

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته بیوتکنولوژی

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام وحشی و برخی ارقام زراعی انار با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP

اساتید راهنما

دکتر غفار کیانی

دکتر علی دهستانی کلاگر

استاد مشاور

مهندس سید حمیدرضا هاشمی

نگارش:

رضا نظیفی گلیردی

بهمن ۱۳۹۱

تقدیم به

اولین آموزگاران علم و دین، پدر و مادرم

به همسرم که الگوی صبر، مهربانی و گذشت است

برادر و خواهر، همراهان همیشگی و پشتوانه های زندگیم.

سپاس بی‌کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش را بنمون مان شد و به بهمنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه‌چینی از علم و معرفت را روزی مان ساخت.

از پدر عزیز و مادر فداکارم به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌شان از کلمه‌ایثار و از خودگذشتی، و به پاس محبت‌های بی‌دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند، بی‌نیامت سپاسگزارم.

سپاسگزارم از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر غفار کیانی و دکتر علی دهستانی که همواره و همه جا اشارات و راهنمایی‌شان چون فانوسی در این تاریک راه، کارگشا و راه‌گشا بود و آنچه کردند برای من همیشه ماندگار. جز آرزوی بهر روزی و پیروزی‌شان بضاعتی ام نیست برای امتنان.

از جناب آقای مهندس هاشمی به پاس بذل لطف و مشاوره‌ی استادان سپاسگزارم و همواره بذل لطف الهی را در کارهایشان مسکنت دارم.

از صبر و بردباری اساتید بزرگوار آقایان دکتر کاظمی تبار و دکتر باقری که زحمات مطالعه و داوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند و نمانده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر شریف که مدیریت جلسه دفاع ام را پذیرفته‌اند، بسیار سپاسگزارم.

رضنا نطفینی کلیردی

بهمن ۱۳۹۱



---

فهرست مطالب

---



فصل اول.....	۱
۱ مقدمه و کلیات.....	۳
۱-۱ مقدمه.....	۳
۲-۱ کلیات.....	۶
۱-۲-۱ پیشینه تاریخی انار.....	۶
۲-۲-۱ مورفولوژی انار.....	۸
۳-۲-۱ گیاه شناسی انار.....	۱۰
۴-۲-۱ سطح زیر کشت انار در جهان و ایران.....	۱۰
۵-۲-۱ اهمیت مطالعه انار.....	۱۱
۶-۲-۱ نشانگر و انواع آن.....	۱۲
۷-۲-۱ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز.....	۱۴
۱-۲-۸ انواع نشانگرهای DNA.....	۱۵
۱-۲-۹ نشانگر AFLP.....	۲۰
۱۰-۲-۱ معیار انتخاب نشانگر به منظور بررسی تنوع ژنتیکی.....	۲۵

- ۱۱-۲-۱ روش های آماری به منظور محاسبه تنوع ژنتیکی ..... ۲۶
- ۱۲-۲-۱ تجزیه واریانس مولکولی ..... ۲۸
- ۲ بررسی منابع ..... ۳۱
- ۳ مواد و روش ها ..... ۳۷
- ۱-۳ مواد گیاهی مورد آزمایش ..... ۳۷
- ۲-۳ استخراج دی.ان.ا ژنومی ..... ۳۸
- ۱-۲-۳ تعیین کیفیت و کمیت دی.ان.ا ..... ۴۰
- ۳-۳ اجرای مراحل AFLP ..... ۴۲
- ۱-۳-۳ هضم دی.ان.ا ژنومی ..... ۴۲
- ۲-۳-۳ اتصال سازگار سازهای دو رشته ای به انتهای قطعه های چسبنده ..... ۴۵
- ۳-۳-۳ تکثیر پیش انتخابی ..... ۴۷
- ۴-۳-۳ تکثیر انتخابی ..... ۵۰
- ۵-۳-۳ برنامه ترموسایکلر برای تکثیر ..... ۵۳
- ۶-۳-۳ واسرشته کردن محصولات پی.سی.آر ..... ۵۴
- ۷-۳-۳ الکتروفورز عمودی (ژل پلی اکریلامید) ..... ۵۵
- ۴-۳ آماده سازی دستگاه الکتروفورز ..... ۵۵
- ۱-۴-۳ آماده سازی ژل ..... ۵۶

