Archive of SID

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۶، شماره ۲، صفحه ۳۱۶-۳۰۵ (۱۳۹۹)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.127522.2625
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1399.36.305.100.2.1575.1606

ارزیابی روابط ژنتیکی و فیتوشیمی جمعیت‌های *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. در رویشگاه‌های طبیعی یزد و کرمان

سمیرا حسین‌جعفری[1*] و امیر سعادت‌فر[2]

۱*- نویسنده مسئول، پژوهشگر پسادکتری، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران
پست الکترونیک: Samirahosseinjafari@yahoo.com
۲- استادیار، گروه گیاهان دارویی، پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۸

چکیده

Bunium persicum (Boiss.) B. Fedtsch. متعلق به تیره چتریان از مهمترین گیاهان دارویی کشور محسوب می‌شود. در این مطالعه روابط ژنتیکی و فیتوشیمیایی برخی جمعیت‌های این گیاه با نشانگر ISSR و روش GC-MS در رویشگاه‌های یزد و کرمان بررسی شد. به‌منظور مطالعه ژنتیکی با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR، نمونه‌برداری از برگ‌های تازه گیاه انجام گردید. استخراج DNA به روش CTAB انجام شد. برای بررسی فیتوشیمیایی، استخراج اسانس از بذرهای زیره به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. نتایج حکایت از عملکرد بهتر آغازگر ISSR-13 با تعداد ۴۰ باند، بیشترین میزان PIC (۰/۳۹) و شاخص نشانگری (۱۵/۶) داشت. تجزیه خوشه‌ای با ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA چهار جمعیت زیره کرمانی مربوط به دو استان را در ۶ گروه قرار داد. در تجزیه به مختصات اصلی ۶۰/۵۶٪ از واریانس کل توسط سه مؤلفه بیان شد و جمعیت‌ها را به‌طور کامل از یکدیگر جدا نمود. نتایج این آنالیز با تجزیه خوشه‌ای و پراکندگی جغرافیایی نمونه‌ها مطابقت داشت. براساس نتایج GC-MS، به‌ترتیب تعداد ۱۳ و ۱۶ ترکیب در هریک از رویشگاه‌های یزد و کرمان شناسایی شد. ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن، پارا-سیمن، لیمونن، گاما-ترپینن و کومین‌آلدئید به‌عنوان ترکیب‌های مشترک و اصلی بین رویشگاه‌های یزد و کرمان شناسایی شدند. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای پارامترهای فیتوشیمی و قرار گرفتن رویشگاه‌های سیرجان (استان کرمان)، مهریز و اردکان (استان یزد) در یک خوشه و رویشگاه سیرچ در خوشه جداگانه می‌توان نتیجه گرفت که گروه‌بندی براساس ترکیبات اسانس با گروه‌بندی ژنتیکی و فاصله جغرافیایی موجود در رویشگاه‌های طبیعی مطابقت ندارد.

واژه‌های کلیدی: زیره کرمانی (*Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.)، ارزیابی ژنتیکی، نشانگر ISSR، فیتوشیمی، آنالیز خوشه‌ای.

مقدمه

جنس *Bunium* متعلق به تیره چتریان بوده که در ایران ۱۴ گونه دارد و مشهورترین آنها *B. persicum* یا زیره کرمانی است (Sefidkon *et al*., 2010). زیره کرمانی گیاهی چندساله، غده‌دار و معطر بوده، یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی قابل استفاده در صنایع مختلف دارویی و

www.SID.ir

Archive of SID

غذایی در جهان می‌باشد و در بیشتر مناطق ایران ازجمله یزد و کرمان در ارتفاعات ۱۸۰۰ تا ۳۱۰۰ متر پراکنش دارد (Haghiroalsadat *et al*., 2015). در طب سنتی دارای خواصی همانند ضدتشنج، مقوی معده، کاهنده چربی و کلسترول خون، ضدآلرژی و افزایش‌دهنده شیر مادران است (Abduganiew *et al*., 1997؛ Bahador *et al*., 2009؛ Amiri & Biraminia, 2014). دانه گیاه غنی از اسانس گیاهیست. ترکیب‌های مختلف در اسانس زیره کرمانی اغلب از ترکیب‌های ترپنی بوده و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Burt, 2004؛ Taherkhani *et al*., 2015). به‌طور کلی نوع و میزان ترکیب‌های موجود در اسانس گیاهان علاوه‌بر عوامل ژنتیکی، توسط فاکتورهای محیطی نیز کنترل می‌شود (Moghtader *et al*., 2009؛ Baghizadeh *et al*., 2018). پایه و اساس تمام برنامه‌های اصلاحی، بررسی ژنتیکی و آگاهی از فاصله ژنتیکی گیاهان می‌باشد که سازگاری و بقای جمعیت‌های گیاهی را تضمین می‌کند (Barrandeguy & Garcia, 2014؛ Zabet *et al*., 2019). روش‌های مولکولی روش مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاهان دارویی و حفاظت از ژرم‌پلاسم آنها می‌باشد (Paterson *et al*., 1988؛ Ashraf *et al*., 2016؛ Singh *et al*., 2016). از نشانگرهای مولکولی که امروزه به‌طور گسترده برای تعیین روابط ژنتیکی بکار می‌روند، نشانگر مولکولی ISSR است. یک روش مبتنی بر PCR، سریع، قابل اعتماد و کم‌هزینه برای ارزیابی روابط خویشاوندی گیاهان بوده (Torabi-Giglou *et al*., 2015؛ Stevens *et al*., 2015؛ Brito *et al*., 2016) و دارای ویژگی‌هایی از قبیل چندمکانی بودن، چندشکلی نسبتاً بالا و عدم نیاز به اطلاعات قبلی در مورد توالی ژنومی برای طراحی آغازگر است (Ng & Tan, 2015؛ Araujo *et al*., 2016). از آنجایی که اصلاح گیاهان دارویی با هدف افزایش کمّیت و کیفیت مواد مؤثره آنها انجام می‌شود، بنابراین اولین قدم بررسی آنها از لحاظ ژنتیکی و مواد مؤثره آنهاست (Azimzadeh *et al*., 2014). چنین تحقیقاتی در مورد گیاهان متعلق به تیره چتریان به‌ویژه زیره کرمانی که کاربرد وسیعی در صنایع مختلف دارد، بسیار حائز اهمیت است. در رابطه با تنوع ژنتیکی و فیتوشیمیایی گیاهان تیره چتریان و زیره کرمانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف، تحقیقاتی انجام شده است (Dehghan Kouhestani *et al*., 2009؛ Modareskia *et al*., 2012؛ Amiri & Biraminia, 2014؛ Parashar *et al*., 2014؛ Smith *et al*., 2015؛ Haghiroalsadat *et al*., 2015؛ Zanganeh *et al*., 2016؛ Salami *et al*., 2017). در پژوهشی دیگر تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های گیاه *Carum carvi* در ایران با نشانگر RAPD و ISSR مطالعه شد. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی را در سه گروه مختلف طبقه‌بندی کرد که تا حدودی با موقعیت جغرافیایی آنها انطباق داشت (Janipour *et al*., 2017). محققان در مطالعات مربوط به فیتوشیمی زیره کرمانی، ترکیب‌های عمده تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه در مناطق مختلف را گاما-ترپینن، کومین‌آلدئید و پارا-سیمن گزارش نمودند (Baser *et al*., 1997؛ Moghtader *et al*., 2009؛ Amiri & Biraminia, 2014). با توجه به اینکه زیره کرمانی از مهمترین گیاهان دارویی کشور محسوب می‌شود، لازم است بررسی‌های مقدماتی در رابطه با تنوع ژنتیکی و فیتوشیمیایی آن انجام شود تا بتوان از اطلاعات حاصل در برنامه‌های به‌نژادی برای بدست آوردن حداکثر محصول با بهترین کیفیت استفاده نمود. البته تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با روابط ژنتیکی و فیتوشیمیایی زیره کرمانی (*Bunium persicum*) بین استان‌های یزد و کرمان انجام نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین مؤثرترین نشانگر ISSR و مقایسه دندروگرام‌های حاصل از ارزیابی ژنتیکی و ترکیبات شیمیایی جمعیت‌های این گیاه در استان‌های یزد و کرمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۴ رویشگاه طبیعی زیره کرمانی در استان یزد و کرمان انتخاب شد (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه زیره کرمانی (***Bunium persicum***) در استان‌های یزد و کرمان

