲-۱۲- ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ۲۳

۲-۱۳- بررسی بیان برخی ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین در انار..... ۲۷
الف- عوامل رونویسی (bHLH)AN1, (MYB)AN2, WD-40..... ۲۷
ب- ژن ساختاری DFR..... ۳۰
روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز..... ۳۱
۲-۱٤-۱- PCR سنتی..... ۳۱
۲-۱٤-۲- واکنش رنجیره‌ای پلیمراز معکوس..... ۳۱
۲-۱٤-۳- PCR کمی..... ۳۲
الف- PCR کمی بر پایه کاوشگر..... ۳۳
ب- PCR کمی بر پایه محاسبه گر داخلی..... ۳٤
۱- ارزیابی نسبی..... ۳٦
۲- ارزیابی مطلق..... ۳۷

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- تهیه مواد گیاهی..... ٤۱
۳-۲- استخراج RNA..... ٤۱
۳-۲-۳- آماده سازی RNA استخراج شده قبل از سنتز cDNA..... ٤٤
الف- تعیین کمیت و کیفیت RNA..... ٤٤
تیمار RNA با استفاده از آنزیم DNaseI ,RNase-free..... ٤٥
۳-۳- طراحی آغازگر..... ٤٦
۳-٤- واکنش نسخه برداری معکوس- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (RT-PCR)..... ٤۸
۳-٥- واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگرهای *AN1, AN2, WD-4, DFR*..... ٤۹
۳-٥-۱- تنظیم شرایط برای واکنش PCR..... ٤۹

۳-٦- واکنش Real time PCR ۵۱
۳-٦-۱ واکنش RT_ PCR ۵۱
الف-آغازگرها ۵۱
ب- کیت ویژه واکنش RT_PCR ۵۲
ج-پلت‌های مخصوص واکنش RT_ PCR ۵۲
۳ -٦-۲-بهینه سازی شرایط برای واکنش ۵۲
۳-٦-۳- انجام واکنش RT_ PCR ۵۲
۳-٦-٤-تجزیه و تحلیل داده ها ۵۵

فصل چهارم: نتیجه و بحث

٤-۱- استخراج RNA ۵۷
٤-۲-انجام واکنش PCR ۵۸
٤-۳- بررسی میزان رونویسی ژن‌های ۵۹
٤-۳-۱- تنظیمات دمایی مرحله اتصال آغازگر ۵۹
٤-۳-۲- انجام واکنش Real Time PCR ٦۰
٤-۳-۳-تجزیه و تحلیل نتایج ٦۱
٤-۳-٤- بررسی بیان ژن‌ها در پاسخ به رنگ پوست‌های متفاوت ٦۲
٤-٤- نتیجه گیری و پیشنهادها ۷۱
٤-٤-۱ نتیجه گیری کلی ۷۱
٤-٤-۲ پیشنهادها ۷۳