- ۳-۴-۲ گرم کردن ابتدایی ژل ..... ۵۶
- ۳-۴-۳ بارگذاری نمونه‌ها ..... ۵۷
- ۳-۴-۴ رنگ آمیزی نیترات نقره ..... ۵۷
- ۳-۵ مشاهده باندها و تجزیه و تحلیل داده‌ها ..... ۵۸
- ۳-۶ تحلیل آماری داده‌ها ..... ۵۹
- ۳-۶-۱ امتیازدهی باندها ..... ۵۹
- ۳-۶-۲ ضرایب مبتنی بر داده‌های صفر و یک به منظور تشکیل ماتریس شباهت ..... ۶۰
- ۳-۶-۳ انتخاب الگوریتم گروه‌بندی ..... ۶۰
- ۳-۶-۴ بررسی کارایی الگوریتم و ضرایب ماتریس تشابه ..... ۶۱
- ۵-۶-۴ Bootstrapping ..... ۶۱
- ۳-۶-۶ آزمون مانتل ..... ۶۱
- ۳-۶-۷ تجزیه به مولفه‌های اصلی ..... ۶۲
- ۳-۶-۸ تجزیه واریانس مولکولی AMOVA ..... ۶۲
- ۳-۶-۹ شاخص‌های مورد بررسی ..... ۶۲
- ۴ نتایج و بحث ..... ۶۶
- ۴-۱ نتایج استخراج دی.ان.ا. ..... ۶۶
- ۴-۲ نتایج مرحله هضم دی.ان.ا. ..... ۶۶

۶۷	..... ۳-۴ نتایج مرحله پیش انتخابی
۶۸	..... ۴-۴ نتایج مرحله انتخابی
۶۸	..... ۵-۴ تجزیه و تحلیل داده‌های نشانگر ا.اف.ال.پی
۷۰	..... ۶-۴ مقایسه قطعات تکثیر شده مربوط به ترکیبات آغازگری مختلف
۷۱	..... ۷-۴ ظرفیت اطلاعات چندشکلی
۷۳	..... ۸-۴ تجزیه خوشه‌ای
۷۳	..... ۱-۸-۴ محاسبه بهترین ضریب تشابه و الگوریتم خوشه‌بندی
۷۴	..... ۲-۸-۴ تحلیل ماتریس تشابه
۷۴	..... ۳-۸-۴ رسم دندروگرام و انتخاب بهترین تعداد خوشه
۷۶	..... ۴-۸-۴ آزمون صحت دندروگرام با استفاده از تکنیک Bootstrapping
۷۷	..... ۹-۴ تجزیه به مولفه‌های اصلی
۸۴	..... ۱۰-۴ پیشنهادات
۸۶	..... ۵ فهرست منابع مورد استفاده





---

فهرست اشکال

---



- شکل ۱-۱: بعضی از فرم‌های میوه انار..... ۹
- شکل ۲-۱: مراحل اصلی واکنش زنجیره ای پلیمرز..... ۱۵
- شکل ۳-۱: مراحل تکنیک AFLP..... ۲۳
- شکل ۴-۱: معیارهای لازم برای انتخاب نشانگر مناسب در بررسی تنوع..... ۲۵
- شکل ۱-۳: نقشه مکان‌های مختلف نمونه برداری..... ۳۷
- شکل ۲-۳: پروفایل الکتروفورز ژل آگارز مربوط به دی.ان.ا رقیق شده ژنومی ۴۲ ژنوتیپ انار..... ۴۳
- شکل ۳-۳: پروفایل ژل الکتروفورز مرحله پیش انتخابی مربوط به نمونه انار..... ۵۰
- شکل ۱-۴: پروفایل ژل الکتروفورز دی.ان.ا استخراجی بر روی ژل آگارز ۰/۷ درصد..... ۶۶
- شکل ۲-۴: پروفایل ژل مربوط به هضم دی.ان.ا ژنومی به همراه ۵۰۰ نانوگرم نمونه‌های شاهد..... ۶۷
- شکل ۳-۴: پروفایل ژل اکریلامید مربوط به مرحله انتخاب بهترین ترکیب آغازگری (۱۶ ترکیب)..... ۶۹
- شکل ۴-۴: پروفایل ژل اکریلامید مربوط به ترکیب آغازگری E-ACC, M-CTC..... ۷۰
- شکل ۵-۴: گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گیاه انار با استفاده از نشانگر AFLP..... ۷۶
- شکل ۶-۴: نمایش دو بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس مولفه اول و دوم داده‌های AFLP..... ۷۸
- شکل ۷-۴: نمایش سه بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس سه مولفه اول داده‌های AFLP..... ۷۹