جمعیت‌ها	شهرستان محل جمع‌آوری	مختصات جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	بارندگی (mm)
یزد	اردکان- گزستان (Y2)	۳۲ ۳۰'N و ۵۴ ۳۲' E	۲۲۰۰	۱۵۰
	مهریز- مسیر کنجکوه (Y1)	۳۱ ۴۹'N و ۵۴ ۳۴' E	۲۳۰۰	۱۴۰
کرمان	سیرجان- کوه خواجو (K2)	۲۹ ۰۷'N و ۵۵ ۳۷' E	۲۶۰۰	۱۳۵
	کرمان- سیرچ (K1)	۳۰ ۲۹'N و ۵۶ ۳۳' E	۲۲۰۰	۱۱۰

بررسی ژنتیکی

به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی، نمونه‌برداری از ۲۰ نمونه برگ‌های تازه زیره کرمانی متعلق به چهار رویشگاه در بهار سال ۱۳۹۷ انجام گردید و بلافاصله در ازت مایع قرار داده شد. در آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی در دانشگاه شهید باهنر کرمان، استخراج DNA به روش CTAB انجام شد. کمّیت DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز با ژل آگارز ۱/۵٪ تعیین شد. در این مطالعه از ۱۰ آغازگر ISSR تهیه شده از شرکت سیناکلون استفاده شد که مشخصات آنها در جدول ۲ ارائه شده است. هر مخلوط واکنش PCR، شامل ۶/۵ µl DNA با غلظت ۱۰ ng/µl، ۱ µl آغازگر ISSR Pmol/µl ۱۰ و ۷/۵ µl مستر میکس 2X (شرکت Ampliqon) بود. برنامه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) بدین صورت انجام شد: واسرشت اول DNA در دمای ۹۴°C (۲ دقیقه)، ۳۵ دوره در دمای ۹۴°C (۳۰ ثانیه)، ۵۵°C (۱ ثانیه)، کاهش دما تا ۵۲°C با سرعت ۰/۵ درجه در ثانیه، اتصال آغازگر به DNA تک‌رشته‌ای، کاهش دما تا ۵۲°C (۴۵ ثانیه)، بسط آغازگر در دمای ۷۲°C (۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه)، تکمیل بسط در دمای ۷۲°C (۲۰ دقیقه). سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری بخش ژنتیکی

باندهای واضح و دقیق حاصل از هر آغازگر، برحسب وجود (۱) یا عدم وجود (۰) امتیازدهی شدند. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار NTedit به ماتریس تبدیل شد. آزمون تطابق منتل به‌منظور انتخاب بهترین الگوریتم و ضریب تشابه انجام شد، بدین صورت که با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc، ضرایب تشابه Jaccard، Simple Matching (SM) و Dice با الگوریتم‌های UPGMA، Single (Slink) و Complete linkage (Clink) محاسبه شد و دندروگرام هر ماتریس با روش‌های مذکور ترسیم شد. از ضریب همبستگی کوفنتیک برای انتخاب بهترین روش خوشه‌بندی و ضریب تشابه استفاده شد. از نرم‌افزار GenALEx برای به‌دست آوردن تجزیه به مختصات اصلی و آزمون آنالیز واریانس مولکولی استفاده گردید. از نرم‌افزار Pop Gene برای تجزیه‌وتحلیل پارامترهای مربوط به کل آلل‌های جمعیت‌ها ازجمله تعداد آلل‌های مؤثر، تعیین محتوای اطلاعات چندشکلی و فراوانی آللی استفاده شد.