فهرست منابع

منابع ۷۵

فهرست اشکال

عنوان.....صفحه

شکل ۲-۱ ساختار عمومی فلاوونول ها.....۱۶

شکل ۲-۲- ساختار پایه ای آنتوسیانین.....۱۹

شکل ۲-۳- ساختار عمومی آگلیکون.....۱۹

شکل ۲-٤- مسیر بیوسنتز آنتوسیانین.....۲۲

شکل۲ -۵- مسیر بیوسنتز آنتوسیانین در گیاهان.....۲۶

شکل ۲-٦- کمپلکس bHLH, MYB و WD40 .....۲۹

شکل ۲-۷- مکانیسم عمل کاوشگر T*q*man در واکنش RT_PCR.....۳٤

شکل ۲-۸- واکنش Real Time PCR با استفاده از Syber green.....۳۵

شکل ۲-۹- مراحلارزیابی داده های حاصل از واکنش Real Time PCR.....۳۸

شکل ۲-۱۰- منحنی ثبت شده حاصل از واکنشReal Time PCR.....۳٦

شکل ۲-۱۱- منحنی استاندارد در آنالیز مطلق واکنش Real Time PCR.....۳۹

شکل ٤-۱- نمونه‌های انار مورد استفاده جهت استخراج RNA.....۵۷

شکل ٤-۲- تصویر الکتروفورز RNA استخراج شده.....۵۸

شکل ٤-۳- تصویر الکتروفورزی محصولات PCR.....۵۹

شکل ٤-٤- منحنی ذوب حاصل از تکثیر بهینه ژن هدف.....٦۰

شکل ٤-۵- منحنی ذوب حاصل از تکثیر توالی هدف.....٦۱

شکل ٤-٦- نمودار میزان بیان ژن AN1.....٦۳

شکل ٤-٧- نمودار میزان بیان ژن AN2 ..... ٦٥

شکل ٤-٨- نمودار میزان بیان ژنWD-40 ..... ٦٧

شکل ٤-٩- نمودار میزان بیان ژنDFR ٦٩

فهرست جداول

عنوان.....صفحه

جدول ۲-۱- جایگاه انار در سیستم رده بندی گیاهی.....۹

جدول ۳-۱- مواد لازم و مقدار هر یک ازآنها برای تیمار RNA ٤٦

جدول ۳-۲- توالی آغازگرهای رفت و برگشتی برای تکثیر نواحی بین ژنی.....٤٧

جدول ۳-۳- مواد لازم و مقدارهر یک از آنها برای مرحله اول سنتز cDNA ٤٨

جدول ۳-٤- مواد لازم و مقدارهر یک از آنها برای مرحله دوم سنتز cDNA ٤٩

جدول ۳-٥- مواد مورد نیاز برای تهیه محلول پایه برای جفت آغازگرهای مورد نظر در واکنش PCR.....٥٠

جدول ۳-٦- زمان و دمای مورد نیاز برای مراحل مختلف واکنش PCR برای جفت آغازگرها.....٥١

جدول ۳-۷ مواد مورد نیاز و مقدار آن برای تهیه محلول پایه در واکنش Real Time PCR ٥٣

جدول ۳-۸- زمان و دمای برای مراحل مختلف واکنش PCR برای آغازگرهای ویژه .Real Time PCR.....٥٤

جدول ٤-۱- نتایج تجزیه واریانس اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن AN1 در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین.....٦٣

جدول ٤-۲- مقایسات میانگین اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن AN1 در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین.....٦٣

جدول ٤-۳- نتایج تجزیه واریانس اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن AN2 در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین.....٦٥

جدول ٤-٤- مقایسات میانگین اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن AN2 در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ٦٥

جدول ٤-٥- نتایج تجزیه واریانس اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن W-D40در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین.....٦٧

جدول ٤-٦- مقایسات میانگین اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن W-D40در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ٦٧

جدول٤-۷- نتایج تجزیه واریانس اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن DFR در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ٦٩

جدول ٤-۸- مقایسات میانگین اثر رنگ پوست بر میزان بیان ژن DFR در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین..... ۷۰

چکیده:

انار (*Punica granatum* L.) یکی از قدیمی ترین و مهمترین گیاهان باغی در ایران است. انار علاوه بر مصرف خوراکی به عنوان یکی از ده میوه برتر از لحاظ محتوای فیتوشیمیایی شناخته شده است. اثرات سلامت بخش ترکیبات موجود در انار شامل فعالیت آنتی اکسیدانی، ممانعت از رشد بی‌رویه سلول‌ها و محرک مرگ برنامه ریزی شده سلول‌های سرطانی می‌باشد. همچنین از درخت انار به عنوان منبع مهمی برای استخراج متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی، تانن‌ها، رنگ‌ها و آلکالوئیدها یاد شده است. از آنجا که تقاضا برای این میوه به دلیل خصوصیات دارویی فوق العاده آن در حال افزایش است، بنابراین لازم است برنامه‌های اصلاحی جهت تامین تقاضای مصرف کنندگان، تولیدکنندگان و صادرکنندگان آن تدوین شود. یکی از این برنامه‌های اصلاحی شناسایی مسیر بیوسنتز مواد موثره در گیاه و استفاده از این اطلاعات جهت تولید ارقام برتر با ارزش غذایی و دارویی بالا می‌باشد. از مواد موثره در انار آنتوسیانین‌ها را می‌توان نام برد. آنتوسیانین‌ها گروهی از ترکیبات فنولی موسوم به بیوفلاونوئیدها هستند که رنگ پوست و میوه انار را ایجاد می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان عوامل رونویسی و ژن‌های *WD-40*, *AN1 (bHLH)*, *AN2 (MYB)* و *DFR* در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین پوست انار و نقش آن‌ها در ایجاد رنگ پوست در ژنوتیپ‌های مختلف انار است. به این منظور RNA کل از پوست ژنوتیپ‌های پوست سیاه، قرمز روشن، سفید و سبز استخراج شد. cDNA با استفاده از آغازگرهای اختصاصی سنتز شد و الگوی بیان ژن از طریق تکنیک Real Time PCR مورد سنجش قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که بیشترین بیان عامل رونویسی *AN1 (bHLH)* در ژنوتیپ‌های پوست سفید و سبز و کمترین بیان این عامل رونویسی در ژنوتیپ‌های پوست سیاه و قرمز روشن می‌باشد. همچنین عامل رونویسی *AN2 (MYB)* بیشترین میزان بیان را در ژنوتیپ پوست سبز و کمترین میزان بیان را در ژنوتیپ قرمز روشن نشان داد. بیشترین میزان بیان ژن *WD-40* به ترتیب در نمونه با پوست سیاه، قرمز روشن، سفید و سبز می‌باشد. افزایش بیان عامل رونویسی*WD-40* در ژنوتیپ‌های با رنگ تیره بیانگر نقش کلیدی ژن *WD-40* در ایجاد رنگ در پوست انار می‌باشد. همچنین بیان ژن *DFR* در نمونه با پوست سیاه بیشترین مقدار و در نمونه پوست سفید کمترین مقدار را نشان داد. مطالعه حاضر نقش کلیدی دو ژن *WD-40* و *DFR*