---

فهرست جداول

---



- جدول ۲-۳: واکنش هضم آنزیم *ECORI* ..... ۴۳
- جدول ۳-۳: واکنش هضم توسط آنزیم برشی *MSE1* ..... ۴۴
- جدول ۴-۳: شرایط انجام واکنش اتصال ..... ۴۶
- جدول ۵-۳: توالی همه اولیگونوکلوئوتیدهای مورد استفاده تا مرحله پیش انتخابی ..... ۴۸
- جدول ۶-۳: شرایط انجام واکنش مرحله پیش انتخابی ..... ۴۹
- جدول ۷-۳: برنامه ترموسایکلر مرحله پیش انتخابی ..... ۴۹
- جدول ۸-۳: ترکیبات آغازگری مورد استفاده در مرحله تکثیر انتخابی ..... ۵۲
- جدول ۹-۳: شرایط انجام واکنش مرحله تکثیر انتخابی ..... ۵۳
- جدول ۱۰-۳: برنامه ترموسایکلر مرحله تکثیر انتخابی ..... ۵۴
- جدول ۲-۴: ضرایب کوفتیک حاصل از الگوریتمها با ضرایب تشابه ..... ۷۴
- جدول ۳-۴: تجزیه به مولفه‌های اصلی مربوط به نشانگر *AFLP* ..... ۷۷
- جدول ۴-۴: مقایسه واریانس درون و بین گروه‌ها بر اساس *AMOVA* ..... ۸۰



---

فهرست پیوست

---



- پیوست ۱: پروفایل ژل الکتروفورز دی. ان. ا. استخراجی بر روی ژل آگارز ۰/۷ درصد..... ۹۴
- پیوست ۲: پروفایل ژل مربوط به هضم دی. ان. ا. ژنومی ..... ۹۴
- پیوست ۳: پروفایل ژل اکریلامید مربوط به مرحله انتخاب بهترین ترکیب آغازگری ..... ۹۵
- پیوست ۴: پروفایل ژل اکریلامید مربوط به ترکیب آغازگری E-ACC, M-CTC ..... ۹۶
- پیوست ۵: ماتریس ضرایب تشابه جاکارد بر اساس داده‌های حاصل از AFLP ..... ۹۷
- پیوست ۶: گروه بندی ژنوتیپ‌های گیاه انار با استفاده از نشانگر AFLP ..... ۹۸
- پیوست ۷: نمایش سه بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس سه مولفه اول داده‌های AFLP ..... ۹۹
- پیوست ۸: بافر شستشو برای استخراج DNA ..... ۱۰۰
- پیوست ۹: بافر استخراج CTAB ..... ۱۰۰
- پیوست ۱۰: بافر TE ..... ۱۰۱
- پیوست ۱۱: تهیه محلول‌های پایه ..... ۱۰۱
- پیوست ۱۲: طرز تهیه ژل اکریل آمید ۶ درصد ..... ۱۰۱
- پیوست ۱۳: طرز تهیه محلول بایند ساین ..... ۱۰۲
- پیوست ۱۴: محلول APS ده درصد ..... ۱۰۲