بررسی فیتوشیمیایی

بذرهای زیره کرمانی در خردادماه سال ۱۳۹۷ از رویشگاه‌های مورد نظر جمع‌آوری گردید و در شرایط سایه خشک شد. استخراج اسانس از نمونه‌ها به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس حاصل با سولفات‌سدیم خشک آبگیری گردید. برای آنالیز اسانس از دستگاه کروماتوگراف مدل 6890 کوپل شده با طیف‌سنج جرمی مدل 5973N- ساخت شرکت Agilent استفاده شد. این دستگاه مجهز به ستون موئین HP-5MS (طول

www.SID.ir

Archive of SID

۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت می‌باشد. برنامه‌ریزی دمایی در ابتدا دمای آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و پس از آن با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تا دمای ۲۴۶ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. شناسایی ترکیب‌ها توسط اندیس بازداری، مقایسه طیف‌ها با اطلاعات کتابخانه رایانه‌ای دستگاه و طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد کتاب Adams (۲۰۰۷) انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری بخش فیتوشیمی

برای بررسی شباهت و فاصله جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از ترکیب‌های اصلی اسانس، تجزیه خوشه‌ای با روش Ward و معیار گروه‌بندی مربع فاصله اقلیدسی انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی روابط ژنتیکی بین ۴ جمعیت مورد بررسی از یزد و کرمان با استفاده از ۱۰ آغازگر انتخاب شده، تنوع ژنتیکی معنی‌داری را بین جمعیت‌ها آشکار نمود. تعداد ۱۰ آغازگر در مجموع ۱۹۲ نوار قابل امتیازدهی ایجاد کردند. درصد چندشکلی تمام آغازگرها ۱۰۰٪ بود. بالاترین تعداد باند توسط آغازگر ISSR-13 (۴۰ باند) و کمترین تعداد باند توسط آغازگر ISSR-58 (۳ باند) تولید شد. اندازه باندهای ایجاد شده در محدوده ۱۱۰۰-۱۰۰ جفت باز بود. آغازگر ISSR-13 بالاترین میزان PIC (۰/۳۹) و MI (۱۵/۶) را داشت. بر این اساس آغازگر ISSR-13 بالاترین قدرت تفکیک چندشکلی و تنوع را دارد (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای ISSR مورد استفاده برای بررسی روابط ژنتیکی گیاه *Bunium persicum*

نام آغازگر	توالی (′۳→ ′۵)	دمای اتصال بهینه شده (°C)	نسبت باندهای چندشکلی	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	شاخص نشانگری (MI)
ISSR-12	AGAGAGAGAGAGAGAGT	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۷/۷	۰/۱۹	۱/۳۳
ISSR-13	AGAGAGAGAGAGAGAGG	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۴۰/۴۰	۰/۳۹	۱۵/۶
ISSR-14	GAGAGAGAGAGAGAGAT	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۲۶/۲۶	۰/۲۵	۶/۵
ISSR-15	GAGAGAGAGAGAGAGAC	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۳۶/۳۶	۰/۳۸	۱۳/۶۸
ISSR-21	CACACACACACACACAG	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۳۰/۳۰	۰/۳۵	۱۰/۵
ISSR-53	AGAGAGAGAGAGAGAGC	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۵/۵	۰/۱۹	۰/۹۵
ISSR-55	GAGAGAGAGAGAGAGAG	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۲۵/۲۵	۰/۲۳	۵/۷۵
ISSR-57	CACACACACACACACAT	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۱۱/۱۱	۰/۲۷	۲/۹۷
ISSR-58	GACAGACAGACAGACA	۴۷/۶	(٪۱۰۰) ۳/۳	۰/۱۷	۰/۵۱
ISSR-59	GAGAGAGAGAGAGAGAA	۵۱/۸	(٪۱۰۰) ۹/۹	۰/۲۱	۱/۸۹

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به جدول ۳، بررسی مقادیر تنوع ژنتیکی نشان داد که استان یزد تعداد جایگاه ژنی (۱۷۵) و درصد چندشکلی (۸۸/۳۸٪) بیشتری نسبت به کرمان (با ۱۷۳ جایگاه ژنی و درصد چندشکلی ۸۷/۳۷٪) داشت. تعداد الل‌های مشاهده شده (۱/۸۸±۰/۳۲)، تعداد الل مؤثر (۱/۵۰±۰/۳۳)، میزان تنوع ژنی نئی (۰/۲۹±۰/۱۶) و مقدار شاخص اطلاعات شانون (۰/۴۵±۰/۲۲) در جمعیت‌های مربوط به استان یزد بیشتر از جمعیت‌های کرمان بود؛ به‌طوری که در استان کرمان میزان این شاخص‌ها به‌ترتیب (۱/۸۷±۰/۳۳)، (۱/۴۳±۰/۳۲)، (۰/۲۶±۰/۱۶) و (۰/۴۱±۰/۲۲) بود.

جدول ۳- تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های زیره کرمانی (*Bunium persicum*)

جمعیت	na*	ne*	h*	I*	تعداد مکان‌های چندشکلی	درصد مکان‌های چندشکلی
یزد (**Pop1**)	۱/۸۸ ±۰/۳۲	۱/۵۰ ±۰/۳۳	۰/۲۹ ±۰/۱۶	۰/۴۵ ±۰/۲۲	۱۷۵	٪۸۸/۳۸
کرمان (**Pop2**)	۱/۸۷ ±۰/۳۳	۱/۴۳ ±۰/۳۲	۰/۲۶ ±۰/۱۶	۰/۴۱ ±۰/۲۲	۱۷۳	٪۸۷/۳۷
کل	۱/۹۷ ±۰/۱۷	۱/۵۰ ±۰/۳۰	۰/۳۰ ±۰/۱۴	۰/۴۷ ±۰/۱۷	۱۹۲	٪۹۶/۹۷

*na= تعداد الل‌های مشاهده شده، *ne = تعداد الل‌های مؤثر، *h = تنوع ژنی نئی، *I = شاخص شانون

طبق آزمون تطابق منتل، تجزیه خوشه‌ای به سه روش خوشه‌بندی UPGMA (Un-weighted Pair-Group Method using Arithmetic Average)، نزدیکترین همسایه (SLINK) و دورترین همسایه (CLINK) با استفاده از ضرایب تشابه تطابق ساده، جاکارد و Dice انجام شد. با توجه به ضریب کوفنتیک از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA (به‌دلیل دارا بودن بالاترین مقدار r=۰/۷۹) برای گروه‌بندی استفاده شد (جدول ۴) و دندروگرام مربوط به آن ترسیم گردید (شکل ۱). تجزیه خوشه‌ای، چهار جمعیت زیره کرمانی مربوط به دو استان یزد و کرمان را در ۶ خوشه گروه‌بندی کرد که یک گروه آن تک‌عضو بود (مربوط به سیرجان). با توجه به دندروگرام، افراد متعلق به هر جمعیت و در هر منطقه جغرافیایی در خوشه یا خوشه‌های مجزا قرار گرفته‌اند که این گروه‌بندی با محدوده پراکندگی جغرافیایی نمونه‌ها انطباق دارد.