را در ایجاد رنگ تیره در نمونه با پوست قرمز روشن و سیاه نشان داد زیرا با افزایش شدت رنگ پوست میزان بیان این دو ژن افزایش یافت که بیانگر تاثیر گذاری عامل رونویسی *WD-40* روی ژن ساختاری *DFR* و نقش موثر این دو عامل در ایجاد رنگ است. با توجه به بیان سه عامل رونویسی *AN1 (bHLH), AN2 (MYB)* و *WD-40* در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به ویژه ژنوتیپ‌های با رنگ پوست تیره نقش موثر کمپلکس MYB–bHLH–WD-40 در ایجاد رنگ تایید می‌شود. همچنین تفاوت در بین رنگ پوست ژنوتیپ‌های گوناگون انار مربوط به تفاوت در سطوح بیان عوامل رونویسی است.

واژه‌های کلیدی: انار، آنتوسیانین، *AN1(bHLH), AN2(MYB), WD-40, DFR* و Real Time PCR

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ اهمیت و اهداف

انار از جمله درختان میوه‌ای است که از دیرباز در ایران کشت و کار می‌شده است و ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان انار در دنیا است (بهزادی شهر بابکی، ۱۳۷۷). از آنجا که انار در اقلیم‌های خشک و نیمه گرمسیری دارای رشد و باردهی خوبی می‌باشد و قسمت‌های وسیعی از ایران دارای شرایط آب و هوایی خشک و نیمه گرمسیری است که کاشت اکثر محصولات باغی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نبوده در نتیجه درخت انار می‌تواند در چنین شرایطی اهمیت خاصی دارا باشد و در استان‌های حاشیه کویر مرکزی به عنوان یک محصول اقتصادی ارزش ویژه‌ای داشته باشد (بهزادی شهر بابکی، ۱۳۷۷). در حال حاضر ایران با داشتن میزان تولید ۸۳۲۰۰۰ تن بزرگترین تولید کننده و صادر کننده این محصول در سطح جهان بوده و مقام اول جهان را داراست (بی نام، ۱۳۹۱). با توجه به جمع آوری بیش از ۷۶۰ ژنوتیپ انار از مناطق مختلف ایران شامل رقم‌های خوراکی، زینتی و وحشی که هر یک از نظر طعم و مزه، زودرسی، خواص انبارداری، مقاومت به آفات و بیماری‌ها، خشکی، شوری و آفتاب سوختگی دارای صفات ویژه‌ای هستند. ایران دارای متنوع ترین ارقام انار می باشد (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷). این تنوع ژنتیکی گسترده می‌تواند برای تشخیص خصوصیات مطلوب انار بسیار مفید واقع شده و منبع ژنی مناسبی را برای کارهای به نژادی این گیاه فراهم نماید (طالبی بداف، ۱۳۸۱). مناطق کشت انار در دنیا محدود بوده به‌طوری که بیشتر در ایران، افغانستان، ازبکستان، اسپانیا و سواحل جنوبی مدیترانه کشت می‌شود. نوع ترش مزه انار به صورت وحشی در جنگل‌های شمالی ایران به صورت خودرو دیده می‌شود. (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷). در سالهای اخیر علاوه بر ایران در کشورهائی چون ترکیه، افغانستان، پاکستان، هندوستان، ارمنستان، گرجستان، تاجیکستان، آذربایجان، لیبی، لبنان، فلسطین، سودان، برمه، بنگلادش، موریتانی، مراکش، قبرس، یونان، اسپانیا، فرانسه، چین، ژاپن و آمریکا کشت این محصول مرسوم است و در بین کشورهای مذکور بعد از ایران بالاترین سطح زیر کشت و تنوع ارقام انار مربوط به هندوستان، ترکیه و اسپانیا می‌باشد (بی نام، ۱۳۹۱). از سویی دیگر انار علاوه بر مصرف خوراکی به عنوان یکی از ده میوه برتر از لحاظ محتوای فیتوشیمیایی و محصول بازدارنده سرطان در دنیا شناخته شده و مطالعات مختلفی نیز در این زمینه صورت گرفته است (Herber et al., 2006). همه قسمت‌های درخت انار