پیوست ۱۵: طرز تهیه محلول TBE۵X..... ۱۰۲

پیوست ۱۶: محلول تثبیت کننده..... ۱۰۲

پیوست ۱۷: محلول رنگ آمیزی..... ۱۰۳

پیوست ۱۸: محلول ظهور..... ۱۰۳

## چکیده:

انار (*Punica granatum L.*) گیاهی بومی ایران می‌باشد که از دوران باستان برای مصارف اقتصادی، زینتی و دارویی در دنیا کشت شده است. به رغم اینکه انار از مهمترین محصولات صادراتی ایران به شمار می‌رود، اما هیچگونه روش دقیقی برای تعیین اصالت ژنتیکی و حفظ ذخایر توارثی گرانبهای آن در کشور وجود ندارد. در پژوهش حاضر برای بررسی روابط ژنتیکی ۴۷ ژنوتیپ انار، شامل ۹ ژنوتیپ زراعی و ۳۸ ژنوتیپ وحشی که از مناطق مختلف استان مازندران، گیلان و گلستان گردآوری شده بود از نشانگر AFLP استفاده گردید. با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری تعداد ۸۲۵ نوار (باند) بدست آمد، که تعداد ۶۹۷ نوار چندشکلی نشان دادند. از بین آغازگرهای مورد استفاده، ترکیب آغازگری E-ACG , M-CTT با ۱۴۸ نوار بیشترین تعداد نوار و ترکیب آغازگری E-ACC , M-CTG با ۴۰ نوار کمترین تعداد نوار را تولید کردند. مقدار متوسط محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برای تمامی آغازگرها برابر با ۰/۲۱ بدست آمد. بر اساس تجزیه مولفه های اصلی، سه مولفه اول در مجموع ۵۷٪ واریانس کل را توجیه کردند. متوسط شاخص نشانگر (MI) برابر ۱۷/۳۳ می‌باشد که بیشترین آن مربوط به ترکیب آغازگری E- و M-CAC می‌باشد براساس دندوگرام مربوط به داده‌های حاصل از نشانگر AFLP نمونه‌ها در ۵ گروه مجزا قرار گرفتند. تنوع درون گروهی ۴۷ ژنوتیپ با ۸۵٪ از کل واریانس درون جمعیتی، نشان‌دهنده ناهمگنی و تنوع بالای بین نمونه‌ها می‌باشد، در گروه‌بندی ناحیه‌ای واریانس بین گروه‌ها ۱۵٪ تنوع کلی را بیان می‌کند که این نشان‌دهنده همگنی بین سه ناحیه گلستان، مازندران، گیلان و ارقام زراعی است. کمترین و بیشترین تنوع درون گروهی مربوط به ارقام زراعی و ارقام وحشی مازندران به ترتیب با واریانس ۱۶٪ و ۳۶٪ از کل واریانس درون جمعیتی را داراست، می‌باشد. میانگین نمونه‌های مورد آزمون ۰/۵۴ بود که به وضوح نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بین نمونه‌های وحشی است

**کلید واژه:** تجزیه واریانس مولکولی، تنوع ژنتیکی، انار، AFLP



فصل اول

مقدمه و کلیات

## ۱ مقدمه و کلیات

### ۱-۱ مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum L.* درختچه‌ای پر شاخ و برگ با پاجوش‌های زیاد، بدون کرک، با شاخه‌های نامنظم و کم و بیش خاردار و نیمه برگریز می‌باشد که در اقلیم‌های گرمسیری و مدیترانه‌ای ارتفاع آن به دو تا پنج متر می‌رسد (رنجبر، ۱۳۸۱). خانواده انار شامل یک جنس *Punica* و دو گونه *granatum* (بومی ایران) و گونه *protoponica* (بومی سوکوترا در اقیانوس هند) می‌باشد. تمام ارقام خوراکی و زینتی انار جزء گونه *granatum* محسوب می‌شوند. امروزه این گیاهان در اکثر نقاط دنیا به ویژه اسپانیا، یونان، مراکش، افغانستان، هندوستان، چین، ژاپن، ترکمنستان و ازبکستان کشت می‌شود (وزوایی، ۱۳۶۷). شواهد تاریخی دال بر این است که ایران مرکز تنوع و پیدایش انار بوده است (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷). همچنین ایران بزرگترین تولید کننده و صادر کننده انار در دنیاست و سطح زیرکشت آن در کشور ۶۴۰۰۰ هکتار و میزان تولید آن ۷۰۵۰۰۰ تن با متوسط عملکرد حدود ۸/۷ تن در هکتار می‌باشد (آمارنامه سازمان جهاد کشاورزی، ۸۴-۸۳).