جدول ۴- مقایسه روش‌های مختلف برای رسم دندروگرام

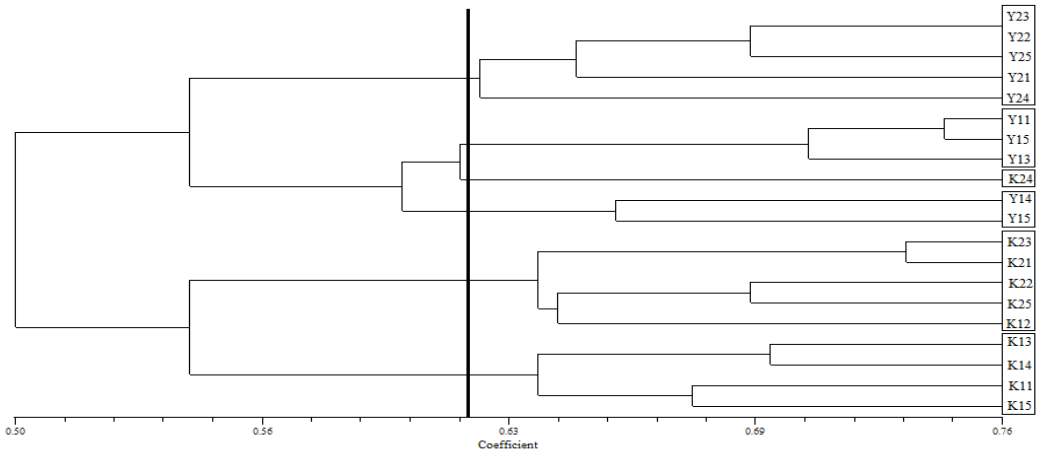
ماتریس‌های تشابه / الگوریتم	Dice	جاکارد	تطابق ساده
UPGMA	r = ۰/۷۷	r = ۰/۷۹*	r = ۰/۷۳
نزدیکترین همسایه	r = ۰/۶۶	r = ۰/۶۸	r = ۰/۶۰
دورترین همسایه	r = ۰/۶۸	r = ۰/۷۱	r = ۰/۷۰

نتایج تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که مؤلفه‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۲۶/۳۲٪، ۱۷/۹۷٪ و ۱۶/۲۷٪ اطلاعات را دربرداشتند (در مجموع ۶۰/۵۶٪). با توجه به شکل ۲، جمعیت‌های زیره کرمانی یزد (pop1) شامل (Y1 = مهریز و Y2 = اردکان) کاملاً از جمعیت‌های این گیاه در کرمان (K1= سیرچ و K2= سیرجان) جدا شده‌اند

www.SID.ir

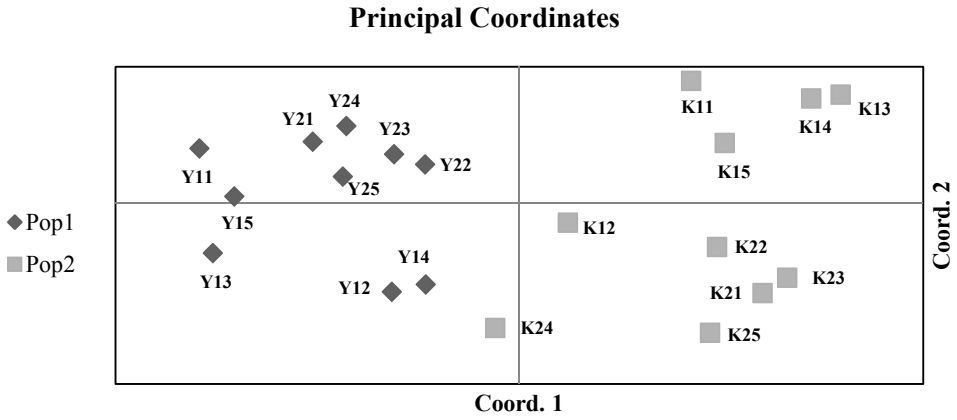
Archive of SID

(pop2). نتایج این آنالیز با تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. نتایج تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که براساس آماره φpt در بین گروه‌ها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها (۸۸٪) بیشتر از تنوع بین جمعیت‌ها (۱۲٪) می‌باشد (جدول ۵).



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای ۴ جمعیت زیره

Y = یزد (Y1 = مهریز و Y2 = اردکان)، K= کرمان (K1= سیرچ و K2= سیرجان)



شکل ۲- نمودار دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) برای ۴ جمعیت زیره

Y (pop1)= یزد (Y1 = مهریز و Y2 = اردکان)؛ K (pop2)= کرمان (K1= سیرچ و K2= سیرجان)

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی برای تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Est. Var	درصد تنوع	φ_{pt}
بین جمعیت‌ها	۱	۸۵/۲	۸۵/۲	۴/۹۱۳	۱۲	۰/ ۱۲**
درون جمعیت	۱۸	۶۴۹/۲	۳۶/۰۶۷	۳۶/۰۶۷	۸۸	
کل	۱۹	۷۳۴/۴		۴۰/۹۸	۱۰۰	

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده از اسانس حاصل از گیاه *Bunium persicum* در ۴ رویشگاه مورد بررسی