حاوی پلی فنول‌ها هستند و خاصیت آنتی اکسیدانی[1] دارند. قدرت آنتی اکسیدانی آب انار سه برابر چای سبز است. همچنین پتانسیل آنتی اکسیدانی آب انار از میوه‌های آلو، انگور، پرتغال، گریپ فروت، کیوی، قره قاط، آناناس، سیب و هلو بیشتر است (Herber et al., 2006). آب انار دارای خواص ضدسرطان، ضدالتهاب و ضدتصلب شرایین است. این خواص به پلی فنول‌ها، تانن‌های پلی فنولی گلوکزدار و آنتو سیانین‌ها نسبت داده شده است (Cam et al., 2008). محتوای پلی فنولی محلول در آب انار بین ۰/۲ تا ۱ درصد است. برگ انار نیز حاوی پلی فنول‌ها و تانن‌ها است و خاصیت آنتی اکسیدانی دارد (Herber et al., 2006). برای برگ انار نیز خواص دارویی همچون ضدتومور، ضدباکتری، ضدچاقی و ضداسهال گزارش شده است. محتوای پلی فنولی شامل گالیک اسید و الاجیک اسید نیز برای گل انار گزارش شده است که منجر به خواص آنتی اکسیدانی آن می‌شوند. برای گل انار خواصی همچون کاهش دهندگی قند خون، جلوگیری از عوارض دیابت، محافظت از قلب و عروق و ضد چاقی گزارش شده است (Li et al., 2006). از آنجا که تقاضا برای این میوه به دلیل خصوصیات دارویی فوق العاده آن در حال افزایش است، بنابراین لازم است برنامه‌های اصلاحی جهت برآورده کردن خواسته‌های مصرف کنندگان، تولیدکنندگان و صادرکنندگان آن تدوین شود. یکی از این برنامه‌های اصلاحی شناسایی مسیر بیوسنتز مواد موثره در گیاهان و استفاده از این اطلاعات جهت تولید ارقام برتر با ارزش غذایی و دارویی بالا می‌باشد. یکی از این مواد موثره در انار آنتوسیانین‌ها می‌باشند. رنگ بیرونی انار به عنوان یک صفت کیفی تحت تاثیر آنتوسیانین‌ها و تغییرات نسبی در میزان آن‌ها هستند. بررسی آنتوسیانین‌ها به عنوان یکی از اهداف مهم در برنامه‌های اصلاحی مسئله‌ای دور از ذهن نمی‌باشد. زیرا نقش مثبت آنتوسیانین‌ها روی سلامت امری محرز شده است (Cevallos-Casals et al., 2006). همچنین می‌توان از پروفیل آنتوسیانین در تخمین کیفیت فرآورده‌ها و اصلاح ارقام استفاده نمود (Fan-Chiang et al., 2006). در این پژوهش نیز سعی شده است به بررسی بیان برخی از ژن‌ها و عوامل رونویسی دخیل در مسیر

۱- هر ماده‌ای که وقتی در غلظت‌های کم نسبت به مواد اکسید شونده موجود باشند به طورمعنی داری اکسید شدن آن‌ها را به تعویق می‌اندازد یا متوقف می‌کنند.