هرچند تعداد گونه‌های جنس *Punica* بسیار کم است، اما تنوع مورفولوژیکی بسیار بالایی در داخل ارقام و ژنوتیپ‌های موجود در کشور مشاهده می‌شود. برای اجرای موفق یک پروژه اصلاحی آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما ضروری است. مسئله مهم در بررسی تنوع ژنتیکی این است که ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ ژنتیکی چقدر با یکدیگر متفاوت می‌باشند و همچنین چه مقدار تنوع در داخل گونه‌ها وجود دارد (بوتلین و تریگنزا، ۱۹۹۸). میزان و چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، منعکس کننده برهمکنش فرایندهای تکاملی مختلف مانند جریان ژنی، موتاسیون، رانده شدن ژنتیکی و انتخاب طبیعی می‌باشند. آگاهی از تنوع ژنتیکی یک گونه می‌تواند به اصلاحگر برای چگونگی جمع آوری و استفاده از منابع ژنتیکی

مختلف و پیش بینی فواید ژنتیکی بالقوه، در برنامه‌های اصلاحی کمک کند. از طرفی به رغم اینکه اغلب محصولات باغبانی جزء مهمترین محصولات صادراتی ایران به شمار می‌روند،<sup>۱۰</sup> اما هیچگونه شناسنامه دقیقی برای تعیین اصالت ژنتیکی و حفظ حقوق مالکیت این ذخایر توارثی گران‌بها در کشور وجود ندارد.

تولید مواد گیاهی گواهی شده در درختان میوه نیاز به استفاده از تکنیک‌های سریع و قابل اطمینانی برای شناسایی ژنوتیپ‌های جدید و قدیم دارد. روش‌های قدیمی برای شناسایی ارقام و منابع بر پایه‌ی مشاهدات فنوتیپی بوده‌اند، اما بدلیل دوره رشد طولانی درختان میوه و اینکه در معرض تغییرات محیطی قرار دارند، این روش‌ها خیلی قابل اتکا نیستند. امروزه تعیین اصالت ژنتیکی محصولات باغی از سطح مورفولوژی و فنولوژی فراتر رفته و بوسیله روش‌های نوین بیوتکنولوژی در سطح ژنوتیپ گیاه (DNA<sup>۱</sup>) صورت می‌گیرد.

در حال حاضر با بکارگیری همزمان اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی امکان تعیین دقیق هویت ارقام مهم باغی کشور میسر شده است. استفاده از روش‌های جدید در برنامه‌های شناسایی ارقام، فرایند شناسایی را بوسیله انگشت نگاری هر ژنوتیپ در هر مرحله رشدی و بطور مستقل از فاکتورهای محیطی تسریع می‌کند.

نشانگرهای AFLP، RFLP، RAPD و اخیراً SSRها و ISSRها بطور گسترده‌ای در این امر مورد استفاده قرار گرفته‌اند (دونمان، ۱۹۹۴). نشانگر چندشکلی طول قطعات حاصل از تکثیر (AFLP) در سال ۱۹۹۵ توسط وس و همکاران معرفی شد. آنان مدعی بودند که نشانگر مذکور، علاوه بر دارا بودن مزایای RFLP، مثل دقت و تکرارپذیری دارای ویژگی‌های مثبت روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز می‌باشد. این نشانگر نیز ابزاری موثر برای مطالعه تنوع و ارتباط ژنتیکی میان افراد گونه‌ها و اعضای سلسله گیاهی به شمار می‌رود افزون بر این، این روش کارایی زیادی برای مطالعات فیلوژنی، نقشه یابی پیوستگی ژن‌ها و شناسایی ارقام دارد.