شماره	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	درصد ترکیب‌های موجود در اسانس			
		(RI)	اردکان	مهریز	سیرجان	سیرچ
۱	α-pinene	۹۳۵	۰/۹	۰/۸	۰/۹	۱/۳
۲	camphene	۹۵۴	۱/۴	۱/۲	–	–
۳	sabinene	۹۷۶	–	۰/۱	۰/۶	۰/۸
۴	β-pinene	۹۷۹	۲/۱	۲	۱/۸	۲/۴
۵	β-myrcene	۹۸۸	–	–	۰/۸	۰/۷
۶	α-terpinene	۱۰۱۹	–	–	۱/۱	۰/۹
۷	ρ-cymene	۱۰۲۶	۷/۸	۷/۴	۸/۷	۱۰/۲
۸	limonene	۱۰۳۲	۴/۸	۴/۵	۵/۲	۶/۳
۹	β-phellandrene	۱۰۳۴	–	–	۰/۷	۰/۵
۱۰	1,8-cineole	۱۰۳۵	–	–	۰/۶	۰/۸
۱۱	cis-ocimene	۱۰۳۹	–	–	۰/۶	۰/۵
۱۲	γ-terpinene	۱۰۶۰	۲۲/۶	۲۱/۹	۲۳/۶	۲۵/۶
۱۳	cis sabinene hydrate	۱۰۷۳	–	–	–	۰/۴
۱۴	linalool	۱۰۹۸	–	–	۰/۳	–
۱۵	trans-decalone	۱۱۰۶	۱/۱	۱/۳	–	–
۱۶	terpinolene	۱۱۸۳	۱/۱	۱/۴	–	۰/۸
۱۷	ρ-cymen-8-ol	۱۱۸۶	–	–	۰/۴	–
۱۸	cuminaldehyde	۱۲۵۳	۱۹/۴	۱۹/۲	۱۹/۳	۲۰/۱
۱۹	2-caren-10-al	۱۲۸۹	–	–	۷/۸	۵/۸
۲۰	γ-terpinene-7-al	۱۲۹۶	–	–	۱۹/۳	۲۲/۱
۲۱	cyclopentanone	۱۳۳۷	۱	۲/۱۳	–	–
۲۲	acetylphenylcarbinol	۱۴۰۱	۶/۹	۶/۸	–	–
۲۳	1-amino-1-ortho-chorophenyl-2-(2-quinoxalinyl) ethen	۱۴۳۳	۰/۸	۰/۸	–	–
۲۴	5-methyl-2-phenylindolizine	۱۴۴۰	۰/۷	–	–	–

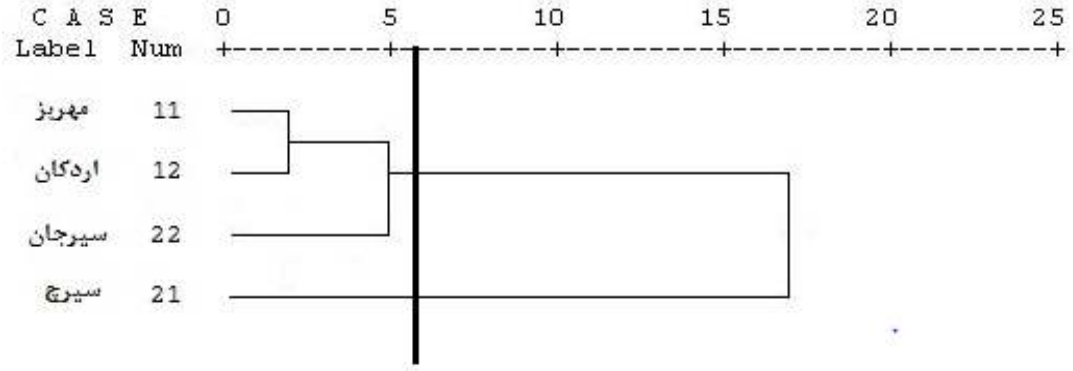
بازده اسانس در رویشگاه‌های اردکان، مهریز، سیرجان و سیرچ به‌ترتیب ۲/۴٪، ۲٪، ۳٪، و ۴/۲٪ بدست آمد. از تجزیه اسانس حاصل از دانه‌های زیره، ۱۳ ترکیب در هر یک از رویشگاه‌های یزد، ۱۶ ترکیب در هر یک از رویشگاه‌های استان کرمان شناسایی شد. ترکیب‌هایی از قبیل کامفن، ترانس دکالون، سیکلوپنتانون، استیل‌فنیل‌کاربینول و 1-amino-1-ortho-chorophenyl-2-(2-quinoxalinyl) ethen تنها در رویشگاه‌های استان

www.SID.ir

Archive of SID

یزد و ترکیب‌های بتا-میرسن، آلفا-ترپینن، بتا- فلاندرن، ۸،۱-سینئول، سیس-اوسیمن، ۲-کارن-۱۰-ال، و گاما-ترپینن-۷-ال فقط در رویشگاه‌های مربوط به استان کرمان مشاهده شدند. ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن، پارا-سیمن، لیمونن، گاما-ترپینن و کومین آلدئید به‌عنوان ترکیب‌های اصلی و مشترک بین استان‌های یزد و کرمان شناسایی شدند. جدول ۶، ترکیب‌های شناسایی شده، درصد آنها و شاخص‌های بازداری مربوط به هر یک را نشان می‌دهد. طبق جدول مذکور درصد ترکیب‌های اصلی در رویشگاه سیرچ بیش از رویشگاه‌های دیگر است.

با توجه به شکل ۳، براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای پارامترهای فیتوشیمی (حاصل از ترکیب‌های اصلی مشترک) و قرار گرفتن رویشگاه‌های سیرجان (استان کرمان)، مهریز و اردکان (استان یزد) در یک خوشه می‌توان نتیجه گرفت که گروه‌بندی براساس ترکیب‌های اسانس با فاصله جغرافیایی موجود در رویشگاه‌های طبیعی مطابقت ندارد.



شکل ۳- دندروگرام براساس روش Ward و مربع فاصله اقلیدسی برای ۴ جمعیت زیره کرمانی (*Bunium persicum*)

بحث

بررسی اطلاعات ژنتیکی و فیتوشیمیایی گونه‌های گیاهی به‌ویژه گیاهان دارویی به‌منظور حفظ تنوع و انتخاب منابع غنی از نظر ژنتیکی و کیفیت محصول، همواره مورد توجه بوده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تمام ۱۰ آغازگر دارای چندشکلی مطلوب بودند و در مجموع ۱۹۲ باند ایجاد کردند. در این مطالعه مقدار ۸۸/۳۸٪ برای جمعیت‌های زیره کرمانی در یزد و ۸۷/۳۸٪ برای جمعیت‌های کرمان پلی‌مورفیسم بدست آمد که نشان از تنوع بالا در جمعیت‌های مورد آزمایش بود. Azimzadeh و همکاران (۲۰۱۲) نیز در بررسی ژنتیکی جمعیت‌های زیره کرمانی (*B. persicum*) با استفاده از صفات مرفولوژیک و فیتوشیمیایی، وجود تنوع بالا را بین جمعیت‌های این گیاه گزارش نمودند. Naghavi و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که هرچه نمونه‌های مورد مطالعه شباهت ژنتیکی بیشتری به هم داشته باشند، نشانگرهای قوی‌تری برای تشخیص چندشکلی در آنها مورد نیاز است. در این مطالعه نشانگرهای ISSR در تفکیک جمعیت‌های زیره کرمانی در استان‌های یزد و کرمان موفق بود. میانگین PIC در این مطالعه ۰/۲۶ بود. PIC شاخصی برای تعیین قدرت تمایز هر جفت آغازگر از طریق تعداد الل‌ها در یک مکان ژنی و فراوانی نسبی الل‌ها است و حداکثر میزان آن ۰/۵ است (Mateescu *et al.*, 2005). شاخص نشانگری (MI) نیز معیار دیگری برای قدرت تفکیک و کارایی یک آغازگر براساس تعداد مکان ژنی چندشکل تکثیرشده است (Zanganeh *et al.*, 2016). در مجموع با توجه به میزان این شاخص‌ها مشخص گردید که نشانگر ISSR کارایی خوبی در بررسی روابط ژنتیکی گیاه زیره کرمانی دارد. در تأیید این موضوع در مطالعات مختلف کارایی خوب این نشانگر در بررسی روابط ژنتیکی گیاهان تیره چتریان نیز

