Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research DOI: 10.22092/ijrfpbgr.2025.368950.1473

Vol. 32, No. 2, Page 252-270 (2025)

Autecology and molecular study of medicinal species *Ferula assa-foetida* and *F. gummosa* (Apiaceae) in North Khorasan province

Ali Shirdel[1], Abolfazl Tahmasebi[2] *, Fatemeh Nasrollahi[3] and Majid Mohammad Esmaeili[4]

1- M.Sc. Graduate, Dept. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
2- Corresponding Author, Assoc. Prof. Dept. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. Email: ab_tahmasebi@gonbad.ac.ir
3- Assist. Prof. Dept. Biology, Faculty of Sciences, University of Qom, Qom, Iran.
4- Assoc. Prof. Dept. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

Received: 22/07/2024 Revised: 31/10/2024 Accepted: 31/12/2025

Abstract

Background and Objective

The use of medicinal plants as by-products of grazing has a long history in Iran. In order to economically exploit the available resources in the field of natural resources, it is essential to accurately identify and define the ecological characteristics of these plants. This study was conducted to understand the ecological and molecular characteristics of *Ferula gammusa* and *F. assa-foetida* in North Khorasan province. These plants grow in mountainous and highland areas of Iran and are perennial plants with deep roots. The presence of these species in watersheds is of great importance due to stabilizing soil texture and preventing soil erosion, which consequently prevents the filling of dams with sediment from watersheds. Studying the ecological and molecular characteristics of these species is essential to identify effective conservation methods and prevent their extinction.

Materials and Methods

The study consisted of identifying the habitat areas of these species by recording their geographical locations, recording the vegetative characteristics of the plants, and measuring and taking soil samples at a depth of 0 to 30 cm. Research was also conducted regarding the climatic characteristics, associated plants, and the analysis of the chemical and physical factors of the soil in this habitat. Plant samples collected from the field were carefully studied and identified, and their leaves were used to extract DNA using a kit method. Molecular relationships from both *Ferula* species along with 9 other species extracted from the genbank were studied by analyzing the molecular relationships of the nuclear and chloroplast nrDNA rpl32-trnL $_{(UAG)}$ ITS sequences.

Results

Ecological results showed that the ground surface is gravel, stone and rocky. Ecological results showed that the soil surface of the study area is gravel, stone and rocky. The soil texture is clay loam and sandy loam with medium to shallow depth and fine to medium angular structure with medium resistance. The analysis between the pH and EC values of soil samples showed that these

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijrfpbgr.areeo.ac.ir//) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

two variables have a negative correlation with each other. In other words, as soil pH increases, soil EC decreases. The two characteristics of pH and soil electrical conductivity were examined in 10 soil samples from the study area. The soil pH in the sampling area ranges between 7.7 and 8.3. The standard deviation between the data shows that the variability in soil type in terms of pH was low. The results of EC measurements revealed that the EC of soil samples ranges between 1.14 and 1.35 microsiemens per centimeter, and the data dispersion is low. Furthermore, molecular studies showed that all the studied species form a monophyletic group with high support (PP = 1.00, ML BS = 100, MP BS = 100).

Conclusion

Results of this study demonstrate the efficacy of molecular markers in determining taxonomic relationships at the species level, and they can serve as complementary tools for taxonomic identification of *F. gummosa* and *F. assa-foetida*. The present study revealed that combining ITS and rpl32-trnL$_{(UAG)}$ sequence data with habitat analysis clearly distinguishes between *F. assa-foetida* and *F. gummosa*. The obtained data can significantly contribute to conservation efforts, ecological balance maintenance, and sustainable utilization of these valuable medicinal plants.

Keywords: Ecology, *Ferula,* Medicinal plants, Molecular mark.

مطالعه آت‌اکولوژی و مولکولی گونه‌های دارویی *Ferula assa-foetida* و *F. gummosa* (Apiaceae) در استان خراسان شمالی

علی شیردل[۱]، ابوالفضل طهماسبی[۲*]، فاطمه نصرالهی [۳] و مجید محمداسمعیلی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

پست‌الکترونیک: ab_tahmasebi@gonbad.ac.ir

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

۴- دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱ تاریخ اصلاحات نهایی: ۱۴۰۳/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۱

چکیده

سابقه و هدف

استفاده از گیاهان دارویی به منزله محصولات فرعی مرتع، در کشور ایران سابقه‌ای طولانی دارد. شناسایی صحیح و تعیین خصوصیات اکولوژیک این گیاهان، لازمه بهره‌برداری اقتصادی از ظرفیت‌های موجود در عرصه منابع طبیعی است. این مطالعه به‌منظور شناخت خصوصیات بوم‌شناختی و مولکولی گونه‌های باریجه (*Ferula gummosa*) و آنغوزه (*F. assa-foetida*) شهرستان مانه و سِمِلقان در استان خراسان شمالی انجام شد. این گیاهان در مناطق کوهستانی و ییلاقی کشور ایران رشد می‌کنند و گیاهانی چند ساله با ریشه‌های عمیق بوده، وجود این گونه‌ها در حوزه آبخیز به دلیل تثبیت بافت خاک و جلوگیری از شسته شدن بستر خاک که بالطبع از پرشدن سدها از گل و لای آبخیزها جلوگیری می‌کند، از اهمیت بسزایی برخوردار است و مطالعه ویژگی‌های اکولوژیکی و مولکولی این گونه‌ها به منظور شناخت روش‌های مؤثر حفاظت و جلوگیری از انقراض آن ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از طریق شناسایی مناطق رویشگاهی گونه‌های مورد مطالعه با ثبت موقعیت جغرافیایی محل رویش، ثبت ویژگی‌های رویشی گیاه، اندازه‌گیری و نمونه‌برداری از خاک رویشگاه در عمق ۰ تا ۳۰ سانتیمتری انجام شد. بررسی مشخصات اقلیمی، گیاهان همراه و تجزیه فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی خاک این رویشگاه انجام گردید. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده به‌دقت مطالعه و شناسایی و از برگ آنها برای استخراج DNA با روش کیت استفاده شد. بررسی روابط مولکولی دو گونه *F. assa-foetida* و *F. gummosa* مورد مطالعه به همراه ۹ گونه دیگر مستخرج از بانک ژن با هدف آنالیز روابط مولکولی از توالی‌های هسته‌ای nrDNA ITS و کلروپلاستی rpl32-trnL(UAG) انجام گردید.

نتایج

نتایج اکولوژیک نشان داد که سطح خاک منطقه مورد مطالعه به صورت سنگریزه‌ای، سنگی و صخره‌ای است. بافت خاک لومی رسی و لومی شنی با عمق متوسط تا کم و ساختمان بدون زاویه ریز و متوسط با مقاومت متوسط دارند. بررسی بین مقدار pH و EC نمونه‌های خاک نشان داد که این دو متغیر همبستگی منفی باهم دارند، به عبارتی با افزایش مقدار pH خاک مقدار EC خاک کاهش می‌یابد. دو ویژگی pH و هدایت الکتریکی خاک در ۱۰ نمونه خاک منطقه مورد مطالعه بررسی شد. pH خاک در محدوده نمونه‌برداری بین ۷/۷ تا ۸/۳ متغیر بود. انحراف استاندارد بین داده‌ها بیانگر این بود که پراکندگی نوع خاک از نظر pH کم است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری EC نشان داد که EC نمونه‌های خاک بین ۱/۳۵-۱/۱۴میکرو زیمنس بر سانتی‌متر قرار دارد و خاک محدودیت شوری ندارد و پراکندگی

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijrfpbgr.areeo.ac.ir//) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

داده‌ها کم می‌باشد. همچنین مطالعات مولکولی بیانگر این بود که همه ۱۱ گونه مورد بررسی یک گروه تک نیا با حمایت بالا PP =1.00, (ML BS =100, MP BS=100) را تشکیل می‌دهند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده کارآیی نشانگرهای مولکولی در تعیین قرابت و خویشاوندی تاکسونها در سطح گونه می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان ابزار مکمل در شناسایی تاکسونومیک گونه‌های باریجه و آنغوزه استفاده گردد. این مطالعه نشان داد که ترکیب داده‌های توالی هسته‌ای ITS و کلروپلاستی rpl32-trnL(UAG) به همراه تحلیل رویشگاه‌ها، تفاوت‌های بین *F. assa-foetida* و *F. gummosa* را آشکار می‌کند. اطلاعات بدست‌آمده می‌تواند در جهت حفظ و تعادل و بهره‌برداری پایدار از این گیاهان دارویی با ارزش، کمک فراوانی بکند.

