

نشریه علمی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2020.342842.1364  
 جلد ۲۹، شماره ۱، صفحه ۱۲-۱۴ (۱۴۰۰) شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350891.1400.29.1.1.8

## بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی بومادران تماشایی *Achillea nobilis* با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR و صفات مورفولوژیکی

مهدی متقی<sup>۱\*</sup>، پروین صالحی شانجانی<sup>۲</sup>، علی اشرف جعفری<sup>۳</sup>، مهدی میرزا<sup>۴</sup> و محمدرضا بی‌همتا<sup>۵</sup>

\*<sup>۱</sup>- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، بخش تحقیقات علوم باغی و زراعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، پست الکترونیک: m.motaghi@areeo.ac.ir

<sup>۲</sup>- دانشیار، بانک زن منابع طبیعی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

<sup>۳</sup>- استاد، بخش تحقیقات مرتع، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

<sup>۴</sup>- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

<sup>۵</sup>- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۳

### چکیده

بومادران تماشایی (*Achillea nobilis*) یکی از گیاهان دارویی مهم و با خصوصیات درمانی مختلف است که در مناطق گسترده‌ای از ایران به‌طور خودرو رشد می‌کند. در این تحقیق، تنوع ژنتیکی ۳۳ جمعیت بومادران تماشایی موجود در بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور با استفاده از نشانگر ISSR ارزیابی شد. از هر جمعیت ۱۰ گیاه انتخاب شد و DNA آنها استخراج شد. در این مطالعه از ۱۲ آغازگر ISSR استفاده شد و شش آغازگر با میانگین چند شکلی ۸۸٪ برای بررسی تنوع و تمایز جمعیت‌ها به‌کار گرفته شد. آغازگرهای P ۱۲ و P ۵ به‌ترتیب با ۱۳ و ۱۱ نوار بیشترین تعداد و آغازگر ۷-۱ با ۷ نوار کمترین تعداد نوار را نشان دادند. شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص نشانگر (MI)، نسبت چندگانه مؤثر (EMR) و شاخص قدرت تفکیک (Rp) برای کلیه نشانگرها محاسبه شد که براین اساس، آغازگر P ۱۲ به‌عنوان بهترین آغازگر برای بررسی تنوع ژنتیکی بومادران تماشایی شناخته شد. در تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی ارتباط نزدیکی بین توزیع جغرافیایی و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومادران تماشایی مشاهده شد و جمعیت‌های جمع‌آوری شده از هر منطقه (شمال، مرکز و غرب کشور) در یک گروه مجزا قرار گرفتند. بررسی پارامترهای ژنتیکی نشان داد که بیشترین تنوع ژنی در میان جمعیت‌های شمال کشور وجود داشت. در تفکیک جمعیت‌های مورد بررسی براساس داده‌های مورفولوژیکی، مطابقت چندانی با توزیع جغرافیایی آنها مشاهده نشد. با توجه به اهداف تحقیق، می‌توان گفت که نشانگرهای ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومادران تماشایی کارآمد بوده و می‌توان در مطالعات آینده از این نشانگر برای تجزیه مجموعه ژرم پلاسما بومادران استفاده کرد. همچنین با توجه به خطر انقراض گونه‌های دارویی، اصلاحگران می‌توانند از تنوع ژنتیکی وسیع بین جمعیت‌های *Achillea nobilis* برای انجام تلاقی‌های هدفمند، به‌منظور پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و راهبردهای حفاظتی این گونه گیاهی بهره‌برداری کنند.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای ژنتیکی، *Achillea nobilis*، توزیع جغرافیایی، تجزیه خوشه‌ای.

## مقدمه

پیدایش بیماریهای جدید در دهه‌های اخیر به همراه عدم درمان قطعی برخی بیماری‌های مزمن و مشخص شدن عوارض نامطلوب استفاده از داروها و ترکیبات سنتتیک، سبب تمایل و گرایش روزافزون مردم به استفاده از گیاهان دارویی و فراورده‌های آنها شده است. این موضوع سبب افزایش بهره‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی و کاهش تدریجی جمعیت گیاهان دارویی شده است که می‌تواند در نهایت سبب انقراض این گونه‌ها و وارد آمدن آسیب جبران‌ناپذیر بر زیست‌بوم و تنوع گیاهی گردد (Chen et al., 2016). با توجه به این مهم، شناسایی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی در مناطق مختلف کشور و اتخاذ سیاست‌های مناسب برای حفظ و نگهداری این ذخایر ژنتیکی ضروریست.

جنس بومادران (*Achillea*)، در ایران شامل ۱۹ گونه است که هفت گونه آن انحصاری است. بومادران تماشایی (*Achillea nobilis*) گونه‌ای است چندساله، نسبتاً دیرگل، با ارتفاع نسبتاً بلند (حدود ۶۵ سانتیمتر) که زمان گل‌دهی و تولید بذر آن تابستان است و عمدتاً در مناطق شمال و شمال‌غربی ایران یافت می‌شود (Mozaffarian, 2007). ارزیابی برخی صفات مورفولوژیکی در تعدادی از گونه‌های بومادران در ایران، بیانگر مقادیر بالای درصد استقرار گیاهچه، قطر گل‌آذین و درصد اسانس بومادران تماشایی نسبت به بومادران هزار برگ (*A. millefolium*) و بومادران زرد (*A. biebersteinii*) بوده است (Farhodi and Mehrnia, 2015). در تحقیقی دیگر، Ghani و همکاران (۲۰۱۱) در بومادران تماشایی، میانگین بیشتری برای سطح پوشش، طول و عرض گل‌آذین و دیررسی نسبت به بومادران زرد (*A. santolina*) گزارش نمودند و در مقابل، میانگین کمتری برای برخی صفات مورفولوژیکی در مقایسه با بومادران زاگرسی (*A. filipendulina*) خبر دادند.