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش شده است (Dehghan Kouhestani *et al.*, 2009؛ Modareskia *et al.*, 2012؛ Zanganeh *et al.*, 2016؛ Salami *et al.*, 2017؛ Zabet *et al.*, 2019). در این تحقیق نشانگر ISSR-13 بالاترین میزان PIC، شاخص نشانگر و تعداد باند را دارا بود. بنابراین می‌توان این آغازگر را به‌عنوان یکی از آغازگرهای ISSR مناسب در کنار آغازگرهای دیگر برای مطالعات بعدی در زمینه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *B. persicum* پیشنهاد کرد. نمودار خوشه‌ای مربوط به تنوع ژنتیکی در این تحقیق با ضریب کوفنتیک ۰/۷۹ نشان‌دهنده برازش خوب بود. نتایج مربوط به تجزیه خوشه‌ای در بین جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که تنوع مولکولی با تنوع جغرافیایی مطابقت دارد. این امر می‌تواند به دلیل اثر متقابل محیط و گونه برای محتوای ژنتیکی گیاه باشد. بنابراین گیاهانی که در نقاط مختلف از لحاظ اقلیمی و تحت تنش‌های متفاوت سازگار شوند، مکانیسم‌های سازگاری خود را در محتوای ژنتیکی خود تثبیت کرده و به نسل بعد انتقال می‌دهند (Zanganeh *et al.*, 2016). نتایج مشابه در این زمینه توسط برخی محققان دیگر نیز گزارش شده است (Baldemir *et al.*, 2017؛ Janipour *et al.*, 2017). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای منجر به استفاده بهینه و استخراج حداکثر اطلاعات از داده‌های مولکولی خواهد شد. در این مطالعه نیز، تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های مولکولی با نتایج تجزیه به مختصات اصلی همخوانی داشت. در بررسی تنوع ژنتیکی رازیانه و آنغوزه، Farshadfar و همکاران (۲۰۱۷) و Hossein Jafari و همکاران (۲۰۱۸) به نتایج مشابه دست یافتند. در این مطالعه و در تأیید روش‌های ذکرشده نتایج تجزیه واریانس مولکولی نیز تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیت‌ها را اثبات کرد. البته برخی محققان در مطالعات خود به نتایج مشابه در این زمینه دست یافتند (Lopez-Pujol *et al.*, 2013؛ Smith *et al.*, 2015).

بررسی‌های فیتوشیمیایی نشان داد که ترکیب‌هایی از قبیل کامفن، ترانس–دکالون، سیکلوپنتانون، استیل‌فنیل‌کاربینول و 1-amino-1-ortho-chorophenyl-2-(2-quinoxalinyl) ethen تنها در رویشگاه‌های استان یزد وجود دارد. Haghiroalsadat و همکاران (۲۰۱۵) نیز در مطالعه خود ترکیب‌های مذکور را در اسانس زیره کرمانی در استان یزد گزارش نمودند. ترکیب‌های بتا–میرسن، آلفا–ترپینن، بتا–فلاندرن، ۸،۱–سنئول، سیس–اوسیمن، ۲–کارن–۱۰–ال و گاما–ترپینن–۷–ال فقط در رویشگاه‌های مربوط به استان کرمان مشاهده شدند که با یافته‌های حاصل از مطالعات Moghtader و همکاران (۲۰۰۹) و Amiri و Biraminia (۲۰۱۴) در استان کرمان مطابقت دارد. البته درصد ترکیبات مذکور و تعداد ترکیب‌های شناسایی شده با نتایج این تحقیق متفاوت است. به‌عنوان مثال مقدار ترکیباتی از قبیل گاما–ترپینن–۷–ال و لیمونن در این مطالعه در منطقه مهریز به‌ترتیب صفر و ۴/۵٪ است که با نتایج تحقیق Haghiroalsadat و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد، در حالیکه میزان این ترکیب‌ها در مطالعه‌ای دیگر در استان یزد (Azimzadeh *et al.*, 2012) با نتایج این پژوهش مغایر است. این امر می‌تواند ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی محل رویش گیاه زیره کرمانی مانند عوامل اقلیمی، ادافیکی و ژنتیکی باشد (Azimzadeh *et al.*, 2012؛ Baghizadeh *et al.*, 2018)، بنابراین لازم است تحقیقات گسترده‌تری در این زمینه انجام شود. آنالیز خوشه‌ای با استفاده از ۶ ترکیب اصلی و مشترک اسانس بین یزد و کرمان (آلفا–پینن، بتا–پینن، پارا–سیمن، لیمونن، گاما–ترپینن و کومین‌آلدئید)، ۴ جمعیت مورد مطالعه را به دو گروه تقسیم نمود. به‌طوری که رویشگاه سیرچ از استان کرمان در خوشه‌ای جداگانه قرار گرفت که به‌نظر می‌رسد به‌دلیل بیشتر بودن درصد ترکیب‌های اصلی در رویشگاه سیرچ نسبت به رویشگاه‌های دیگر باشد. در این تحقیق، نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های ژنتیکی با تجزیه خوشه‌ای داده‌های فیتوشیمیایی همخوانی چندانی نداشت. Hadian و همکاران (۲۰۱۱) و Baghizadeh و همکاران (۲۰۱۸) نیز در مطالعات خود در مورد بررسی ژنتیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های گیاه *Nepeta cataria* و *Zataria multiflora* عدم همخوانی خوشه‌بندی ژنتیکی و فیتوشیمیایی را تأیید نمودند.