بیوسنتز آنتوسیانین به عنوان یک ماده موثره دارویی و به بررسی میزان تاثیر آن‌ها در شدت ایجاد رنگ در پوست ارقام مختلف انار با استفاده از روش RT-PCR[1] پرداخته شود. واکنش RT-PCR یک روش کمی بسیار حساس برای تعیین تعداد کپی اولیه الگوهای PCR از قبیل DNA یا cDNA می‌باشد (Rajeevan et al., 2001). این روش که فقط در حدود نانوگرم از اسید نوکلئیک احتیاج دارد قادر است بیان ژن را در مقادیر خیلی کم از RNA کل حتی در حدود ۳/۰۸ Pg (معادل یک کپی از ژنوم) آنالیز کند (Anonymous, 2004; Freeman, 1999). امروزه روش RT-PCR کاربرد زیادی در زمینه‌های مختلف از جمله تعیین تعداد کپی از هر ژن، سنجش میزان بیان ژن، مطالعات ایمنی زیستی و پایداری ژنتیکی دارد (Peebles et al., 2009).

1- Real time polymerase chain reaction

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- رده بندی انار:

انار درختچه‌ای متعلق به کوچکترین خانواده گیاهی به نام Punicaceae است که این خانواده دارای یک جنس به نام *Punica* و دو گونه به نام‌های *P.granatum* (انار خوراکی) و *P.protopunica* (انارهای غیر خوراکی) می‌باشد.

۱) *P.granatum*: این گونه دو تا سه ردیف برچه دارد. ارقام متنوعی از این گونه در مناطق مختلف کشت می‌شود که هم جنبه خوراکی و هم جنبه زینتی دارند واریته‌های اهلی انار شامل موارد زیر می‌باشد:

P.granatum var sativa, P.granatum var nana, P.granatum var albesence, P.granatum var rasemosa

۲) *P.protopunica*: این گونه یک ردیف برچه دارد. گل‌های آن کوچکتر، صورتی رنگ و دارای شیرینی کمتر نسبت به گونه اول است. این گونه در ایران وجود ندارد و رویشگاه اصلی آن جزایر سوکترا[1] در اقیانوس هند گزارش شده است (اکبر، ۱۳۸۵).

جنس *Punica* ابتدا از نظر رده بندی گیاهی در خانواده Myrtacea قرار گرفته بود اما در بررسی‌های بعدی به علت اختلاف عمده آناتومیک آن را از این تیره جدا کردند و در خانواده Lythraceae طبقه بندی کردند. اما پس از بررسی‌های بنتام[2] و هوکر[3] به دلیل فقدان دستگاه ترشحی داخلی در اندام‌های رویشی، تخمدان منفرد یا یک نهنج و پرچم‌های متعدد از این خانواده جدا شده و در خانواده Punicaceae قرار گرفت (طباطبایی اردکانی، ۱۳۷۷). جایگاه انار در سیستم رده بندی گیاهی به شرح جدول ۲-۱ می‌باشد (قره یاضی، ۱۳۷۳).

1- Socotra
2- Bentham
3- Hooker

جدول ۲-۱ جایگاه انار در سیستم رده بندی گیاهی

Kingdom سلسله	Plant گیاهان
Phyla شاخه	Tracheophyta گیاهان آوندی
	Spermatophyta دانه‌دار
	Phanerogames گیاهان گلدار
Class رده	Angiosperm نهاندانگان
Subclass زیررده	Dicotyledoneae دولپه ای‌ها
Order راسته	Myrtales
Family تیره	Punicaceae
Genus جنس	*Punica*
Species گونه	*P. granatum* L. *P. protopunica* Balf.

۲-۲- خصوصیات رویشی و زایشی انار:

انار درخت یا درختچه‌ای بزرگ، پر شاخ و برگ با پاجوش‌های زیاد و ارتفاع ٦ تا ١٠ متر، دوجنسی و دارای ٨ یا ٩ جفت کروموزوم (١٨ یا 2n=١٦) می‌باشد (بهزادی شهربابکی، ١٣٧٧؛ Ranade et al., 2009). برگ‌های آن کامل با دمبرگ کوتاه بدون کرک و فاقد گوشواره می‌باشند. برگ های جوان انار قرمز حنایی رنگ و برگ‌های کامل آن در قسمت فوقانی سبز تیره و در قسمت تحتانی سبز روشن می‌باشند که گاهی آثاری از رنگ حنایی در آن دیده می‌شود. برگ‌های انار متقابل و گاهی منفرد و تقریبا فراهم می‌باشند. انار در نواحی معتدله و نیمه گرمسیری خزان پذیر ولی در مناطق گرمسیری و مرطوب با زمستان‌های ملایم مانند هندوستان و مناطق جنوب شرقی کشور