واژه‌های کلیدی: بوم‌شناختی، گیاهان دارویی، نشانگر مولکولی، *Ferula*

مقدمه

حفظ، اصلاح، توسعه و بهره برداری صحیح از رویشگاه‌ها مستلزم شناخت جامع و کامل ویژگیهای اکولوژیک آنهاست (Srivastava and Shym, 2002). بنابراین، بررسی نیازمندیهای اکولوژیک هریک از رستنی‌ها ضروری است و منجر به جمع‌آوری اطلاعات مهمی در ارتباط با هریک از گیاهان رشد کرده در زیستبوم‌های مرتعی می‌شود (Howaize and Shahmoradi, 2010). با مطالعه ویژگی‌های بوم‌شناختی فردی یک گونه، می‌توان اثر عوامل محیطی بر پراکنش جغرافیایی، ویژگیهای ریختی و مراحل فنولوژیک مانند جوانه‌زنی، رشد رویشی و زایشی گیاه را ارزیابی کرد (Török et al., 2021). استفاده از گیاهان دارویی به منزله محصولات فرعی مرتع، در کشور ایران سابقه‌ای طولانی دارد. شناسایی صحیح و تعیین خصوصیات اکولوژیک این گیاهان، لازمه بهره‌برداری اقتصادی از ظرفیت های موجود در عرصه منابع طبیعی است.

امروزه از نشانگرهای ژنتیکی و ریختی برای شناسایی گونه‌های گیاهی استفاده می‌شود. در گذشته شناسایی گونه‌ها اغلب براساس صفات ریختی بوده که این نوع شناسایی ممکن است تحت تأثیر عوامل محیطی یا تغییرپذیری درون‌گونه‌ای قرار گیرد (Farsi and Hasani and Azadfar, 2016, Zolali, 2015). امروزه در تاکسونومی گیاهی، شناسایی گونه‌ها با تلفیق نشانگرهای ریختی و نشانگرهای مولکولی انجام می‌شود (Yang et al., 2023).

جنس فرولا *Ferula* L. متعلق به تیره کرفسیان (Apiaceae Lindl) دارای حدود ۱۷۰ گونه است که از آسیای مرکزی به سمت غرب تا شمال آفریقا پراکنش دارند (Nowak, *et al*., 2020). حدود ۳۰ گونه از این جنس در فلور ایران وجود دارد که برخی از آنها انحصاری هستند (Mozaffarian, 2004, Mozaffarian, 2007). گونه *Ferula gummosa* Boiss. (باریجه) گیاهی چندساله با ساقه ضخیم به ارتفاع ۱ تا ۲ متر است. گلهای آن زرد رنگ و مجتمع به صورت خوشه‌های مرکب با تراکم بالاست. این گیاه یکی از مهمترین گیاهان دارویی ایران است و رتبه اول صادرات را در بین گیاهان دارویی ایران به خود اختصاص داده است (Ghahreman, 1999). این گیاه علفی، چند ساله و مونوکارپیک است که در سال آخر رویش (سال پنجم تا هشتم) به ساقه می‌رود و تشکیل گل و میوه می‌دهد (Bakhshi Khaniki, 2008). صمغ حاصل از باریجه دارای مصارف صنعتی است (Pimenov and Leonov, 1993) و نیز دارای خواص ضد میکروبی، ضد تشنج، ضد نفخ، خلط‌آور، ضد زکام، ضد روماتیسم، ضد درد، ضد هیستریک، ملین، ضدعفونی‌کننده و ضد دیابت است (Zargari, 2014).

آنغوزه گیاهی است دارویی، مرتعی و صنعتی که با توجه به نوع گیاه دو نوع آنغوزه تلخ و شیرین از آن برداشت می‌شود. آنغوزه شیرین *Ferula assa-foetida* است که صمغ این گونه رایحه ملایم‌تر و طعم کمتر تند دارد و در مناطق شمال‌شرقی ایران (به‌ویژه خراسان) یافت می‌شود. آنغوزه تلخ *Ferula foetida* است که صمغی با بوی شدید و طعم بسیار تلخ دارد و بیشتر در غرب ایران و مناطق کوهستانی زاگرس

دیده می‌شود (Mozaffarian, 1984).

نمونه‌های فراوانی از مطالعه بوم‌شناختی فردی گونه‌های مرتعی به‌ویژه گونه‌های سرده *Ferula* انجام شده است. در بررسی اکولوژی فردی گونه *Ferula assa-foetida* نتیجه‌گیری شده است که از هر پایه گیاه در طول دوره زندگی نباید بیش از یکبار بهره‌برداری شود و گونه‌هایی که به سن بذردهی رسیده‌اند و سال آخر عمر خود را می‌گذرانند نباید مورد بهره‌برداری قرار گیرند (Pourreza, 2006). مطالعه اکولوژیکی روی باریجه در منطقه مشهد انجام شد. نتایج نشان داد که بهترین زیستگاه‌ها برای این گیاه، شیب‌های شمالی با ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰ متری است که خاک آنها عمیق، زهکشی‌شده، سرشار از هوموس و با مقادیر مختلفی از آهک می‌باشد (Zeinali *et al*., 2014). بررسی آناتاکولوژی گونه *Ferula gummosa* در استان قم نشان داد که این گونه در دامنه ارتفاعی ۲۱۵۰ تا ۳۲۲۰ متر از سطح دریا، در شیبهای ۴۰ تا ۶۰ درصد، با بارندگی ۳۰۷ میلیمتر رویش دارد. این گونه قادر به تحمل دما از ۲۳/۵- تا ۳۹ درجه سانتی‌گراد است (Bashari and Shahmoradi, 2004).

مطالعه مولکولی و اکوفیزیولوژیکی بر روی گیاه دارویی باریجه انجام شد و از دیدگاه مولکولی از طریق استخراج DNA ژنومی، تعیین توالی و مطالعات بیوانفورماتیکی برای شناسایی موقعیت مولکولی گیاه و نیز معرفی نیازهای رشدی گیاه و شناخت ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی از قبیل موقعیت جغرافیایی، EC و pH خاک رویشگاه پرداخته شد (Karamzadeh *et al*., 2015). گروهی از پژوهشگران به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) در ایران، با استفاده از مارکرهای مولکولی RAPD پرداختند (Talebi Kohyakhy et al., 2008). در این تحقیق، از نشانگر مولکولی RAPD برای تعیین تنوع ژنتیکی ۱۳ جمعیت باریجه در ایران استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌های مختلف باریجه را به ۳ گروه اصلی تقسیم‌بندی نمود. نتایج این پژوهش، بیانگر کارآمدی نشانگر RAPD در تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های باریجه مورد مطالعه می‌باشد. تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های باریجه مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگر AFLP مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج این بررسی حکایت از وجود تنوع بالا در بین اکوتیپهای موجود باریجه دارد و با توجه به اینکه اکوتیپهای باریجه از مناطق مختلف جغرافیایی هستند و ترکیبات اسانس آنها متفاوت است، وجود تنوع ژنتیکی تأییدکننده این مطلب می‌باشد که اختلافات فیتوشیمیایی نمونه‌ها تنها به دلیل اثر محیطی نیست، بلکه توسط عوامل ژنتیکی هم کنترل می‌شوند (Khounani *et al*., 2011).

در یک مطالعه یافته‌های فیلوژنتیک مولکولی جدید استنباط شده از نشانگرهای هسته‌ای و کلروپلاستی با متابولیت‌های ثانویه استنباط شده از داده‌های فیتوشیمیایی موجود مقایسه شد تا روابط فیلوژنتیکی درون گونه‌های ایرانی این سرده مورد بررسی قرار گیرد (Panahi and Mahmoodi, 2021).

در یک مطالعه روابط فیلوژنتیکی بین ۱۲۶ گونه *Ferula* براساس DNA ریبوزومی هسته‌ای و سه ناحیه پلاستیدی ارزیابی شد. نتایج نشان‌دهنده ناهماهنگی قابل توجهی بین داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی است که تکامل شبکه‌ای فشرده، به‌ویژه در منطقه فلوریستیک ایرانو-تورانی را نشان می‌دهد (Panahi *et al*., 2018).