www.SID.ir

Archive of SID

در این پژوهش نشانگر مولکولی ISSR به‌خوبی توانست تنوع ژنتیکی زیره کرمانی را از استان‌های یزد و کرمان آشکار کند. این نتایج با پراکنش جغرافیایی نمونه‌ها همخوانی داشت که نشان‌دهنده تعامل ژنتیکی گیاه با شرایط اقلیمی و جغرافیایی بر خصوصیات نسل‌های گیاهی در مناطق جغرافیایی است. عدم انطباق گروه‌بندی براساس ترکیب‌های اسانس با خوشه‌بندی ژنتیکی از یافته‌های دیگر این تحقیق بود. به‌طور کلی شناخت روابط ژنتیکی و فیتوشیمی می‌تواند در فراهم نمودن اطلاعات مناسب و کاربردی به‌منظور اجرای طرح‌های اصلاحی و عملیات به‌نژادی مربوط به گیاه دارویی مهم و باارزش زیره کرمانی حائز اهمیت باشد.

منابع مورد استفاده

- Abduganiew, B.E., Abdullaev, U.A., Aripov, K.N., Baser, K.H.C. and Oezek, T., 1997. Composition of the essential oil of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. From Tajikestan. Journal of Essential Oil Resources, 9: 597-598.
- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA, 804p.
- Amiri, H. and Biraminia, L., 2014. Phytochemistry evaluation of Ferulago angulata, *Bunium persicum* and *Dorema aucheri* from Kerman province (Iran). Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 4(1): 1-10.
- Araujo, F.S., Pacheco, M.V., Vieira, F.A., Ferrari, C.S., Felix, F.C. and Chagas, K.P.T., 2016. ISSR molecular markers for the study of the genetic diversity of *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. Indesia (Chile) Volumen, 34(3): 47-52.
- Ashraf, J., Malik, W., Iqbal, M.Z., Ali Khan, A., Qayyum, A., Noor, E., Abid, M.A., Naseer Cheema, H.M. and Ahmad, M.Q., 2016. Comparative analysis of genetic diversity among bt cotton genotypes using EST-SSR, ISSR and morphological markers. Journal of Agricultural Science & Technology, 18: 517-531.
- Azimzadeh, M., Amiri, R., Assareh, M.H., Bihamta, M.R. and Forootan, M., 2012. Genetic diversity of Iranian *Bunium persicum* germplasm by morphological markers and essential oil components. Journal of Medicinal Plants Research, 6(7): 1119-1129.
- Azimzadeh, M., Amiri, R., Assareh, M.H., Bihamta, M.R. and Forootan, M., 2014. Genetic diversity of Iranian *Bunium persicum* Boiss. ecotypes using sequencing of the ITS region of nuclear ribosomal DNA. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 22(1): 1-10.
- Baghizadeh, A., Mashayekhi, Z. and Ebrahimi, M.A., 2018. Investigation of genetic and phytochemical diversity of some catnip (*Nepeta cataria* L.) populations by RAPD molecular marker and GC/MS method. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(5): 836-848.
- Bahador, S., Negari, A.K. and Abbaspoor, M., 2009. The effect of planting depth and corm weight on yield and agronomical characteristics of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 25(3): 321-332.
- Baldemir, A., Topcu, H., Paksoy, M.Y., Motalebipour, E.Z. and Kafkas, S., 2017. First microsatellite markers for *Scaligeria lazica* Boiss. (Apiaceae) by next generation sequencing: population structure and genetic diversity analysis. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 31(3): 535-543.
- Barrandeguy, M.E. and Garcia, M.V., 2014. Quantifying genetic diversity: the starting point for population genetic studies using molecular markers. Journal of Genetics, 93(2): 587-589.
- Baser, K.H.C., Oezak, T., Abduganiev, B.E., Abdullaev, U.A. and Aripov, K.N., 1997. Composition of the essential oil of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. from Tajikistan. Journal of Essential Oil Research, 9: 579-589.
- Brito, F.A., Nizio, D.A.C., Silva, A.V.C., Diniz, L.E.C., Rabbani, A.R.C., Arrigoni-Blank, M.F., Alvares-Carvalho, S.V., Figueira, G.M., Montanari Junior, I. and Blank, A.F., 2016. Genetic diversity analysis *of Varronia curassavica* Jacq. accessions using ISSR markers. Genetic and Molecular Research, 15(3): 1-10.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-253.
- Dehghan Kouhestani, S., Baghzadeh, A., Ranjbar, Gh.A. and Babaiyan Jelodar, N.A., 2009. Investigation of genetic diversity in Persian cumin [*Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.] germplasm from Kerman province using RAPD molecular markers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 24(4): 414-427.
- Farshadfar, M., Moradzade, N., Farshadfar, E. and Shirvani, H., 2017. Genetic diversity among fennel (*Fueniculum vulgare* Mill.) accessions using morphological and SCoT markers. Iranian Journal of