با توجه به اهمیت دارویی بومادران تماشایی، شناسایی تنوع ژنتیکی این گونه، اولین قدم در برنامه‌های به‌نژادی و شناسایی دقیق ژرمپلاسم آن است که کمک بسیاری به پیشرفت فرایند اصلاح جمعیت‌ها و بکارگیری آنها در برنامه‌های اصلاحی به‌منظور معرفی رقم خواهد کرد. اصلاح گیاهان زراعی به روش

کلاسیک، مبتنی بر بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی گونه‌های گیاهی، استفاده از عملکرد و صفات مورفولوژیکی است (Bai, 2017). با این همه با توجه به زمانبر بودن این روش و محدودیت صفات مورفولوژیکی و تأثیرات متقابل محیط و ژنوتیپ بر فنوتیپ گیاهان، امروزه برای تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌ها عمدتاً از روش‌های تکمیلی مانند نشانگرهای مولکولی DNA استفاده می‌شود (Fares et al., 2009). از میان نشانگرهای مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) می‌توان به نشانگر ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) اشاره کرد. نشانگر ISSR از خصوصیتی مانند نیمه تصادفی بودن و قابلیت بالای تکرارپذیری و چند شکلی برخوردار بوده و بدلیل ویژگی‌های مطلوبی مانند تجزیه و تحلیل همزمان تعداد زیادی جایگاه ژنی، دقت و تنوع بالا، هزینه پایین و سرعت و سهولت اجرا، برای ارزیابی ساختار و تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها در بسیاری از گیاهان بکار برده شده است (Lin et al., 2010; Denguangboripant et al., 2010). مطالعاتی در زمینه تنوع ژنتیکی جنس بومادران در ایران و جهان انجام شده است. برای نمونه، Rahimmalek و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های دو زیرگونه بومادران هزار برگ (A. *millefolium*) در ایران بوسیله نشانگر ISSR، گستره چند شکلی آغازگرها را ۹۵-۶۶ درصد گزارش کردند. در تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌ها را در سه گروه مجزا قرار دادند که تا حد زیادی الگوی توزیع جغرافیایی را پوشش می‌داد. همچنین Sharifi Sirchi و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی تنوع فتوشیمیایی سه توده *A. wilhelmsii* از استان هرمزگان بوسیله نه آغازگر RAPD، از تشکیل ۱۱۲ باند چند شکل خبر داده و تعداد زیاد نوارهای چند شکل را نشانه تنوع ژنتیکی بالای این گونه در جنوب ایران دانستند. Morsy (۲۰۰۷) با مطالعه تنوع ژنتیکی میان پنج اکوتیپ *A. fragranissima* رشد یافته در مناطق مختلف مصر، استفاده از روش SDS و یا ایزوزایم را برای تفکیک مناسب اکوتیپ‌ها ناکافی دانست و استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند RAPD را برای تفکیک جمعیت‌ها پیشنهاد کرد.

برای بهره‌برداری از بیشترین کارایی منابع ژنتیکی، شناخت ویژگی‌های مختلف نمونه‌های بذر بانک‌های ژن ضروری

جمعیت‌ها براساس صفات مورفولوژیکی انجام شده است.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۳۳ جمعیت *A. nobilis* موجود در بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور استفاده شد. در جدول ۱، اسامی و محل جمع‌آوری جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داده شده است.

است و ارزیابی قابلیت ذخایر ژنتیکی براساس ویژگی‌های مختلف از جمله سازگاری و خصوصیات مورفولوژیکی و ژنتیکی گیاه انجام می‌شود. با توجه به اینکه عمده برنامه‌های به‌زادی قبلی، بر پایه خصوصیات مورفولوژیک و فنولوژیک بومادران تماشایی بوده است، این تحقیق به منظور ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی موجود در بین جمعیت‌های *A. nobilis* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR و مقایسه آن با نتایج حاصل از گروه‌بندی

جدول ۱- نام و منشأ جمعیت‌های بومادران *A. nobilis*

شماره	نام جمعیت	استان - شهرستان	شماره	نام جمعیت	استان - شهرستان
۱	گلستان ۱	استان گلستان - گرگان	۱۸	گیلان ۷	استان گیلان - تالش
۲	گلستان ۲	استان گلستان - گرگان	۱۹	مازندران	استان مازندران - الشت
۳	گلستان ۳	استان گلستان - مراوه‌تپه	۲۰	همدان ۱	استان همدان - همدان
۴	گلستان ۴	استان گلستان - مراوه‌تپه	۲۱	همدان ۲	استان همدان
۵	گلستان ۵	استان گلستان - مراوه‌تپه	۲۲	کردستان	استان کردستان - سنندج
۶	گلستان ۶	استان گلستان	۲۳	لرستان	استان لرستان - خرم‌آباد
۷	گلستان ۷	استان گلستان	۲۴	اردبیل ۱	استان اردبیل - اردبیل
۸	گلستان ۸	استان گلستان	۲۵	اردبیل ۲	استان اردبیل - سرعین
۹	گلستان ۹	استان گلستان - گرگان	۲۶	اردبیل ۳	استان اردبیل - خلخال
۱۰	گلستان ۱۰	استان گلستان - گرگان	۲۷	زنجان ۱	استان زنجان - زنجان
۱۱	گلستان ۱۱	استان گلستان	۲۸	زنجان ۲	استان زنجان - زنجان
۱۲	گیلان ۱	استان گیلان - رودسر	۲۹	اصفهان	استان اصفهان - کاشان
۱۳	گیلان ۲	استان گیلان - رودبار	۳۰	مرکزی ۱	استان مرکزی
۱۴	گیلان ۳	استان گیلان - تالش	۳۱	مرکزی ۲	استان مرکزی
۱۵	گیلان ۴	استان گیلان - تالش	۳۲	سمنان	استان سمنان
۱۶	گیلان ۵	استان گیلان - تالش	۳۳	یزد	استان یزد
۱۷	گیلان ۶	استان گیلان - آستارا			

گردید. بر اساس نتایج روش اسپکتروفتومتری، DNA نمونه‌ها تا غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق و برای انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکر با برنامه‌های دمایی یک چرخه ۲ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد و ۴۰ چرخه شامل یک دقیقه در ۹۲ درجه سانتیگراد، یک دقیقه در ۴۸ تا ۵۳ درجه سانتیگراد (برحسب دمای اتصال آغازگر) و دو دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد و مرحله بسط نهایی با ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد. در این مطالعه از ۱۲ آغازگر ISSR استفاده شد که شش آغازگر چند شکلی بهتری را نشان دادند. نام و توالی شش آغازگر منتخب به همراه دمای اتصال و محتوای GC هر یک از آنها در جدول ۲ درج شده است. تفکیک محصولات واکنش با استفاده از ژل آگارز ۲٪ انجام شد.

در اواخر زمستان ۱۳۹۵، اقدام به کاشت بذرها در سینی کاشت گردید و بعد در اواسط بهار سال بعد، گیاهچه‌های جوان به ایستگاه تحقیقاتی البرز کرج منتقل و کشت شدند. فاصله روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. طی فصل رشد به فراخور نیاز، اقدام به آبیاری مزرعه (هر پنج روز یکبار) و وجین دستی علف‌های هرز گردید.