با توجه به اینکه گیاه باریجه و آنغوزه در مناطق کوهستانی و ییلاقی کشور ایران رشد می‌کنند و گیاهانی چند ساله با ریشه‌های عمیق بوده، وجود این گونه‌ها در حوزه آبخیز به دلیل تثبیت بافت خاک و جلوگیری از شسته شدن بستر خاک که بالطبع از پرشدن سدها از گل و لای آبخیزها جلوگیری می‌کند، از اهمیت بسزایی برخوردار است و مطالعه ویژگی‌های اکولوژیکی و مولکولی این گونه‌ها به منظور شناخت روش‌های مؤثر حفاظت و جلوگیری از انقراض آن ضروری به نظر می‌رسد. از سوی دیگر، باریجه و آنغوزه گونه‌های بومی ایران هستند و با توجه به اهمیت این گیاهان در طب سنتی، این پژوهش به بررسی خواص اکولوژیکی و مولکولی گونه‌های دارویی باریجه (*F. gummosa*) و آنغوزه (*F. assa-foetida*) در خراسان شمالی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه و جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

ابتدا منابع و مآخذ موجود شامل فلور ایران، فلورهای ایرانیکا، فلور رنگی ایران و مقالات مربوط به گونه‌های *F. gummosa* و *Ferula assa-foetida* مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نقشه‌های موجود منطقه کاری تعیین شده و مطالعه پراکنش جغرافیایی این گونه‌ها براساس عملیات میدانی، مشاهده مستقیم جمعیت‌های گوناگون از مناطق مختلف در سال ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ انجام و نقاط پراکنش گونه‌های باریجه و آنغوزه در منطقه مشخص گردید (شکل ۱). در مرحله بعد با عزیمت به مناطق پراکنش گونه‌ها، نسبت به جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه در فصل مناسب رشد (از اواخر بهمن‌ماه تا اردیبهشت‌ماه) اقدام گردید. کلیه نمونه‌های بررسی‌شده، در هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس (GKUH) نگهداری می‌شوند (جدول ۱). در این مطالعه به بررسی خصوصیات اکولوژیکی و مولکولی جمعیت‌های مذکور پرداخته شده است که در ذیل به تفکیک به آنها اشاره می‌گردد.

منطقه مورد مطالعه

جمع‌آوری گیاه باریجه و آنغوزه از شهرستان مانه و سِملِقان، در استان خراسان شمالی با مختصات جغرافیایی به طول ۳۷ درجه و ۵۶ دقیقه، عرض ۵۶ درجه و ۱۱ / ۹۲ دقیقه در ارتفاع حدود ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ متر با شیب بیشتر از ۴۵ درجه انجام شد. شهرستان مانه و سملقان به مرکزیت شهر آشخانه در شمال‌غربی استان خراسان شمالی واقع شده و از شمال و شرق به شهرستان بجنورد، از جنوب به شهرستان جاجرم و از غرب به استان گلستان محدود می‌گردد. شهرستان مانه و سملقان از نظر جغرافیایی به دو قسمت کوهستانی و دشتی تقسیم می‌شود (شکل ۲).

جدول ۱- فهرست نمونه‌های گیاهی بررسی شده در این مطالعه

Table 1 – List of Planrt Samples examined in this study

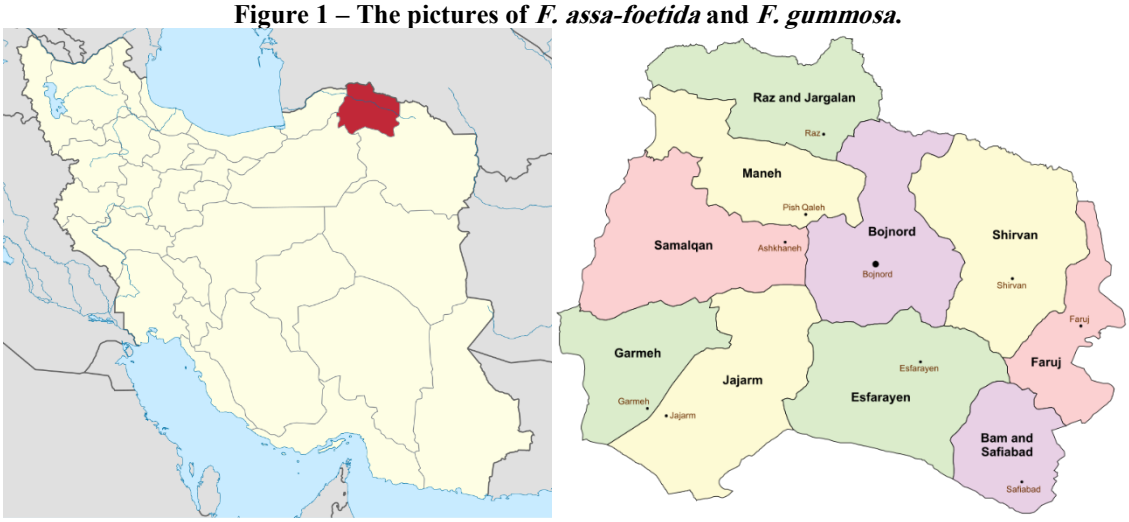
Species	Origin (province)	Origin (County)	Latitude	Longitude	Collector	Herbarium Number	Altitude mabsl
F. gummosa	North Khorasan	Samalqan	37°32′55″N	56°48′47″E	A. Shirdel	808414/1-GKUH	2520 m
F. gummosa	North Khorasan	Samalqan	37°32′55″N	56°48′47″E	A. Shirdel	808414/2-GKUH	2520 m
F. gummosa	North Khorasan	Samalqan	37°32′55″N	56°48′47″E	A. Shirdel	808414/3-GKUH	2520 m
F. assa-foetida	North Khorasan	Ashkhaneh	37°56′60″N	56°92′11″E	A. Shirdel	808424/1-GKUH	2400 m
F. assa-foetida	North Khorasan	Ashkhaneh	37°56′60″N	56°92′11″E	A. Shirdel	808424/2-GKUH	2400 m
F. assa-foetida	North Khorasan	Ashkhaneh	37°56′60″N	56°92′11″E	A. Shirdel	808424/3-GKUH	2400 m

F. gummosa

F. assa-foetida

شکل ۱– تصویر گونه‌های *F. assa-foetida* و *F. gummosa*

Figure 1 – The pictures of *F. assa-foetida* and *F. gummosa*.



شکل ۲– محدوده منطقه مطالعاتی در کشور و استان

Figure 2 - The map of the study area in the country and province

مطالعات اکولوژیکی

برای بررسی اکولوژیکی گونه‌های مورد نظر، اطلاعات جامع هر محل جمع‌آوری و یادداشت شد. سپس مشخصات و نوع خاک و اقلیم مناطق به آن اضافه گردید. نمونه‌برداری از عمق ۳۰–۰ سانتی‌متری انجام شد. نمونه‌های برداشت شده در عرصه به آزمایشگاه منتقل شده و پارامترهای بافت و pH خاک آن مشخص گردید.

مطالعات مولکولی

نمونه‌های جمع‌آوری شده و نیز نمونه‌های هرباریومی گونه‌های مورد نظر به دقت مطالعه و شناسایی شده و از برگ آنها برای استخراج DNA با روش کیت استخراج DNA گیاهی شرکت تیان ژن چین (DNA secure Plant Kit) استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه Nanodropتعیین شد. تکثیر توالی‌های DNA مورد نظر برای یک تا سه نمونه از هر گونه با استفاده از نشانگر هسته‌ای nrDNA ITS و کلروپلاستی rpl32-trnL$_{(UAG)}$ به کمک PCR انجام گردید. به‌منظور انجام واکنش PCR از آغازگرهای ITS4 و ITS5 (White et al., 1990) و کلروپلاستی rpl32-trnL$_{(UAG)}$ (Shaw et al., 2007) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ ارائه شده است. به منظور بررسی نتیجه PCR ، نمونه‌های PCR شده الکتروفورز شدند. محصولات PCR تک باند، بدون اسمیر و روشن پس از بررسی از طریق الکتروفورز ژل آگارز، برای

تعیین توالی به شرکت ژنتیک کدون ارسال گردید.

همچنین تحلیل داده‌های حاصل از مطالعات مولکولی همردیف‌سازی توالی‌ها بوسیله نرم‌افزار Clustal X (Larkin et al., 2007) و برنامه MUSCLE (Edgar 2004) انجام شد. به منظور بررسی روابط فیلوژنی توالی ۹ گونه دیگر از ژن بانک استخراج شد (۷ گونه به عنوان درون گروه و ۲ گونه به عنوان برون گروه انتخاب شدند). بازسازی درخت فیلوژنی براساس داده‌های حاصل از توالی‌های DNA به‌طور مجزا و ترکیبی با استفاده از روش‌های بیشینه صرفه‌جویی تعبیه شده در نرم‌افزار PAUP (Swofford 2002) و روش آماری بیزین موجود در نرم‌افزار MrBayes v.3.3 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) انجام شد.