---

<sup>۱</sup> Deoxy nucleic acid



نظر به اهمیت فوق العاده این گیاه ارزشمند و با توجه به اینکه این گیاه بومی ایران می‌باشد، تهیه شناسنامه مولکولی برای ارقام و ژنوتیپ‌های موجود در کشور گام ارزنده‌ای در شناسایی و حفظ ذخایر توارثی خواهد بود. تحقیق حاضر با توجه به اهمیت انار به عنوان یک محصول تجاری خوراکی و داروئی و بررسی تنوع ژنتیکی در آن طراحی گردید. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین این دسته‌ها از نشانگر AFLP استفاده شد و انتظار می‌رود از ترکیب آغازگری شناخته شده در این پژوهش بتوان به عنوان ابزار قدرتمندی در شناسایی روابط و خویشاوندی موجود در بین ژنوتیپ‌های انار استفاده نمود.

## ۲-۱ کلیات

### ۱-۲-۱ پیشینه تاریخی انار

انار از زمان‌های قدیم در ایران کشت می‌شده است. برطبق نظریه دکاندول و بنا بر شواهد موجود انار بومی ایران و کشورهای هم‌جوار می‌باشد و به طور طبیعی، به تدریج در مناطق آسیای مرکزی تا هیمالیا، خاورمیانه، آسیای صغیر و حوزه مدیترانه گسترش یافته است (وزوئی، ۱۳۷۷). پراکندگی وسیع انارهای وحشی در سواحل دریای خزر و همچنین جنگل‌های جلگه‌ای و نقاط استپی مانند جنگل‌های غرب در لرستان، کردستان، چهارمحال و بختیاری، فارس، بلوچستان و در دامنه‌های جنوبی البرز، در دره‌های شرق و غرب منجیل و دره لوشان تأییدی بر این مطلب است. گل و میوه انار برای کارتاژی‌ها (فینیقیه‌ها) جنبه تقدس داشته و با این انگیزه از انار، باغ‌هایی ایجاد نموده بودند. آنان انار را مالوس پونیکوس یا سیب کارتاژ می‌نامیدند. هومر، شاعر یونانی در قرن هفتم قبل از میلاد از درخت انار در کتاب ادیسه نام برده است. یونانیان قدیم بر این عقیده بودند که آفرودیت الهه عشق، این گیاه را در یونان کاشته و وجود آن سبب گشایش و فراوانی می‌گردد. تئوفراست، پدر علم گیاه‌شناسی، ۳۰۰ سال قبل از میلاد حضرت مسیح (ع) بر درخت انار شرح نگاشته است. در انجیل آمده که سلیمان نبی باغی از انار داشته است. از انار در قرآن مجید نیز به دفعات یاد شده است (آیات ۹۹ و ۱۴۱ سوره انعام و آیه ۶۸ الرحمن). انار در بین مسلمانان به میوه بهشتی معروف است و همچنین در کلام معصومین (ع) از آن یاد شده است (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷؛ شاکری، ۱۳۸۲).