برای بررسی‌های مولکولی، از هر جمعیت ده گیاه انتخاب شد (در مجموع ۳۳۰ گیاه) و نمونه‌گیری از برگ‌های جوان گیاهچه‌های ۱۰ سانتی‌متری انجام شد. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج (Bioneer, AccuPrep GMO Cat No.K3031) و مطابق دستورالعمل مربوطه انجام شد. با توجه به وجود فنولها در گیاهان مورد آزمایش، اقدام به شستشوی DNAها با اتانول ۹۰ درصد و بعد با اتانول ۷۰٪

جدول ۲- توالی و دمای اتصال آغازگرهای منتخب

آغازگر	توالی	محتوای GC (%)	دمای اتصال (سانتیگراد)
ISSR-P <sub>۵</sub>	5'-(AC) <sub>۸</sub> G-3'	۵۲/۹	۵۳
ISSR-P <sub>۱۲</sub>	5'-(GA) <sub>۸</sub> T-3'	۴۷/۱	۴۸
ISSR-P <sub>۲۶</sub>	5'-CCA(CT) <sub>۸</sub> -3'	۵۲/۶	۵۳
ISSR <sub>۱-۳</sub>	5'-(CT) <sub>۸</sub> TG-3'	۵۰/۰	۵۱
ISSR <sub>۱-۷</sub>	5'-(CA) <sub>۶</sub> GT-3'	۵۰/۰	۵۳
ISSR <sub>۱-۱۹</sub>	5'-(AG) <sub>۷</sub> GT-3'	۵۰/۰	۵۲

برای محاسبه PIC از رابطه (۱)  $PIC_i = 1 - \sum p_i^2$  استفاده شد که در آن  $p_i^2$  برابر با فراوانی آلل است (Botstein *et al.*, 1980).

شاخص نشانگر (MI) از حاصلضرب PIC در تعداد نوارهای چندشکل و درصد چندشکلی هر آغازگر بدست آمد. شاخص قدرت تفکیک Rp طبق رابطه (۲)  $Rp = \sum I_b$  برآورد گردید که  $I_b$  از طریق رابطه  $I_b = 1 - (2|0.5 - P_i|)$  حاصل شد (Powell *et al.* 1996).

با استفاده از مقادیر تعداد نوار تکثیر شده (N) و تعداد نوار چند شکل (NP)، درصد باندهای چند شکل (پلی مرفیسم) آغازگرهای مختلف تعیین شد. به منظور بررسی کارایی آغازگرها در تمایز بین جمعیت‌ها، محتوای اطلاعات چند شکلی (Polymorphic information content, PIC)، شاخص نشانگر (Marker Index, MI)، شاخص قدرت تفکیک (Resolving power, Rp) و همچنین نسبت چندگانه مؤثر (Effective Multiplex Ratio, EMR) هر آغازگر محاسبه شد.

از آنها یک شکل و ۴۹ عدد چند شکل بودند (شکل ۱). میانگین تعداد نوارهای چندشکل به ازای هر واحد سنجش برابر با ۸/۱۷ نوار بود. در مورد نشانگرهای ISSR هر واحد سنجش برابر یک آغازگر است. از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگرهای P<sub>۱۲</sub> و P<sub>۵</sub> به ترتیب با ۱۱ و ۹ نوار دارای بیشترین تعداد نوارهای چندشکل و آغازگرهای ۱-۳، ۱-۷ و ۱-۱۹ با ۷ نوار کمترین تعداد نوار چندشکل را تولید کردند (جدول ۳). درصد چندشکلی برای هر آغازگر از ۸۱/۸۲ درصد برای P<sub>۵</sub> تا ۱۰۰ درصد برای ۷-۱ متغیر بود و مقدار متوسط آن ۸۸/۳۹ درصد محاسبه شد. توزیع مقادیر محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) بین ۰/۳۷۲ و ۰/۴۲۶ بود و بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب مربوط به آغازگرهای P<sub>۲۶</sub> و ۱-۳ بود. شاخص نشانگر (MI) بر اساس تعداد نوارهای چندشکل برای هر آغازگر محاسبه شد که آغازگر P<sub>۱۲</sub> دارای بیشترین مقدار (۳/۷۶)، آغازگر ۱-۱۹ دارای کمترین مقدار (۲/۳۴) و میزان متوسط آن ۲/۷۹ بود. بیشترین میزان قدرت تفکیک (Rp) برابر با ۵/۴۵ در آغازگر P<sub>۱۲</sub> و کمترین آن برابر با ۲/۶۰ در آغازگر P<sub>۲۶</sub> مشاهده شد. میانگین Rp برابر با ۴/۲۰ بود. بیشترین میزان نسبت چندگانه مؤثر (EMR) متعلق به آغازگر P<sub>۱۲</sub> (۹/۳۱) و کمترین متعلق به آغازگرهای ۱-۳ و ۱-۱۹ (۶/۱۳) و میانگین این شاخص ۷/۱۷ بود.

نمودار حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها بر اساس داده‌های مولکولی در شکل ۲ نشان داده شده است. گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس ضریب تشابه جاکارد انجام شد، زیرا این ضریب نسبت به ضریب‌های تطابق ساده و دایس، ضریب کوفنتیک بالاتری (۹۳٪) داشت. جمعیت‌ها در ضریب شباهت ژنتیکی ۰/۴۶ در سه گروه اصلی جای گرفتند. در گروه اول ۱۱ جمعیت گلستان (گلستان شماره ۱ تا ۱۱)، شش جمعیت گیلان (گیلان شماره ۱ تا ۶) و جمعیت مازندران قرار داشتند. جمعیت‌های همدان (همدان شماره ۱ و ۲)، لرستان، کردستان، اردبیل (اردبیل شماره ۱ تا ۳) و زنجان (زنجان شماره ۱ و ۲) گروه دوم را تشکیل دادند. در گروه سوم نیز که به صورت کاملاً متمایز از دو

نسبت چندگانه مؤثر EMR از رابطه (۳)  $EMR = NP \times \beta$  و  $\beta = \frac{NP}{N}$  بدست آمد (Varshney et al., 2007).

ماتریس داده‌های خام نشانگری براساس حضور یا عدم حضور باندها (به ترتیب با یک و صفر) تنظیم شد. با استفاده از نرم‌افزار NTSYS، ماتریس ضرایب تشابه (به سه روش دایس، جاکارد و تطابق ساده) محاسبه شد و با توجه به نتایج آزمون همبستگی کوفنتیک، تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با ضریب تشابه جاکارد انجام شد. به منظور تعیین مقادیر تنوع بین و درون گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها، اقدام به تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) گردید، همچنین میزان تشابه گروه‌ها به همراه پارامترهای ژنتیکی آنها شامل درصد مکان ژنی چندآلی، شاخص شانون (Shannon's information index, I) و شاخص تنوع ژنی (Genetic variation of Nie, H) توسط نرم‌افزار GenAlex تعیین شد.