جدول ۲- توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز و توالی‌یابی

Table 2. Sequences of primers used for polymerase chain reaction (PCR) and sequencing reactions

Primer name	Primer type	Primer sequence	Refrence
ITS5m	Forward	'GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG–3–'5	Sang et al. (1995)
ITS4	Reverse	'TCCTCCGCTTATTGATATGC–3–'5	White et al. (1990)
rpL32–F	Forward	'CAGTTCCAAAAAAACGTACTTC–3–'5	Shaw et al. (2007)
*trn*L(UAG)	Reverse	'CTGCTTCCTAAGAGCAGCGT–3–5'	Shaw et al. (2007)

نتایج

نتایج مطالعات اکولوژی

در این مطالعه پراکنش، اقلیم و مشخصات خاک رویشگاه گونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان داد سطح خاک رویشی گیاه باریجه به صورت سنگریزه‌ای، سنگی و صخره‌ای است. در ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ متر از سطح دریا در دامنه جنوبی با شیب حدود ۴۰ درجه تا ۸۵ درجه رشد می‌کند. رویشگاه‌های باریجه خاکهای بافت لومی رسی و لومی شنی و عمق متوسط تا کم عمق و ساختمان بدون زاویه ریز و متوسط با مقاومت متوسط دارند. آزمایش‌های بافت خاک، اسیدیته، هدایت الکتریکی، مواد آلی و درصد رطوبت اشباع نمونه‌های خاک رویشگاه مورد نظر بررسی شد (جدول ۳). براساس نتایج به دست آمده خاک رویشگاه از نظر اسیدیته جزو خاکهای اسیدی و از نظر زراعی فاقد محدودیت و جزو خاکهای نسبتاً سنگین محسوب می‌شود. بررسی آزمون همبستگی آماری بین مقدار pH و EC نمونه‌های خاک نشان داد که این دو متغیر همبستگی منفی با هم دارند، به عبارتی با افزایش مقدار pH خاک مقدار EC خاک کاهش می‌یابد. دو ویژگی pH و هدایت الکتریکی خاک در ۱۰ نمونه خاک منطقه مورد مطالعه بررسی شد. داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد که pH خاک در محدوده نمونه‌برداری بین ۷/۷ تا ۸/۳ متغیر بود. انحراف استاندارد بین داده‌ها بیانگر این بود که پراکندگی نوع خاک از نظر pH کم است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری EC نشان داد که EC نمونه‌های خاک بین ۱/۳۵- ۱/۱۴ میکرو زیمنس بر سانتی‌متر قرار دارد و پراکندگی داده‌ها کم می‌باشد.

خاک منطقه برای گونه باریجه اسیدیته بین ۸ تا ۸/۳ میلی‌موس بر سانتی‌متر را نشان می‌دهد. خاک کم عمق و گاهی نیمه‌عمیق، بافت متوسط تا سنگین (لومی، لومی شنی، لومی رسی و عمدتاً رسی لومی)، آهکی، گاهی تا حدود ۳۰ درصد آهک و بدون شوری و قلیاییت می‌باشد.

خاک منطقه برای گونه آنغوزه بافت سیلتی لوم تا سیلتی کلی و سیلتی کلی لوم، با اسیدیته ۷/۷ تا ۸/۶ میلی‌موس بر سانتی‌متر را نشان می‌دهد.

جدول ۳- جدول بررسی نمونه خاک رویشگاه‌های خراسان شمالی

Table 3. Analysis of soil samples from habitats in North Khorasan Province

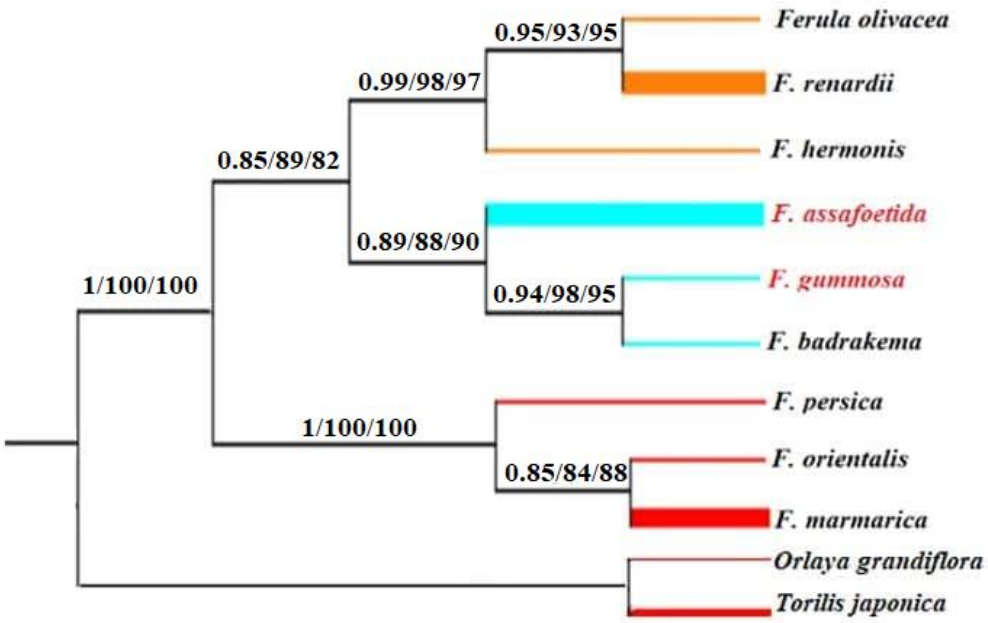
Species	Climate	Soil saturation Moisture (%)	Organic Matter (%)	EC	PH	Soil texture
F. gummosa	Arid and Semi-Arid	28.22	1.26	1.20	8.0-8.3	Silty loam to silty clay
F. assa-foetida	Arid and Semi-Arid	29.36	1.36	1.25	7.7-8.6	Silty loam to silty clay and silty clay loam

نتایج مطالعات مولکولی

آنالیز داده‌های nrDNA ITS

توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده nrDNA ITS مربوط به *F. assa-foetida* ماتریسی به طول ۶۹۲ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۱۲۳ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیر اطلاعاتی بودند. توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده nrDNA ITS مربوط به *F. gummosa* ماتریسی به طول ۶۵۴ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۱۲۱ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیر اطلاعاتی بودند (جدول ۴).

آنالیز داده‌های حاصل از nrDNA ITS به روش بیشینه صرفه‌جویی تعداد ۱۷۲ کوتاه‌ترین درخت با طول ۸۴ گام، شاخص پایداری (CI) معادل ۰/۶۵ و شاخص گروه‌پذیری (RI) برابر با ۰/۸۲ ایجاد کرد. الگوی شاخه‌بندی در درخت حاصل از آنالیز بیزین، بیشینه صرفه‌جویی و بیشینه درست‌نمایی مشابه است ولی در درخت حاصل از بیزین روابط گونه‌ها بهتر حل شد و کلادها از حمایت بالاتری برخوردار بودند. در ادامه، روابط آرایه‌های مورد مطالعه براساس درخت حاصل از آنالیز بیزین تشریح می‌گردد. درخت حاصل از توالی nrDNA ITS با ارزش‌های بوتسترپ و احتمال پسین در شکل ۳ نشان داده شده است. در این آنالیز گونه‌های *Orlaya grandiflora* و *Torilis japonica* براساس مطالعات قبلی (Panahi et al., 2018) به عنوان برون گروه انتخاب شدند. نتایج آنالیز تک نیایی بودن، گونه‌های *Ferula* را در این فیلوگرام با حمایت بالا PP= 1, ML (BS=100, MP BS=100) نشان می‌دهد.



شکل ۳- درخت تبارزایی حاصل از آنالیز توالی **nrDNA ITS** با استفاده از روش بیزین

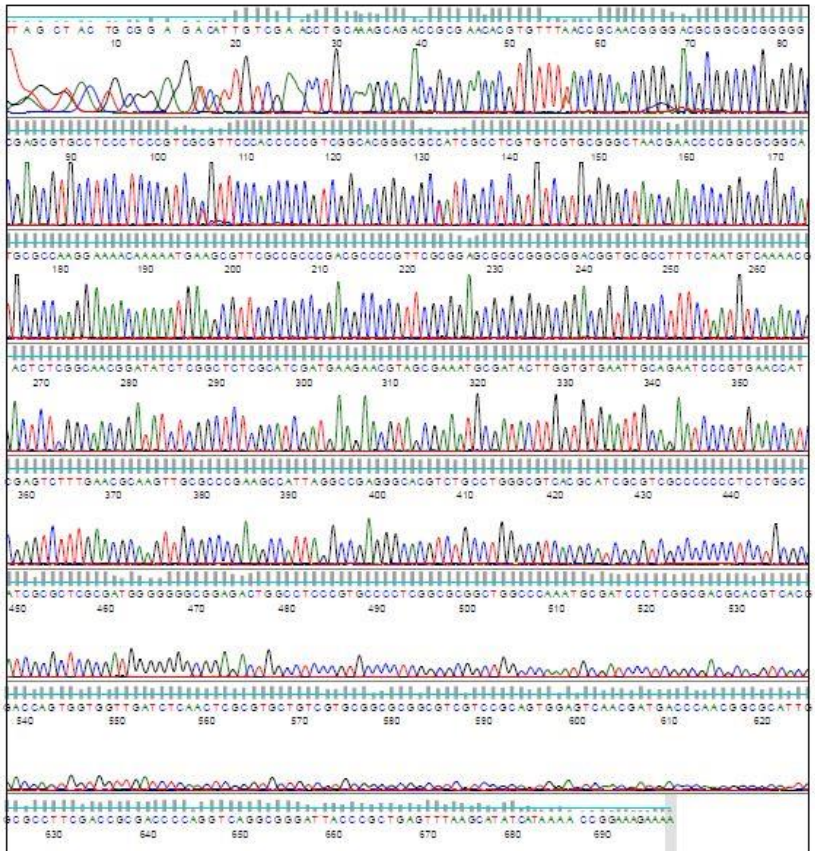
Figure 3. Phylogenetic tree resulting from Bayesian analysis of nrDNA ITS sequences.