واویلوفا دانشمند روسی مرکز تنوع گیاهان مختلف را به هشت منطقه تقسیم نمود و معتقد بود که مراکز تنوع، خواستگاه پیدایش گیاهان نیز می‌باشند. ایران در طبقه‌بندی واویلوفا جزء مرکز شماره چهار قرار دارد و مبدأ بسیاری از میوه‌های معتدله، نیمه گرمسیری از جمله انار، گیلاس، گردو، بادام، به و انجیر ذکر گردیده است. بنا به نوشته مورخین انار به همراه انگور و انجیر در ایران باستان تحت کشت و کار بوده است و خوراکی آن حتی قبل از اینکه خواص میوه‌هایی چون بادام، هلو و زردآلو برای مردم آن زمان روشن باشد، شناخته شده بود. میزان سطح زیرکشت، پراکندگی و تنوع ارقام، کمیت و کیفیت محصول، آشنایی کشاورزان به مسائل کاشت، بومی این مرز و بوم می‌باشد (وزوئی، ۱۳۶۷). داشت و برداشت و شیوه انبارداری سنتی همگی گویای این واقعیت است که انار اولین بار احتمالاً از طریق ایران توسط جهانگردان و بازرگانان به یونان راه یافته و از طرف مشرق توسط شخصی به نام چانگ از طریق سمرقند و هندوستان به چین و توسط دریانوردان رومی به اروپا و آفریقا برده شد. در عین حال برخی از مورخین انتقال درخت انار و گسترش آن در سطح قاره اروپا را به مسلمانان شهر گرانا‌دا در اسپانیا نسبت می‌دهند. لازم به ذکر است که نام انگلیسی میوه انار از نام این شهر مشتق شده است و عرب‌های مسلمان پس از فتح سرزمین اسپانیا، کشت انار را در آنجا معمول کردند. انار در سال ۱۵۲۱ میلادی به وسیله مبلغین مذهبی به مکزیک و در سال ۱۷۲۹ میلادی به کالیفرنیا آمریکا برده شد. در سال‌های بعد همزمان با پیشرفت تمدن و انتقال ارقام مرغوب، سطح زیر کشت آن در بسیاری از کشورها توسعه چشمگیری یافت و هم‌اکنون در ۳۵ کشور جهان با سطح زیرکشت متفاوت و در پاره‌ای موارد به صورت تک درخت وجود دارد (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷).

## ۱-۲-۲ مورفولوژی انار

انار درخت یا درختچه‌ای است پر شاخ و برگ با شاخه‌های نامنظم، کم و بیش خاردار و پاجوش‌های زیادی که در مناطق سردسیری و نیمه گرمسیری به صورت خزان‌کننده و در نواحی گرمسیری به صورت همیشه سبز بوده و به ارتفاع دو تا پنج متر می‌رسد ولی چنانچه بصورت تک تنه هرس شود یا در داخل درختان جنگلی و گودی رودخانه‌ها قرار گیرد، ارتفاع آن به ۱۲ متر هم می‌رسد (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷).

برگ‌های انار کشیده، باریک، متناوب، گل‌ها دو جنسی با دُمگل، بصورت منفرد و دستجات ۲ تا ۱۵ تایی بهم چسبیده روی درخت مشاهده می‌شوند. دارای ۵ تا ۷ کاسبرگ، گلبرگ‌ها دارای قاعده‌ای باریک بوده که به دیوار داخلی نهنج چسبیده و تعداد آن‌ها مساوی دندان‌های کاسه گل می‌باشد. گلبرگ‌ها بعد گرده افشانی می‌ریزند. در حالیکه کاسبرگ‌ها عضو دائمی در گل و میوه هستند. پرچم‌ها به تعداد زیاد روی دیسکی به صورت قاعده قرار گرفته‌اند. گل‌ها دارای دو فنوتیپ متفاوت می‌باشند. نوع اول گل‌های مثر با مادگی بلند و بطری شکل، که تکامل می‌یابند و به میوه تبدیل می‌شوند و دیگری گل‌های غیر مثر با مادگی کوتاه، که شیپوری شکل (زنگوله‌ای) و تکامل نیافته هستند و می‌ریزند. در گل‌های مثر قسمت انتهایی دم گل از همان اوایل ظهور کاملاً برجسته است. در حالیکه این موضوع در گل‌های زنگوله‌ای یا غیرمثر کاملاً حالت معکوس دارد. تعداد گل‌های زایا نیز به مراتب کمتر از گل‌های نازا بوده و به صورت‌های منفرد و مجموعه‌ای در اوایل شروع گلدهی و گاهی تا زمان برداشت میوه روی درخت دیده می‌شوند. انار درخت بسیار پرگلی است که تعداد معدودی از گل‌های مثر آن تبدیل به میوه شده و بقیه می‌ریزند. از گل‌های ظاهر شده روی درخت (مثر و غیرمثر) حدود ۵ درصد تبدیل به میوه می‌شوند. گل‌ها ۴۰ تا ۶۰ روز پس از شروع فصل رشد در سه تا چهار سری به فواصل ۱۰ تا ۱۵ روز از همدیگر باز می‌شوند. از نظر زمانی سری اول گل‌ها که در روی