برای مقایسه گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس نشانگر مولکولی ISSR و مقایسه آن با نتایج حاصل از گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس صفات مورفولوژیکی، تجزیه خوشه‌ای به روش WARD با ضریب تشابه اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. صفات مورفولوژیکی شامل طول و عرض برگ، طول و عرض گل‌آذین، تعداد ساقه گلده و وزن تر بوته (عملکرد بوته) بودند. علاوه بر این صفات فنولوژیک زمان گلدهی و زمان گلدهی کامل نیز به ترتیب بر اساس تعداد روز از تاریخ کاشت تا ظهور اولین گل و تعداد روز از تاریخ کاشت تا زمان گلدهی کامل (حداقل ۵۰٪ گلدهی) تعیین شدند. از آزمون مانتل برای ارزیابی مطابقت بین ماتریس‌های تشابه حاصل از داده‌های مورفولوژیک و مولکولی استفاده شد (Mantel, 1967).

## نتایج

بررسی کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز و دستگاه اسپکتروفتومتر، نشان‌دهنده کیفیت مطلوب آنها بود. در مجموع ۵۶ نوار تولید شد که ۷ عدد

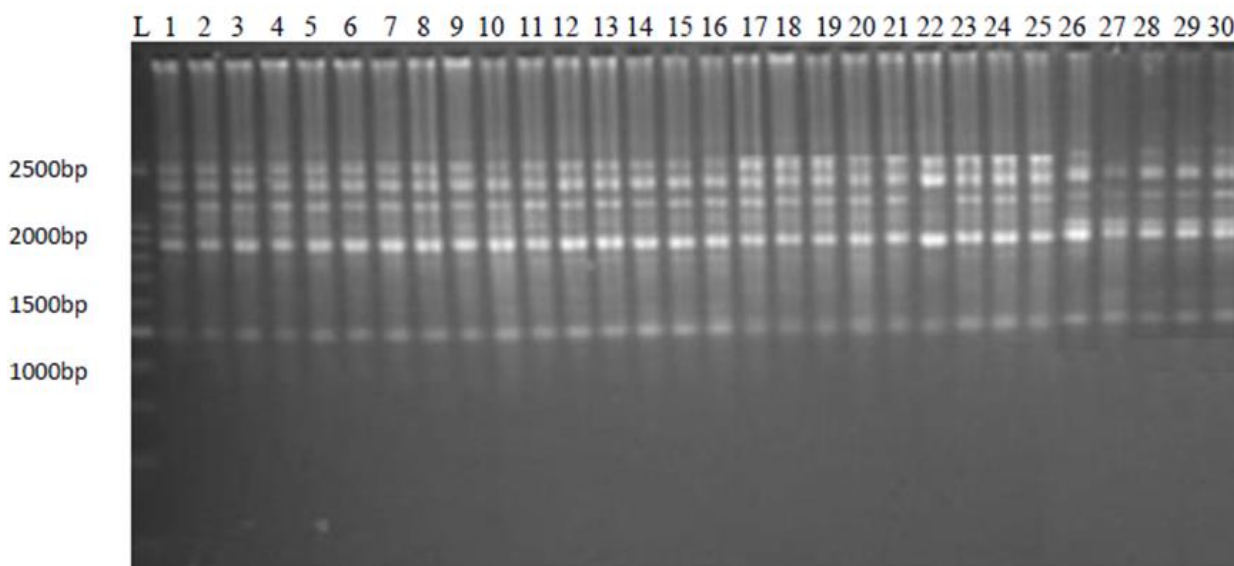
سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت که نشان‌دهنده صحت گروه‌بندی بود.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های بومادران تماشایی براساس صفات مورفولوژیکی (شکل ۳) جمعیت‌ها در فاصله ۷/۹ در سه گروه اصلی قرار گرفتند. در گروه اول که خود به دو زیرگروه قابل تقسیم است جمعیت‌های گلستان (گلستان شماره ۳، ۴، ۷ و ۱۱)، گیلان (گیلان شماره ۱ و ۲)، زنجان ۲ و سمنان در یک زیرگروه و جمعیت‌های گلستان (گلستان شماره ۲، ۶، ۸ و ۹)، اردبیل (اردبیل شماره ۱، ۲ و ۳)، لرستان، مرکزی ۱، زنجان ۱، کردستان و مازندران در زیرگروه دیگر جای گرفتند. در گروه دوم جمعیت‌های گیلان (گیلان شماره ۱، ۲، ۵ و ۷)، گلستان (گلستان شماره ۱ و ۱۱)، اصفهان و همدان ۲ و در گروه سوم نیز پنج جمعیت همدان ۱، یزد، گیلان ۴، گلستان ۵ و مرکزی ۲ وجود داشتند (شکل ۳).

گروه اول تشکیل شد جمعیت‌های اصفهان، مرکزی (مرکزی شماره ۱ و ۲)، یزد و سمنان جای گرفتند.

بیشترین مقادیر میانگین پارامترهای ژنتیکی به جمعیت‌های گروه اول (درصد مکان ژنی چند شکل = ۶۳/۱۶، شاخص نی = ۰/۲۴۶ و شاخص شانون = ۰/۳۵۸) و کمترین مقادیر به جمعیت‌های گروه سوم (درصد مکان ژنی چند شکل = ۱۵/۷۹، شاخص نی = ۰/۰۶۹ و شاخص شانون = ۰/۰۹۹) تعلق داشت (جدول ۴).

ماتریس تشابه برای گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای (جدول ۵) نشان داد که بیشترین تشابه بین جمعیت‌های گروه اول و دوم (۰/۸۶۲) و کمترین تشابه بین جمعیت‌های گروه اول و سوم (۰/۷۰۲) وجود دارد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس مولکولی (جدول ۶)، تنوع در بین گروه‌ها بیش از درون گروه‌ها بود، به طوری که میزان واریانس در درون گروه‌ها ۴۶٪ و در بین گروه‌ها ۵۴٪ گزارش شد. همچنین براساس آماره PhiPT بین گروه‌ها در



شکل ۱- الگوی بانندی جمعیت‌های *A. nobilis* با استفاده از آغازگر ISSR- P12 (شماره ۱ تا ۱۰ جمعیت همدان ۱، شماره ۱۱ تا ۲۰ جمعیت همدان ۲ و شماره ۲۱ تا ۳۰ جمعیت لرستان بودند)