اعداد روی شاخه‌ها، ارزش حدود اطمینان را از چپ به راست به ترتیب **PP Bayesian, BS Likelihood, BS Parsimony**. نشان می‌دهند .

Numbers on branches indicate support values (shown as Bayesian Posterior Probabilities [PP], Likelihood Bootstrap [BS], and Parsimony Bootstrap [BS] from left to right).

Only support values >50% are displayed مقدار حمایت بیشتر از ۵۰ نشان داده شده است.

این مطالعه با استخراج و تکثیر DNA ریبوزومی به مقایسه این توالی با توالی‌های موجود در بانک ژنومی NCBI پرداخته و به این سایت برای ثبت توالی ارسال شد. بررسی‌های بیوسیستماتیکی منجر به شناسایی گونه گیاهی از روی کلیدهای شناسایی شد. در نهایت آنالیز نتایج توالی بوسیله نرم‌افزار BLAST توالی در بانک ژنومی NCBI بیانگر یک توالی ۶۵۴ نوکلئوتیدی برای *F. gummosa* و یک توالی ۶۹۲ نوکلئوتیدی برای *F. assa-foetida* می‌باشد (شکل‌های ۴ و ۵).

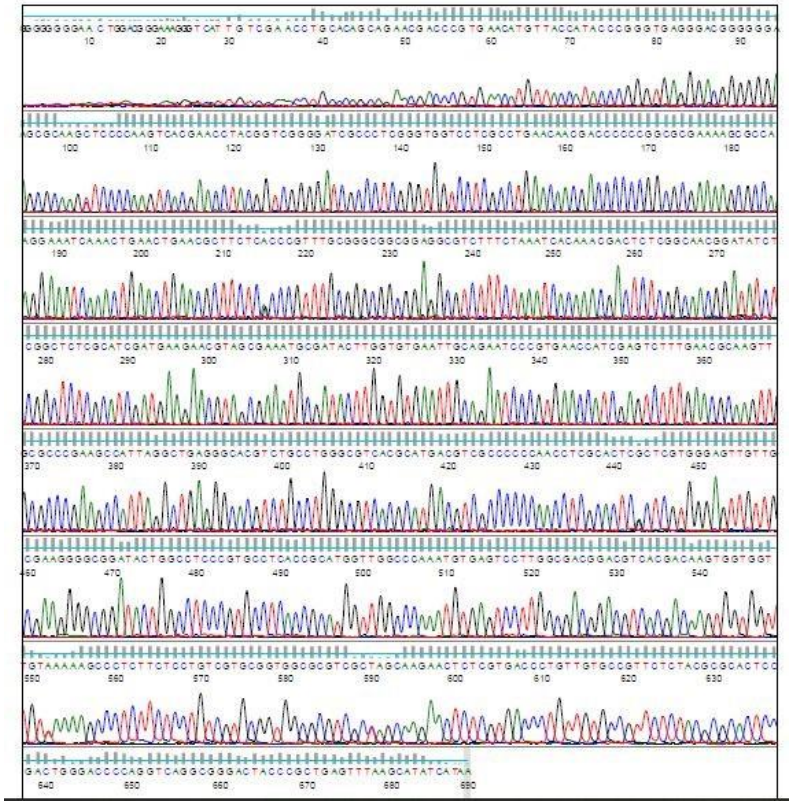


شکل ۴- کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی قطعه **nrDNA ITS** مربوط به ***F. assa-foetida***

Figure 4. Chromatogram of the nrDNA ITS sequencing results for *F. assa-foetida*.

آنالیز داده‌های rpl32-trnL(UAG)

توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده rpl32-trnL(UAG) مربوط به *F. assa-foetida* ماتریسی به طول ۱۱۶۷ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۲۷۴ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیر اطلاعاتی بودند. توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده rpl32-trnL(UAG) مربوط به *F. gummosa* ماتریسی به طول ۱۱۷۱ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۲۷۱ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیر اطلاعاتی بودند (جدول ۴).

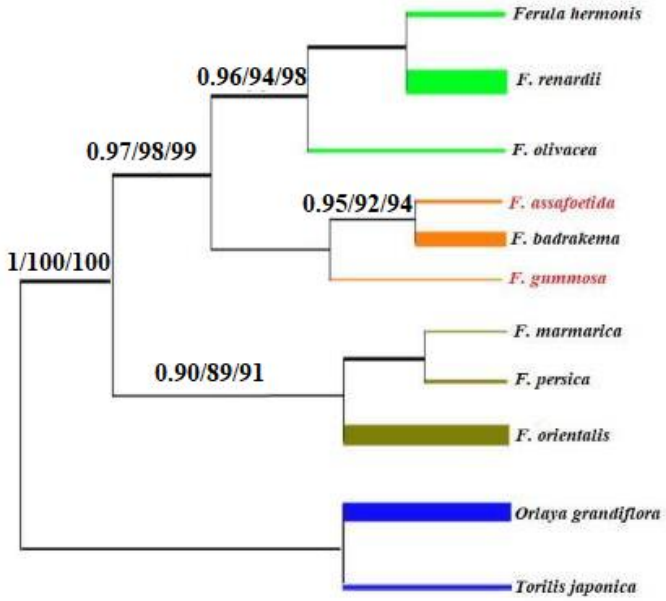


شکل ۵- کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی قطعه nrDNA ITS مربوط به *F. gummosa*

Figure 4. Chromatogram of the nrDNA ITS sequencing results for *F. gummosa.*

آنالیز داده‌های حاصل از rpl32-trnL$_{(UAG)}$ به روش بیشینه صرفه‌جویی تعداد ۱۴۴ کوتاه‌ترین درخت با طول ۹۳ گام، شاخص پایداری (CI) برابر ۰/۷۴ و شاخص گروه‌پذیری (RI) برابر با ۰/۷۶ ایجاد کرد. الگوی شاخه‌بندی در درخت حاصل از آنالیز بیزین، بیشینه صرفه‌جویی و بیشینه درست‌نمایی مشابه است ولی در درخت حاصل از بیزین روابط گونه‌ها بهتر حل شد و کلادها از حمایت بالاتری برخوردار بودند. در ادامه، روابط آرایه‌های مورد مطالعه براساس درخت حاصل از آنالیز بیزین تشریح می‌گردد. درخت حاصل از توالی rpl32-trnL$_{(UAG)}$ با ارزش‌های بوتسترپ و احتمال پسین در شکل ۶ نشان داده شده است. در این آنالیز نیز گونه‌های *Orlaya grandiflora* و *Torilis japonica* براساس مطالعات قبلی (Panahi et al., 2018) به عنوان برون گروه انتخاب شدند. نتایج آنالیز کلروپلاستی مانند آنالیز هسته‌ای، تک نیایی بودن گونه‌های *Ferula* را در این فیلوگرام با حمایت بالا (PP=1, ML BS=100, MP BS=100) نشان می‌دهد.

این مطالعه با استخراج و تکثیر DNA کلروپلاستی به مقایسه این توالی با توالی‌های موجود در بانک ژنومی NCBI پرداخته و به این سایت برای ثبت توالی ارسال کرده است. بررسی‌های بیوسیستماتیکی منجر به شناسایی گونه گیاهی از روی کلیدهای شناسایی شد. در نهایت آنالیز نتایج توالی بوسیله نرم‌افزار BLAST توالی در بانک ژنومی NCBI بیانگر یک توالی ۱۱۷۱ نوکلئوتیدی برای *F. gummosa* و یک توالی ۱۱۶۷ نوکلئوتیدی برای *F. assa-foetida* می‌باشد (شکل‌های ۷ و ۸).