www.SID.ir

Archive of SID

(*Cuminum cyminum*). International Journal of Life Science & Pharma Research, 4(4): 17-34.
- Salami, M., Rahimmalek, M. and Ehtemam, M.H., 2017. Genetic variability of outcross and selfed fennel based on morphological and ISSR markers. Journal of Agricultural Science & Technology, 19: 157-172.
- Sefidkon, F., Bahmanzadegan, A., Golipour, M., Mozafarian, V. and Meshkizadeh, S., 2010. Identification and comparison of chemical composition of the essential oils of *Bunium cylindricum* (Boiss & Hohen.) Drude and *Bunium rectangulum* Boiss. & Hausskn. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 26(3): 305-316.
- Singh, D.K., Tewari, R., Singh, N.K. and Singh, S.S., 2016. Genetic diversity cucumber using inter simple sequence repeats (ISSR). Transcriptomics, 4(1): 1-4.
- Smith, W.B., Frye, Ch.T., Veliz, E., Hiebler, Sh., Taylor, R.C. and Hunter, K.L., 2015. Genetic variability of Maryland and West Virginia population of the federally endangered plant *Harperella nodosa* (Rose) (Apiaceae). Northeastern Naturalist, 22(1): 106-119.
- Stevens, M.I., Clarke, A.C., Clarkson, F.M., Goshorn, M. and Gemmill, Ch.E.C., 2015. Are current ecological restoration practices capturing natural levels of genetic diversity? A New Zealand case study using AFLP and ISSR data from mahoe (*Melicytus ramiflorus*). New Zealand Journal of Ecology, 39(2): 190-197.
- Taherkhani, P., Noori, N., Akhondzadeh Basti, A., Gandomi, H. and Alimohammadi, M., 2015. Antimicrobial effects of Kermanian black cumin (*Bunium persicum* Boiss.) essential oil in Gouda cheese matrix. Journal of Medicinal Plants, 54(2): 76-86.
- Torabi-Giglou, M., Panahandeh, J., Mohammadi, S.A., Zaree Nahandi, F., Motallebi Azar, A. and Sliwka, J., 2015. DNA and morphological diversity and relationship analysis of selected cultivated, wild potatoes and some promising hybrids. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES), 6(2): 175-186.
- Zabet, M., Rahimi, A., Izanlo, A. and Alizadeh, Z., 2019. Investigation of genetic variation in Cumin (*Cuminum cyminum*) ecotypes of Khorasan province using RAPD and ISSR markers. Agricultural Biotechnology Journal, 11(1): 75-98.
- Zanganeh, K., Fakheri, B., Orooji, F., Afzalifar, A. and Makhdoomi, M.A., 2016. Study of genetic diversity in Fennel (*Foeniculum vulgare*) ecotypes using ISSR marker. Journal of Medicinal Plants Biotechnology, 4(2): 10-20.

Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25(2): 212-231.
- Hadian, J., Nejad Ebrahimi, S., Mirjalili, M., Azizi, A., Ranjbar, H. and Friedt, W., 2011. Chemical and genetic diversity of *Zataria multiflora* Boiss. accessions growing wild in Iran. Chemistery and Biodiversity, 8(1): 176-188.
- Haghiroalsadat, F., Azhdari, M., Oroojalian, F., Omidi, M. and Azimzadeh, M., 2015. The chemical assessment of seed essence of three native medicinal plants of Yazd province (*Bunium premium, Cuminum cyminum, Trachyspermum copticum*) and the comparison of their antioxidant properties. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 6(22): 1592-1603.
- Hossein Jafari, S., Sepehry, A., Soltanloo, H. and Karimian, A.A., 2018. Genetic differentiation between bitter and sweet asafetida plants using ISSR markers. Molecular Biology Reports, 46(1): 1069-1078.
- Janipour, L., Fahmideh, L. and Fazeli Nasab, B., 2017. Genetic assay of some population of *Carum carvi* medicinal plant using RAPD and ISSR markers. Plant Environmental Physiology, 48(12): 78-91.
- Lopez-Pujol, J., Martinell, M.C., Masso, S., Rovira, A.M., Bosch, M., Molero, J., Simon, J. and Blanche, C., 2013. Conservation genetics of *Dichoropetalum schottii* (Apiaceae): is the legal protection of edge populations consistent with the genetic data?. Annales Botanici Fennici, 50: 269-283.
- Mateescu, R., Zhang, Z., Tsai, K., Phavaphutanon, J., Murphy, K., Acland, G. and Todhunter, R., 2005. Analysis of allele fidelity, polymorphic information content and density of microsatellites in a genome-wide screening for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. Journal of Heredity, 96: 847-853.
- Modareskia, M., Darvishzadeh, R., Hassani, A. and Kholghi, M., 2012. Molecular diversity within and between Ajowan (*Carum copticum* L.) populations based on inter simple sequence repeat (ISSR) markers. Journal of Plant Molecular Breeding, 1(1): 51-62.
- Moghtader, M., Iraj Mansori, A., Salari, H. and Farahmand, A., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Bunium persicum* Boiss. seed. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 25(1): 20-28.
- Naghavi, M.R., Gharayazi, B. and Hosseini Salekdeh, Gh., 2007. Molecular Markers. Tehran University Publication Institute. Tehran, Iran, 340p.
- Ng, W.L. and Tan, S.G., 2015. Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Are We Doing It Right?. ASM Science Journal, 9(1): 30-39.
- Parashar, M., Jakhar, M.L. and Malik, C.P., 2014. A review on biotechnology, genetic diversity in cumin

www.SID.ir

Archive of SID

Genetic relationship and phytochemical assessment among populations of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. in the natural habitats of Yazd and Kerman

S. Hossein Jafari[1*] and A. Saadatfar[2]

1*- Corresponding author, Faculty of Natural Resources and Desert Study, Yazd University, Yazd, Iran
E-mail: Samirahosseinjafari@yahoo.com
2- Department of Medicinal Plant, Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: August 2019 Revised: March 2020 Accepted: March 2020

Abstract

Black caraway, *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch., belonging to the Apiaceae family, is one of the most important medicinal plants in Iran. In this study, genetic and phytochemical relationships were investigated among some populations of this plant using ISSR markers and GC-MS method in Yazd and Kerman habitats. In order to study genetics using 10 ISSR primers, sampling of the fresh plant leaves was done. DNA was extracted using CTAB method. To investigate phytochemicals, the essential oil was extracted from black caraway seeds using hydrodistillation method and Clevenger apparatus. According to the results, ISSR-13 primer had better performance with 40 bands, the highest amounts of PIC (0.39), and Marker Index (15.6). Cluster analysis using Jacquard's coefficient and UPGMA algorithm divided the four black caraway populations of the two provinces into six groups. Principal coordinates analysis showed that three components explained 60.56% of total variance and completely separated the populations. The results of this analysis were consistent with cluster analysis and geographical distribution of samples. Based on the GC-MS results, 13 and 16 compounds were identified in Yazd and Kerman habitats, respectively. The compounds α-pinene, β-pinene, ρ-cymene, limonene, γ-terpinene, and cuminaldehyde were identified as the same and main compounds between Yazd and Kerman habitats. Based on the results of cluster analysis of phytochemical parameters and location of the habitats Sirjan (Kerman province), Mehriz and Ardekan (Yazd province) in one cluster and Sirch in a separate cluster, it can be concluded that grouping based on essential oil compounds does not correspond with genetic grouping and geographical distance in the natural habitats.

Keywords: *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch., genetic assessment, ISSR marker, phytochemistry, cluster analysis.

www.SID.ir