جدول ۳- شاخص‌های تنوع ژنتیکی و تعداد نوارهای تولید شده توسط آغازگرهای ISSR

PIC	MI	Rp	EMR	درصد چندشکلی	تعداد کل نوارها	تعداد نوارهای چند شکل	تعداد نوارهای یک شکل	آغازگر
۰/۳۷۳	۲/۷۴	۳/۷۰	۷/۳۶	۸۱/۸۲	۱۱	۹	۲	ISSR-P <sub>۵</sub>
۰/۴۰۵	۳/۷۶	۵/۴۵	۹/۳۱	۸۴/۶۱	۱۳	۱۱	۲	ISSR-P <sub>۱۲</sub>
۰/۳۷۲	۲/۶۵	۲/۶۰	۷/۱۱	۸۸/۸۹	۹	۸	۱	ISSR-P <sub>۲۶</sub>
۰/۴۲۶	۲/۶۱	۴/۰۶	۶/۱۳	۸۷/۵۰	۸	۷	۱	ISSR۱-۳
۰/۳۷۷	۲/۶۴	۴/۴۸	۷	۱۰۰	۷	۷	۰	ISSR۱-۷
۰/۳۸۲	۲/۳۴	۴/۹۱	۶/۱۳	۸۷/۵۰	۸	۷	۱	ISSR۱-۱۹
۰/۳۹۰	۲/۷۹	۴/۲۰	۷/۱۷	۸۸/۳۹	۹/۳۳	۸/۱۷	۱/۱۶	میانگین

RP: Resolving power      قدرت تفکیک  
 EMR: Effective Multiplex Ratio      نسبت چندگانه مؤثر  
 MI: Marker Index      نشانگر شاخص  
 PIC: Polymorphic information content      محتوای اطلاعات چندشکلی

جدول ۴- میانگین پارامترهای ژنتیکی جمعیت‌های گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

شماره خوشه	مکان ژنی چند شکل (%)	تنوع ژنی نی	شاخص شانون
گروه اول	۶۳/۱۶	۰/۲۴۶	۰/۳۵۸
گروه دوم	۴۵/۶۱	۰/۱۹۹	۰/۲۸۷
گروه سوم	۱۵/۷۹	۰/۰۶۹	۰/۰۹۹

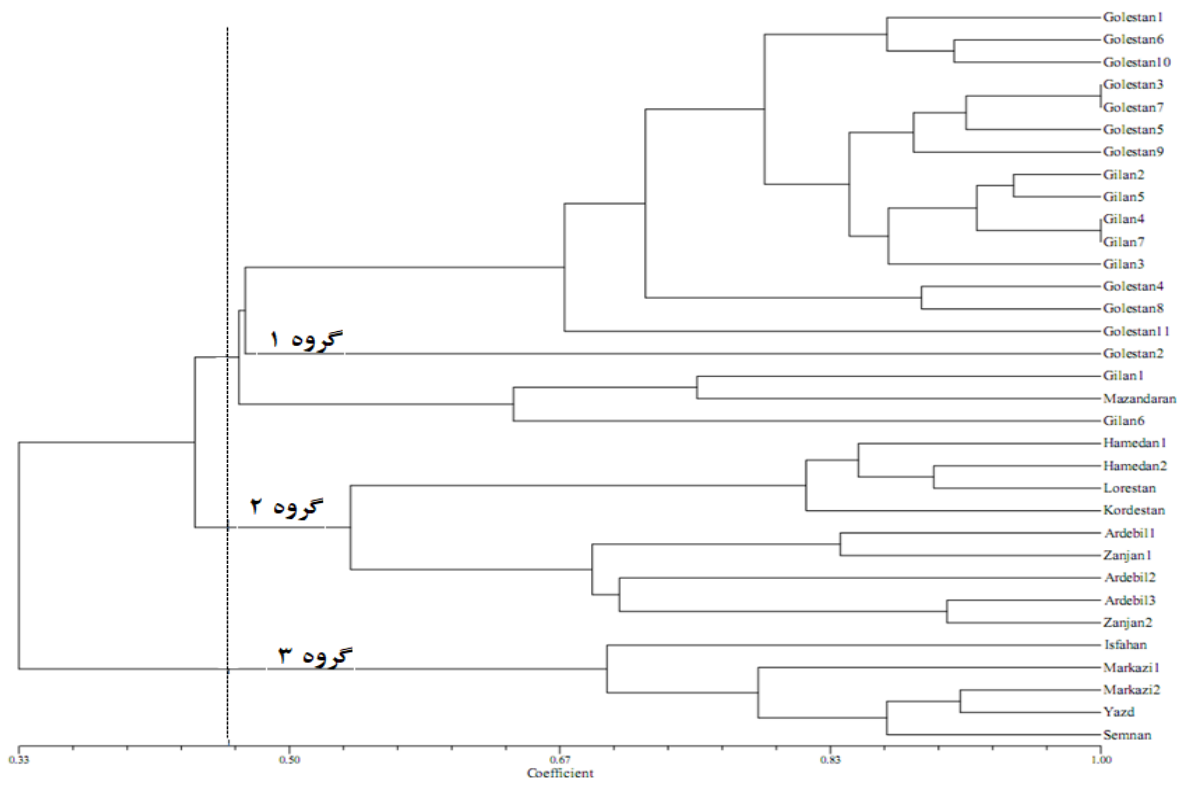
جدول ۵- ضریب تشابه گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

شماره خوشه	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم
گروه اول	۱		
گروه دوم	۰/۸۶۲	۱	
گروه سوم	۰/۷۰۲	۰/۷۶۵	۱

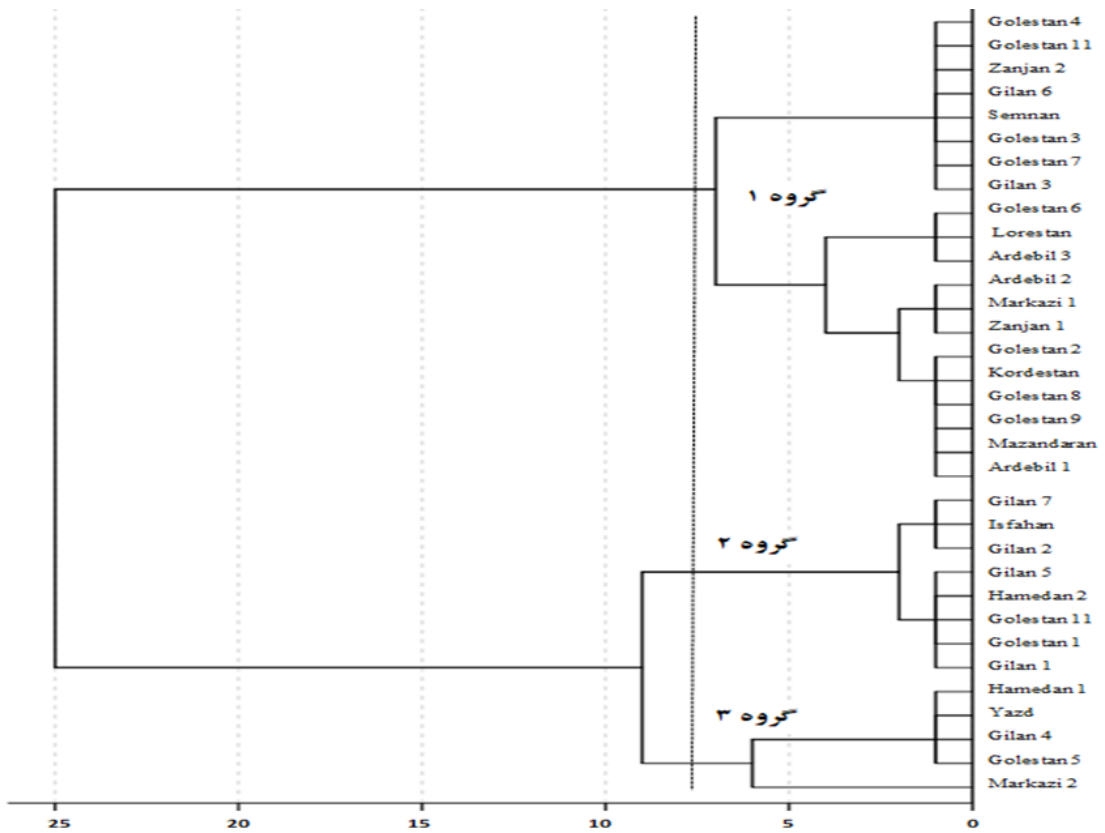
جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس مولکولی گروه‌های جمعیتی بومادران تماشایی