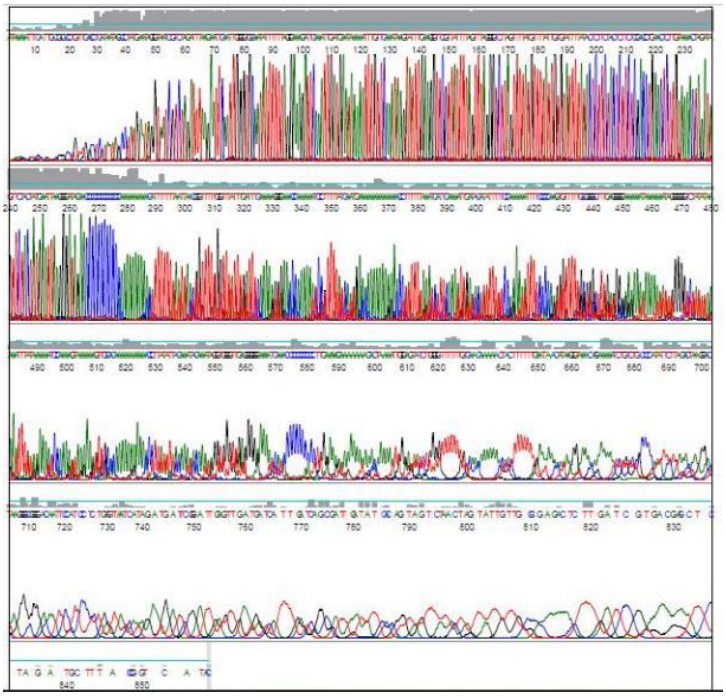


شکل ۶- درخت تبارزایی حاصل از آنالیز توالی **rpl32-trnL(UAG)** با استفاده از روش بیزین

اعداد روی شاخه‌ها، ارزش حدود اطمینان آنها را نشان می‌دهند (به ترتیب **PP Bayesian, BS Likelihood, BS Parsimony**).

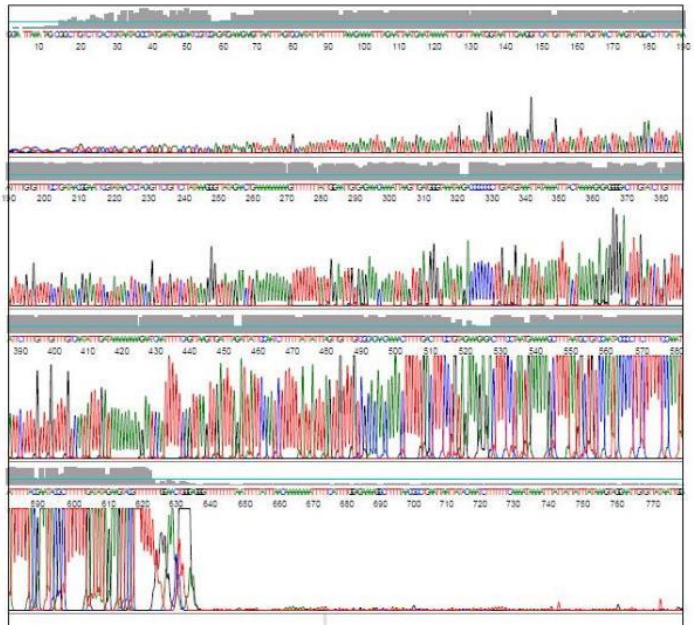
مقدار حمایت بالای ۵۰ نشان داده شده است.

Figure 6. Phylogenetic tree inferred from Bayesian analysis of the rpl32-trnL (UAG) sequence data. Branch labels indicate support values (shown as: Bayesian Posterior Probabilities [PP], Maximum Likelihood Bootstrap [BS], and Maximum Parsimony Bootstrap [BS] from left to right). Only support values >50% are displayed.



شکل ۷- کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی قطعه **rpl32-trnL(UAG)** مربوط به ***F. assa-foetida***

Figure 7. **Chromatogram of the rpl32-trnL (UAG) sequencing results for *F. assa-foetida*.**



شکل ۸- کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی قطعه **rpl32-trnL(UAG)** مربوط به ***F. gummosa***

Figure 7. **Chromatogram of the rpl32-trnL (UAG) sequencing results for *F. gummosa*.**

جدول ۴- ویژگی‌های توالی‌های هر داده و اطلاعات آماری درختان فیلوژنی

Table 4. Sequence characteristics and statistical parameters of phylogenetic trees

Total sample	nrDNA ITS	cpDNA *rpl*32-*trn*L$_{UAG}$
Number of sequences	11	11
Number of ingroup sequences	9	9
Alignment length [bp]	704	720
Informative characters/ Uninformative characters	243/ 461	110/ 610
Consistency index (CI), Retention index (RI)	0.65, 0.82	0.74, 0.76
Evolutionary model selected (under AIC)	SYM+I+G	GTR+G

SYM+I+G: Symmetrical substitution rates + Invariable sites + Gamma-distributed rates.
GTR+G: General Time-Reversible model (unequal base frequencies) + Gamma-distributed rates.

بحث

مطالعه رفتار اکولوژیکی گیاهان به عنوان عناصر اصلی اکوسیستم و ویژگی‌های رویشگاهی آنها گامی اساسی در جهت یافتن راه‌حل‌های مناسب برای حفظ، اصلاح و احیاء این بخش مهم از منابع طبیعی تجدیدشونده است. براساس بررسی‌های به عمل آمده در این مطالعه مشخص گردید که گونه‌های باریجه و آنغوزه با اقلیم منطقه مورد مطالعه به خوبی سازگاری دارند. عوامل مختلفی مانند تغییرات آب و هوا، از دست دادن زیستگاه، بهره‌برداری بیش از حد، آلودگی و گونه‌های مهاجم بیگانه به عنوان تهدید اصلی برای تنوع زیستی جهانی در قرن بیست و یکم تلقی می‌شوند. تغییرات اقلیمی تأثیر بسزایی بر ناحیه پراکنش مناسب گونه خواهد داشت که باعث کاهش تدریجی مساحت زیستگاه مناسب می‌شود (Larkin *et al*., 2007).

از آنجایی که موجودات زنده در زیستگاه خود تولیدمثل می‌کنند و جمعیت خود را توسعه می‌دهند، کیفیت زیستگاه می‌تواند مستقیماً بر توزیع و میزان بقا تأثیر بگذارد. براساس مطالعه پیشین سرده *Ferula* بخش Merwia، نقشه پیش‌بینی منطقه خراسان- کپه‌داغ را به عنوان بالاترین زیستگاه مناسب نشان می‌دهد (Panahi and Mahmoodi, 2021). این منطقه که در ۲۰ کیلومتری رویشگاه این تحقیق قرار گرفته است، در مطالعات دیگر نیز به‌عنوان یکی از مراکز تنوع تعیین شده است (Memariani *et al*. 2016a, Memariani *et al*. 2016b; Noroozi *et al*. 2019, Nowak *et al*. 2020). براساس نتایج

به دست آمده این تحقیق، خاک رویشگاه از نظر اسیدیته جزء خاکهای اسیدی و از نظر زراعی فاقد محدودیت و جزء خاکهای نسبتاً سنگین محسوب می‌شود. با توجه به نتایج مطالعه پیشین، خاک‌های کم عمق و گاهی نیمه‌عمیق، بافت متوسط تا سنگین (لومی، لومی شنی، لومی رسی و عمدتاً رسی لومی)، آهکی، گاهی تا حدود ۳۰ درصد آهک و بدون شوری و قلیاییت برای گیاه باریجه مطلوب است (Bashari and Shahmoradi, 2004).

بررسی همبستگی بین مقدار pH و EC نمونه‌های خاک نشان داد که این دو متغیر همبستگی منفی با هم دارند، به عبارتی با افزایش مقدار pH خاک، مقدار EC خاک کاهش می‌یابد. در پژوهشی مشابه، محققان بیان کردند که تجمع و انتقال عناصر به‌ویژه فلزهای سنگین در خاک به هدایت الکتریکی و pH وابسته است، به‌طوریکه pH اسیدی باعث قابل جذب شدن گونه‌های فلزی به صورت کاتیونی می‌شود (Brady and Weil, 2002). در خاک‌های قلیایی عناصر فلزی موجود در خاک به صورت نامحلول و رسوب در می‌آید و تحرک کمتری پیدا می‌کند و انتقال آنها به گیاه کمتر می‌شود، بنابراین خاک‌های اسیدی خطرناک‌تر از خاک‌های قلیایی از لحاظ جذب برخی از فلزهای سنگین می‌باشند. EC بالای خاک نشان‌دهنده حالت کاتیونی و قابل جذب بودن یون‌های فلزی است و بالا بودن مقدار کاتیون‌های قابل تبادل خاک بیانگر ظرفیت بارگیری بالای خاک نسبت به فلزهاست (Waalewijn-Kool *et al*., 2014).

مطالعه اکولوژی گونه‌های *Ferula* از این نظر نیز حائز اهمیت است که تأثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه در این گیاه بررسی شده است که در بیشتر موارد بر نقش رویشگاه به عنوان عامل تأثیرگذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است (Hemati *et al*., 2003). مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرایند تشکیل مواد مؤثره تأثیرگذار باشد. همسو با نتایج این مطالعه دیگر محققان نشان دادند که میزان متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر رویشگاه‌ها و اندام‌های مختلف گیاه باریجه متغیر است (Talebi Kohyakhy *et al*., 2008).

گونه‌های بومی بسیار حساس به تغییرات آب و هوایی هستند و ممکن است در آینده خطر انقراض داشته باشند و به راهبرد حفاظت بیشتری نیاز دارند. به عنوان مثال، به منظور محافظت از *Ferula xylorhachis* Rech.f. (بومی شمال‌شرقی ایران) از خطر انقراض ناشی از گرم شدن کره زمین و تغییرات آب و هوایی، پیشنهاد شده است این گونه به مناطق جدیدی مانند کوه‌های زاگرس منتقل شود (Mazangi *et al*. 2016) که پدیده‌ها ممکن است بر وجود گونه‌ها و الگوی پراکنش منطبق با اکوسیستم تأثیر بگذارند. عوامل دیگری مانند کیفیت خاک و فرسایش خاک می‌توانند تأثیر زیادی بر تعیین تناسب زیستگاه و پراکنش گیاه (Mousazade *et al*., 2019) و اختلالات طبیعی و انسانی و رقابت با سایر گونه‌ها داشته باشند (Qin *et al*. 2017). با وجود این، گونه‌های گیاهی مهاجم ممکن است منجر به انقراض گونه‌هایی شوند که نمی‌توانند به طور مؤثر رقابت کنند (به‌ویژه گونه‌های بومی کمیاب) (Mousavi Kouhi & Erfanian 2020).

شرایط اکولوژیکی و ساختار ژنتیکی می‌تواند به شدت ترکیب شیمیایی روغن اسانس را تحت تأثیر قرار دهد (Sayyah *et al*., 2001). بررسی سیستم ترشحی چهار گونه بومی *Ferula* از ازبکستان، نشان داد که این گونه‌ها با رشد در زیستگاه‌های مختلف، با سیستم ترشحی توسعه‌یافته و مجاری بزرگتر که ترپنوئیدهای بیشتری تولید می‌کنند، به عنوان گیاهان بیابانی سازگار شده‌اند. این موضوع باعث تجمع مقدار زیادی ترپنوئید و سایر ترکیبات فعال بیولوژیکی می‌شوند که برای بقا و تولیدمثل گیاه در محیط خشک ضروری هستند (Khamraeva *et al*., 2018).

شناسایی و معرفی گیاهان دارویی توسط نشانگرهای مولکولی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. گیاه دارویی باریجه از خانواده چتریان در مناطقی از ایران و بخش‌هایی از پاکستان و ترکمنستان رشد می‌کند. این پژوهش به بررسی گیاه از دیدگاه مولکولی از طریق استخراج DNA ژنومی، تعیین توالی و مطالعات بیوانفورماتیکی برای شناسایی موقعیت مولکولی گیاه پرداخت. نتایج استخراج DNA ژنومی،

خالص‌سازی و بعد استخراج توالی ITS آن توسط PCR انجام شد. تعیین توالی آن به بانک ژن به منظور ثبت نهایی ارسال شد.

گروهی از محققان به مطالعه مولکولی باریجه پرداختند (Karamzadeh et al., 2015). نتایج تخلیص DNA ژنومی بیانگر کیفیت مناسب DNA استخراج شده بود و نتایج PCR بر روی DNA ژنومی با استفاده از پرایمرهای ITS5m و ITS4بیانگر ایجاد محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ در ناحیه ۷۰۰-۶۰۰ جفت باز بود، به‌طوری‌که در نهایت یک توالی ۶۸۷ نوکلئوتیدی در بانک ژن به ثبت رسید. در راستای این تحقیق، در این مطالعه نیز توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده nrDNA ITS مربوط به *F. gummosa* ماتریسی به طول ۶۵۴ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۱۲۱ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیر اطلاعاتی بودند.

مطالعاتی در مورد فیلوژنی تیره Apiaceae انجام شده است (Ajani *et al.*, 2008; Kouyakhi and Naghavi,2008; Kurzyna-Młynik *et al.*, 2008). در مطالعه فیلوژنتیکی گونه‌های *Ferula* با استفاده از توالی هسته‌ای در ترکیه نشان دادند که این سرده تک‌نیا است (Elibol *et al.*, 2012). سرده *Ferula* از دیرباز به عنوان یک جنس تک‌نیا در نظر گرفته می‌شود، زیرا اعضای آن از نظر زیستگاه و مورفولوژی مشابه هستند (Shad, 1996)، اما مطالعات مولکولی اخیر بیان کردند که در طبقه‌بندی سطوح بالا و پایین اختلاف‌نظر وجود دارد. به‌طوری‌که در تحقیقات سیستماتیک مولکولی اخیر بیان کردند براساس داده‌های nrDNA ITS، *Ferula* به صورت چندنیا ظاهر شده است (Kouyakhi and Naghavi, 2008).

همسو با نتایج این تحقیق، در مطالعه پناهی و همکاران (Panahi *et al.*, 2020) دو گونه مهم اقتصادی *F. assa-foetida* و *F. gummosa* در یک کلاد و در بخش Merwia قرار گرفتند. این کلاد در بخش جنوب‌غربی منطقه فلوریستیک ایران-تورانی وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد که این گروه در معرض تکامل شبکه‌ای شدید قرار دارد که مرزهای بین گونه‌ها را محو می‌کند.

نتیجه‌گیری

متأسفانه طی سال‌های اخیر برداشت بی‌رویه و غیرعلمی (روش‌های برداشت سنتی) باریجه و آنغوزه، باعث کاهش میزان رویش این گونه‌ها شده است. به همین جهت تراکم بوته‌های باریجه و آنغوزه در مراتع به شدت پایین آمده و نسل این گیاهان مفید در معرض خطر انقراض قرار گرفته است. این مطالعه نشان داد که خصوصیات بوم‌شناختی و داده‌های مولکولی در شناسایی گونه‌های مورد مطالعه مفید است. ترکیب داده‌های بوم‌شناختی با داده‌های مولکولی خطای شناسایی را کاهش می‌دهد. به‌طوری‌که دو جمعیت با ظاهر مشابه ممکن است از نظر ژنتیکی یا نیازهای اکولوژیکی متفاوت باشند. البته شناسایی جمعیت‌های بومی با ارزش دارویی بالا براساس ترکیب ژنتیک و سازگاری اکولوژیکی کاربردهای حفاظتی نیز دارد. این مطالعه نشان داد که ترکیب داده‌های ITS و rpl32-trnL$_{(UAG)}$ به همراه تحلیل رویشگاه‌ها، تفاوت‌های بین *F. assa-foetida* و *F. gummosa* را آشکار می‌کند، در حالی که روش‌های مورفولوژیکی به تنهایی کافی نیستند. ازاین‌رو، استفاده همزمان از این دو روش پایگاه علمی محکمی برای توصیف گونه‌های جدید، مدیریت بهره‌برداری پایدار از منابع دارویی و طراحی برنامه‌های حفاظتی می‌باشد. بنابراین اطلاعات بدست‌آمده می‌تواند در جهت حفظ و تعادل و بهره‌برداری پایدار از این گیاهان دارویی با ارزش، کمک فراوانی بکند.

References

– Ajani, Y., Ajani, A., Cordes, J.M., Watson, M.F. & Downie, S.R. 2008. Phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences reveals relationships within five groups of Iranian Apiaceae subfamily Apioideae. Taxon, 57(2): 383- 401.

– Bashari, H. & Shahmoradi, A. 2004. Autecology of three range plant species, *Artemisia sieberi, Stipa hohenackeriana and Ferula gummosa* in range ecosystems of Qom Province. Iranian Journal of Range and Desert Research. 11: 287-307. (In Persian).

– Bakhshi Khaniki, Gh. 2008. Trees and shrubs of Iran. Payam Noor University Publications. Tehran, Iran 186 pages. (In Persian).

– Brady, N. C. & Weil, R. R. 2002. The nature and properties of soil. 13th ed., Springer Netherlands, 249 pp.

– Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research. 32: 1792-1797.

– Elibol, Z., Menemen, Y., Sağiroğlu, M. & Duman, H. 2012. A molecular phylogenetic study on some Turkish *Ferula* l. (Apiaceae) species using the nrdna sequences. Pakistan Journal of Botany, 44(2): 589-594.

– Farsi, M. & Zolali, J. 2015. Principles of Plant Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad Publications, Mashhad, Iran, 554 pages. (In Persian).

– Ghahreman, A. 1999. Iranian Color Flora. First Edition, Research Institute of Forest and Rangeland publication, Tehran, Iran. 125 pages. (In Persian).