PhiPT	درصد واریانس	واریانس برآورد شده	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۰/۵۴**	۵۴	۶/۱۱	۶۲/۸۰	۱۲۵/۶۰	۲	بین گروه‌ها
	۴۶	۵/۲۴	۵/۲۴	۱۵۷/۲۵	۳۰	درون گروه‌ها
	۱۰۰	۱۱/۳۵		۲۸۲/۸۵	۳۲	کل

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های بومادران تماشایی براساس نشانگر مولکولی ISSR



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های بومادران تماشایی براساس صفات مرفولوژیک و فنولوژیک



## بحث

نتایج بررسی نشانگر مولکولی ISSR بر روی جمعیت‌های بومادران تماشایی با استفاده از آغازگرهای منتخب، تنوع ژنتیکی قابل توجهی را بین جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد، به طوری که کمترین درصد چندشکلی بیش از ۸۰ درصد بود (میزان میانگین = ۸۸/۳۹٪). شاخص نسبت چندگانه مؤثر (EMR) تابعی از تعداد نوارهای چندشکل و درصد چند شکلی است و انتظار می‌رود هرچه تعداد نوارهای چندشکل یک آغازگر بیشتر باشد میزان این شاخص نیز بیشتر باشد (Varshney *et al.*, 2007). در این تحقیق، بیشترین میزان این شاخص برای آغازگر P<sub>۱۲</sub> بود که با توجه به بالا بودن تعداد نوارهای چندشکل آن نسبت به سایر آغازگرها، توجیه‌پذیر است. یک شاخص دیگر برای انتخاب آغازگر مناسب، شاخص قدرت تفکیک (Rp) است، زیرا هم از تعداد افراد دارای باند و هم از تعداد آلل‌ها تأثیر می‌پذیرد (Hahn, 2018). در این تحقیق میزان این شاخص که توانایی تفکیک آغازگرهای انتخابی را نشان می‌دهد در آغازگر P<sub>۱۲</sub> دارای بیشترین مقدار بود که نشان می‌دهد این آغازگر نسبت به سایر آغازگرها قدرت تفکیک بیشتری دارد. شاخص نشانگر (MI) نیز از تعداد مکان‌های ژنی چندشکل حاصل از آغازگرها در برآورد کارایی و قدرت تفکیک آنها استفاده می‌کند و زیاد بودن میزان آن نشان‌دهنده تعداد بیشتری نوار چندشکل و فراهم کردن اطلاعات بیشتری از ژنوم است (Spooner *et al.*, 2005). بیشترین میزان این شاخص در آغازگر P<sub>۱۲</sub> مشاهده شد که کارایی خوب این آغازگر نسبت به سایر آغازگرها را نشان می‌دهد. بیشترین مقادیر شاخص میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای آغازگرهای ۱-۳ و P<sub>۱۲</sub> بود. بنابراین این دو آغازگر سطح تمایز بالاتری نسبت به سایر آغازگرهای مورد بررسی دارند و توانایی آنها در آشکارسازی چندشکلی بیشتر است. طبق نظر Botstein و همکاران (۱۹۸۰) مقدار  $PIC > 0.25$  و  $0.5 > PIC$  نشان‌دهنده آغازگر با کارایی بالا در تفکیک و تمایز جمعیت‌های خویشاوندی نزدیک و  $PIC < 0.25$  نشان‌دهنده آغازگر دارای کارایی کم است. در این تحقیق، مقدار PIC بین ۰/۳۷۲ و ۰/۴۲۶ و به طور میانگین برابر با ۰/۳۹۰ بود که بیانگر این است که آغازگرهای مورد استفاده

حاوی اطلاعات مفیدی بوده و پراکندگی مناسبی در ژنوم مورد بررسی داشته‌اند. به عبارت دیگر دارای توالی‌های مکمل مکان‌هایی در جمعیت‌های مورد بررسی هستند که این توالی در جمعیت‌ها تغییرات دارند، زیرا پس از تکثیر چندشکلی نشان داده‌اند (Muminovic *et al.*, 2004).

نتایج این پژوهش و مقدار زیاد چند شکلی نوارهای ISSR نشان‌دهنده مناسب بودن این روش برای مطالعات تنوع ژنتیکی گونه بومادران تماشایی است. همچنین نتایج حاصل از نشانگرهای مختلف نشان داد که نقش آغازگر P<sub>۱۲</sub> در تفکیک جمعیت‌های بومادران تماشایی بیش از سایر آغازگرهاست، بنابراین در مطالعات آینده می‌توان از آن برای تجزیه مجموعه ژرم پلاسما این گونه استفاده کرد.