– Hasani, SM. & Azadfar., D. 2016. Identification of plant species using modern molecular markers and DNA barcoding techniques. The Fourth National Conference of Student Scientific Associations in Agriculture, Natural Resources and Environment. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (2016, May 10-12). (In Persian).

– Hemati, K.H., Omidbeigi, R. & Bashiri Sadr, Z. 2003. Effect of climate and harvest time on the qualitative and quantitative characteristics of flavonoids of citrus varieties. PhD thesis, Submitted to Modares University. Tehran, Iran. (In Persian).

– Howaize, H. & Shahmoradi, A. 2010. Autecology of Cenchrus ciliaris in Khuzestan Province. Iranian Journal of Range and Desert Research. 16: 200-208. (In Persian).

– Karamzadeh, L., Jafarian, V., Vatankhah, E, & Amarlou, A. 2015. Molecular and ecophysiological study of the medicinal plant Ferula. Biotechnology of Medicinal Plants, 1(2): 63-78.

– Khamraeva DT, Beshko NY, Abdullayeva A.T., Sharipova VK. 2018. Structural investigation of the secretory system of some endemic and medicinal species of Apiaceae from Uzbekistan. Iran Jour. Bot.; 24:52-64. (In Persian).

– Khounani, Z., Naghavi, M., Omidi, M., Sabokdast, M., & Talebi Kohyakhi, E. 2011. Assessment of Genetic Diversity in the Landraces of *Ferula gummosa* from Iran Using AFLP Markers. Journal of Medical Plants; 10 (38):117-126 p.

– Kouyakhi, E.T. and Naghavi, M.R. & Alayhs, M. 2008. Study of the essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 44, 124–126.

– Kurzyna-Młynik, R., Oskolski, A.A., Downie, S.R., Kopacz, R., Wojewódzka A. & Spalik, K. 2008. Phylogenetic position of the genus Ferula (Apiaceae) and its placement in tribe Scandiceae as inferred fro nrDNA ITS sequence variation. Plant Systematic and Evolution, 274: 47.

– Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. & Higgins, D.G. 2007. Clustal Wand Clustal X version 2.0. Bioinformatics. 23: 2947-2948.

– Mazangi, A., Ejtehadi, H., Mirshamsi, O., Ghassemzadeh, F. & Hosseinian Yousefkhani, S.S. 2016. Effects of climate change on the distribution of endemic *Ferula xylorhachis* Rech.f. (Apiaceae: Scandiceae) In Iran: predictions from Ecological niche models. Russian Journal of Ecology 47(4): 349–354.

– Memariani, F., Akhani, H. & Joharchi, M.R. 2016a. Endemic plants of Khorassan-Kopet Dagh floristic province in Irano-Turanian region: diversity, distribution patterns and conservation status. Phytotaxa 249(1): 31–117.

– Memariani, F., Zarrinpour, V. & Akhani, H. 2016b. A review of plant diversity, vegetation and

phytogeography of the Khorassan-Kopet Dagh floristic province in the Irano-Turanian region (northeastern Iran-southern Turkmenistan). Phytotaxa 249(1): 8–30.
– Mousavi Kouhi, S.M. & Erfanian, M. 2020. Predicting the present and future distribution of Medusahead and Barbed Goat grass in Iran. Ecopersia 8(1): 41–46.
– Mousazade, M., Ghanbarian, Gh. Pourghasemi, H.R., Safaeian, R. & Cerdà, A. 2019. Maxent data mining technique and its comparison with a bivariate statistical model for predicting the potential distribution of *Astragalus fasciculifolius* Boiss. In Fars, Iran. Sustainability 11: 3452.
– Mozaffarian, V. 1984. Plant of the family of Umbelliferae in Iran, Vol. 35. Research Institute of Forest and Rangelands Press, Tehran, Iran. (In Persian).
– Mozafarian, V. 2000, Plant taxonomy, Second edition, dicotyledons. Amirkabir Press. Tehran, Iran. pp 347-382. (In Persian).
– Mozaffarian, V. 2004. A dictionary of Iranian plant names. Farhang-e Moaser, Tehran, Iran. 4275p. (In Persian).
– Mozaffarian, V. 2007: Flora of Iran, No. 54. Umbelliferae. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 596 pp.
– Noroozi, J., Talebi, A., Doostmohammadi, M., Manafzadeh, S., Asgarpour, Z. & Scheeweiss, G.M. 2019. Endemic diversity and distribution of the Iranian vascular flora across phytogeographical regions, biodiversity hotspots and areas of endemism. Scientific Reports 9: 12991.
– Nowak, A., Świerszcz, S., Nowak, S., Hisorev, H., Klichowska, E., Wróbel, A., Nobis, A. & Nobis, M. 2020. Red list of vascular plants of Tajikistan, the core area of the mountains of Central Asia global biodiversity hotspot. Scientific Reports 10: 6235.
– Panahi, M. & Mahmoodi, M. 2021. Species distribution patterns of Ferula sect. Merwia. Rostaniha, 22(2): 159-185.
– Panahi, M., Rezaee, M. and Jaimand, K. 2020. A Review of Phytochemistry and Phylogeny that Aid Bio-prospecting in the Traditional Medicinal Plant Genus Ferula L. (Apiaceae) in Iran. Journal of Medicinal plants and By-products, 9(2), 133-148. Doi: 10.22092/jmpb.2020.123118.
– Panahi M, Banasiak L, Piwczyński M, Puchałka R, Kanani MR., Oskolski, A. A., Modnicki, D., Miłobędzka, A., & Spalik, K. 2018. Taxonomy of the traditional medicinal plant genus *Ferula* (Apiaceae) is confounded by incongruence between nuclear rDNA and plastid DNA. Botanical Journal of Linnean Society 188 (2): 173-189. https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy055.
– Pimenov, M.G. & Leonov, M.V. 1993. The genus of the Umbelliferae. Kew: Royal Botanic Gardens.
– Pourreza, J. 2006. Phytochemistry and ecological study of Diplotaniaca chridifolia species in the pastures of Taleghan. Master's thesis. Natural Resources. Faculty of Tehran University, Tehran. (In Persian).
– Qin, A., Liu, B., Quanshui, G., Bussmann, R.W., Ma, F., Jian, Z., Xu, G. & Pei, Sh. 2017. Maxent modeling for predicting impacts of climate change on the potential distribution of Thuja sutchuenensis
– Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. 19: 1572-1574.
– Sang, T. 1995. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution and biogeography of Paeonia (Paeoniaceae). – Am. J. Bot. 84: 1120–1136.
– Sayyah, M. & Kamalinejad, M. and Bahrami Hidage, R. and Rustaiyan, A. 2001. Antiepileptic potential and composition of the fruit essential oil of *Ferula gummosa* Boiss. Iranian Biomedical Journal, 5, 69–72. (In Persian).
– Shad, Q. 1996. Autecology of *Ferula assa-foetida* and investigation of its harvesting methods in Mohammad Abad region of Chelpo, Kashmar. M.Sc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran. (In Persian).
– Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E. & Small, R.L., 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: the tortoise and the hare III. American Journal of Botany, 94: 275–288.
– Srivastava, A.W. & Shym, S. 2002. Citrus: Climate and soil. International Book Distributing Company, p. 559.

– Swofford, D. L. 2002. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods), ver. 4.0b10. Sinauer.
– Talebi Kohyakhy, E., Mohammad Aliha, M. & Naghavi, M. 2008. Genetic diversity in *Ferula gummosa* Boiss. populations of Iran using RAPD molecular markers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 23(4): 514-522. (In Persian).
– Török P, Brudvig LA, Kollmann J, N Price J, Tóthmérész B. 2021. The present and future of grassland restoration. Restoration Ecology. 29:e13378. doi.org/10.1111/REC.13378.
– Waalewijn-Kool, P. L. & Rupp, S. and Lofts, S. and Svendsen, C. 2014. Effect of soil organic matter content and pH on the toxicity of ZnO nanoparticles to Folsomia candida. Ecotoxicology and Environmental Safety, 108: 9-15.
– White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S., & Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. – In: Innis, D. H. et al. (Eds), PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, pp. 315–322.
– Yang, Y., Xing, Y., Li, M., Zhang, T., Sun, H., & Liu, J. 2023. Integrating morphological and molecular data for species delimitation in complex plant groups: A case study in *Gentiana* (Gentianaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 180, 107678.
– Zargari, A. 2014. Medicinal Plants. University of Tehran Publications, Eighth Edition. Tehran, Iran. 4275 pages. (In Persian).
– Zeinali, Z., Hemati, Kh. Mazandarani, M., & Asghari, J., 2014. Aut ecology, Ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula Gummosa* Boiss. In different regions of Razavi Khorasan province. Eco-Phytochemical Journal of Medical Plants, 1(4 4), 11-22. (In Persian).