تکثیر گیاه بومادران تماشایی در طبیعت به دو صورت غیرجنسی (از طریق ریزوم) و جنسی (بذر) انجام می‌شود (Mozaffarian, 2007). با توجه به اینکه پراکنش دانه گرده در گیاهان جنس بومادران عمدتاً از طریق حشرات بوده و باد نقش کوچکی را بر عهده دارد و با در نظر گرفتن گستره نسبتاً محدود گرده‌افشانی بوسیله حشرات، مهاجرت ژن در فواصل طولانی به ندرت رخ خواهد داد و عملاً بومادران از سازوکار خاصی برای گسترش ژن به فواصل دوردست برخوردار نیست (Lofgren, 2002). در این تحقیق نیز با توجه به فاصله جغرافیایی قابل توجه میان رویشگاه‌های بومادران تماشایی در مرکز، شمال و غرب کشور و وجود رشته‌کوه‌های زاگرس در غرب و البرز در شمال کشور، امکان تبادل ژنتیکی و مهاجرت ژن بین این جمعیت‌ها در مناطق شمال، مرکز و غرب کشور اندک است، زیرا موانع طبیعی همانند سدی در برابر پراکنش ژنی این گونه عمل کرده و سبب جداسازی گروه‌های جمعیتی از یکدیگر در طی دوره تکامل‌شان شده است. همچنانکه بر اساس داده‌های مولکولی، جمعیت‌های متعلق به استان‌های شمالی گیلان، مازندران و گلستان در گروه اول، جمعیت‌های حاضر در استان‌های غربی همدان، کردستان، لرستان، اردبیل و زنجان در گروه دوم و در نهایت جمعیت‌های جمع‌آوری شده از استان‌های مرکزی کشور شامل اصفهان، مرکزی، سمنان و یزد در گروه سوم قرار گرفتند. بدین ترتیب این جمعیت‌ها در هر منطقه جغرافیایی، در یک گروه

استفاده از موادی است که دارای کمترین خویشاوندی و بیشترین فاصله ژنتیکی باشند. در چنین شرایطی تنوع بیشتر می‌شود و امکان تجمع صفات مطلوب از منابع مختلف در نتاج مهیا می‌گردد و بدین وسیله زمینه آسیب‌پذیری ژنتیکی افراد حاصل از تلاقی کاهش می‌یابد (Yang et al., 2005). با توجه به اینکه در این تحقیق کمترین میزان تشابه میان جمعیت‌های گروه اقلیم شمال و جمعیت‌های گروه اقلیم مرکزی دیده شد، بنابراین می‌توان با تلاقی بین جمعیت‌هایی که در این دو گروه دور از هم قرار گرفته‌اند، نتاج نوترکیب متجاوز برای انتخاب در برنامه‌های اصلاحی را تولید کرد.

با وجود انجام برخی تحقیقات در مورد خصوصیات مورفولوژیک و فنولوژیک بومادران تماشایی، این تحقیق اهمیت مطالعات مولکولی (به‌ویژه سیستم نشانگری ISSR) را در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های این گونه برای انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های دورگ‌گیری نشان داد. همچنین با توجه به اینکه تکثیر غیرجنسی در بومادران تماشایی معمول‌تر از تکثیر جنسی است (Lofgren, 2002)، از این رو استفاده از راهبردهای حفاظتی برای حفظ تنوع ژنتیکی لازم است. به‌عنوان مثال، محدودیت چرا در زمان‌های مشخص و یا ایجاد مناطق حفاظت شده (به‌ویژه در مراتع شمال کشور که بومادران تماشایی از تنوع بیشتری برخوردار است)، می‌تواند برای بهبود پراکنش بذر یا تکثیر رویشی جمعیت‌ها مؤثر باشد. علاوه بر این، سهم بالای تکثیر رویشی در بومادران تماشایی سبب می‌شود که بروز بیماری‌های جدید و یا تغییر در شرایط اقلیمی، آسیب زیادی به این جمعیت در منطقه وارد نماید، زیرا افراد جمعیت بدلیل حاصل شدن از تکثیر یک یا چند گیاه واحد، از پایه ژنتیکی ضعیفی برای مقابله با تنش‌های زیستی و یا غیر زیستی برخوردارند. بنابراین توجه بیشتر به جمع‌آوری بذر جمعیت‌های بومادران تماشایی در نقاط مختلف کشور و جمع‌آوری آنها در بانک‌های ژن ضروری است تا ضمن حفظ گنجینه ژنی این گونه از نابودی و زوال، امکان تلاقی‌های هدفمند بین این جمعیت‌ها در گروه‌های دور که از صفات مطلوبی مانند مقاومت به بیماری‌ها، عملکرد بالا، سازگاری مطلوب و میزان اسانس بالا برخوردارند (و در نهایت معرفی ارقام جدید با

مجزا قرار گرفتند. مطابقت گروه‌بندی جمعیت‌های بومادران تماشایی بر اساس داده‌های مولکولی، با تقسیم‌بندی جغرافیایی مناطق پراکنش آنها در موافقت با اعلام Rahimmalek و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر وجود ارتباط میان تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی جمعیت‌های بومادران هزاربرگ قرار دارد.

با وجود تبعیت الگوی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی از پراکنش جغرافیایی آنها، گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس داده‌های مورفولوژیک و فنولوژیک، مطابقت چندانی با تمایز آنها بر اساس تعلق به نواحی مختلف نشان نداد، به طوری که در هر سه گروه جمعیتی حاصل از صفات فنوتیپی، ترکیبی از جمعیت‌های مناطق جغرافیایی مختلف مشاهده شد. نتایج آزمون مانتل نیز عدم وجود همبستگی معنی‌دار میان نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیک را تأیید نمود ( $r=0/12$ ). با توجه به اینکه داده‌های مولکولی تمام سطح ژنوم و داده‌های فنوتیپی (مورفولوژیک) تنها بخش‌های رمزکننده ژنوم را پوشش داده و به شدت تحت تأثیر محیط می‌باشند (Lin et al., 2010)، عدم ارتباط معنی‌دار میان داده‌های فنوتیپی و مولکولی، توجیه پذیر است. عدم تطابق نتایج حاصل از داده‌های مورفولوژیک و مولکولی پیش از این توسط Roldan-Ruiz و همکاران (۲۰۰۱) و Celebi و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است.

با توجه به فاصله جغرافیایی بین گروه‌های جمعیتی و کاهش جریان ژنی بین گروهی، وجود تنوع ژنتیکی بالا بین گروه‌های جمعیتی مورد بررسی توسط آنالیز مولکولی، قابل انتظار بود. از میان گروه‌های جمعیتی، گروه جمعیتی شمال کشور ناهمگونی بیشتری را نسبت به سایر گروه‌های جمعیتی نشان داد که بیانگر وجود قابلیت بالای تنوع ژنی در میان جمعیت‌های آن است، بنابراین باید در جمع‌آوری ژرم‌پلاسما توجه بیشتری به این منطقه مبذول شود. به‌ویژه اینکه تخریب گسترده منابع طبیعی مناطق خزری در دهه‌های اخیر سبب کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومادران تماشایی منطقه شده که این موضوع می‌تواند سبب کاهش توانایی جمعیت‌های این گونه در سپری کردن تغییرات محیطی و در نهایت از بین رفتن بخش عمده‌ای از جمعیت‌های این خطه در بلندمدت گردد (Reed & Frankham, 2003). یکی از راه‌های مطمئن برای دستیابی به هتروزیس بالا،

- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalised regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.
- Morsy, A.A., 2007. Molecular variations of *A. fragranissima* (Forssk.) SCH. BIP. growing in five areas of South Sinai. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9: 11–17.
- Mozaffarian, V., 2007. Flora of Iran (No. 59). Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (In Persian).
- Muminović, J., Melchinger, A.E. and Lübberstedt, T., 2004. Genetic diversity in corn salad (*Valerianella locusta* L.) and related species determined by AFLP markers. *Plant Breeding*, 123: 460-466.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
- Rahimmalek, M., Gharibi, S., Mirlohi, A., Majidi, M. M. and Tabatabaei, B., 2011. Assessment of genetic diversity in *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* and *Achillea millefolium* subsp. *elbursensis* using morphological and ISSR markers. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(5): 2413-2423.
- Reed, D.H. and Frankham, R., 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservational Biology*, 17: 230-237.
- Roldan-Ruiz, F. A., Galliland, T. J., Dubreuil, C., Dillman, C. and Lallemand, J., 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lilium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1161-1168.
- Sharifi sirchi, Gh., Taheri, E., Shirzadian Khorramabad, R., Sabouri, A. and Abbaszadeh, Kh., 2016. Investigation of genetic and photochemical diversities of yarrow (*Achillea wilhelmsii*) in Iran. *Modern Genetics Journal (MGJ)*, 11(3): 367-376.
- Spooner, D., van Treuren, R. and de Vicente, M. C. 2005. Molecular markers for genebank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. Plant Genetic Resources Institute (now Bioversity International, Inc.), Rome, Italy.
- Varshney, R.K., Chabane, K., Hendre, P.S., Aggarwal, R.K. and Graner, A., 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science*, 173:638–649.
- Yang, B.C., Xiao, B.G., Chen, X.J. and Shi, C.H., 2005. Genetic diversity of flue-cured tobacco varieties based on ISSR markers. *Yi Chuan-Hereditas*, 27:753-758.
- خصوصیات برتر) فراهم شود.
- ### منابع مورد استفاده
- Bai, S. N. 2017. Reconsideration of plant morphological traits: from a structure-based perspective to a function-based evolutionary perspective. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-15.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W., 1980. Construction of genetic linkage map in man using restriction length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- Celebi, A., Texen, M., Acik, L. and Aytac, Z., 2006. Taxonomic relationships in genus *Fritillaria* (Liliaceae): Evidence from RAPD-PCR and SDS PAGE of seed proteins. *Acta Botanica Hungarica*, 50: 325-343.
- Chen, S. L., Yu, H., Luo, H. M., Wu, Q., Li, C. F. and Steinmetz, A., 2016. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chinese medicine*, 11: 37-47.
- Denduangboripant, J., Sornsuda, S. and Wilasinee, S., 2010. Determination of local tobacco cultivars using ISSR Molecular Marker. *Chiang Mai Journal of Science*, 37(2): 293-303.
- Fares, K., Guasmi, F., Touil, L., Triki, T. and Ferchichi, A., 2009. Genetic diversity of *Pistachio* tree using inter-simple sequence markers (ISSR) supported by morphological and chemical markers. *Biotechnology*, 8(1): 24-34.
- Farhodi, R. and Mehrnia, M.A., 2015. Study of growth, essential oil percentage and essential oil component of *Achillea* spp under Shoushtar climatic condition in fall planting. *Journal of Horticultural Science*, 29(3): 349-357 (In Persian).
- Ghani, A., Tehranifar, A., Shoosharian, S. and Boghrati, M., 2011. Comparative study of ornamental potential of six *Achillea* species from Iran. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, 2: 139-155.
- Hahn, M., 2018. *Molecular Population Genetics*. Oxford university press, London.
- Karamenderes, C. and Apaydin, S., 2003. Antispasmodic effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler on the rat isolated duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3): 175-179.
- Lin, X.C., You, Y.F., Liu, J., Peng, J.S., Liao, G.L. and Fang, W., 2010. Crossbreeding of *Phyllostachys* species (Poaceae) and identification of their hybrids using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 9(3): 1398-1404.
- Lofgren, A., 2002. Effects of isolation on distribution, fecundity, and survival in the self-incompatible *Achillea millefolium* (L.). *Ecoscience*, 9(4): 503-508.

## Investigation of genetic diversity in Iranian populations of *Achillea nobilis* using ISSR molecular markers and morphological traits

M. Mottaghi<sup>1\*</sup>, P. Salehi Shanjani<sup>2</sup>, A.A. Jafari<sup>3</sup>, M. Mirza<sup>4</sup> and M.R. Bihamta<sup>5</sup>

1\* Corresponding author, Assist. Prof. Horticulture Crops Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Hamedan, I.R. Iran, E-mail: m.motaghi@areeo.ac.ir

2. Assoc. Prof, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran

3. Prof, Dept. Rangeland Research, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R.Iran

4. Prof, Dept. Medicinal Plants Research, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R.Iran

5. Prof, Dept. Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources University of Tehran, Karaj, I.R. Iran

Received: 04.05.2020

Accepted: 23.11.2020

### Abstract

Spectacular yarrow (*Achillea nobilis*) is an important medicinal plant with various therapeutic properties that naturally grows in large areas of Iran. In this study, the genetic diversity of 33 populations of *A. nobilis* available in the gene bank of the Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR) was evaluated using ISSR markers. Ten plants were selected from each population and their DNA was extracted. From a total of 12 ISSR primers, six primers with an average of 88% polymorphism were used to study the diversity and differentiation of the populations. The P<sub>12</sub> and P<sub>5</sub> primers showed the highest number of bands with 13 and 11 bands, respectively, while primer 1-7 with 7 bands showed the lowest number of bands. The Polymorphic Information Content (PIC), Marker Index (MI), Effective Multiple Ratio (EMR), and Resolution index (Rp) were calculated for all the primers. Subsequently, P<sub>12</sub> primer was recognized as the best for genetic diversity analysis of spectacular yarrow. Cluster analysis of the molecular data showed a close relationship between the geographical distribution and genetic diversity of *A. nobilis* populations. Accordingly, the populations collected from each region (North, center, and West of Iran) were placed in a separate group. Based on the genetic parameters, the highest genetic diversity was among populations from the North of Iran. Segregation of the populations based on the morphological traits did not correlate significantly with geographical distribution. According to the results, ISSR markers were efficient for studying the genetic diversity of *A. nobilis* populations and can be used in future studies to analyze the germplasm collection of *A. nobilis*. Additionally, due to the extinction risk of medicinal species, breeders can take advantage of the wide genetic diversity among *A. nobilis* populations for targeted crosses, in breeding improve varieties and conservation strategies of this species.

**Keywords:** Genetic parameters, *Achillea nobilis*, Geographical distribution, Cluster analysis.