



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست بوم گیاهان"

دوره یازدهم، شماره بیست و دوم

<http://pec.gonbad.ac.ir>

مطالعه گیاه‌شناسی درخت ارس در منطقه گوی‌نیک جرجلان (استان خراسان شمالی)

محمدصحت پارسه^{۱*}، علی ستاریان^۲، ابوالفضل دانشور^۳، الهام امینی^۴، فاطمه نصرالهی^۴، راضیه سعادت^۵

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

^۲ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

^۳ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

^۴ دانش آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم

^۵ دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۸

چکیده

شناخت ارتباط بین پوشش گیاهی و عوامل محیطی در مدیریت بهتر اکوسیستم یک منطقه موثر است. در این تحقیق شاخص‌های مولکولی، ریخت‌شناسی، گرده‌شناسی و آناتومی گونه *Juniperus excelsa* در استان خراسان شمالی، منطقه گوی‌نیک جرجلان، مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از نشانگر هسته‌ای (ITS)، به مقایسه توالی این تاکسون با توالی‌های موجود در بانک ژنومی NCBI پرداخته شد. تکامل هم‌نوا از طریق نوترکیبی و با تبادل ژنی نابرابر باعث هم‌گرایی تکرارهای توالی‌های هسته‌ای شده است. شاخص‌های ریخت‌شناسی مخروط ماده و بذر مطالعه شد. دانه گرده توسط دستگاه میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) بررسی شد. نتایج نشان داد که تمامی دانه‌های گرده منفرد، تک‌شیار سطحی از نوع *Ulcuate*، نامتقارن و از نظر اندازه کوچک بودند. از لحاظ شکل کروی کشیده (*Prolate spheroidal*) با تزئینات اگزین دانه دانه (*Granulate*) می‌باشند. طرح کلی گرده‌ها در LM، دایره‌ای با سطح صاف و بدون فرورفتگی است ولی در دانه گرده مورد بررسی در میکروسکوپ الکترونی SEM به صورت نامنظم و دارای فرورفتگی‌هایی هستند. در مطالعات تشریحی برش عرضی ساقه و برگ بررسی شد. نتایج مطالعات تشریحی برگ نشان داد که در گونه *J. excelsa* میانگین طول بیرونی روزنه ۲۸/۴۷ میکرومتر و طول درونی آن ۱۷/۱۸ میکرومتر است. هم‌چنین میانگین عرض بیرونی روزنه ۱۳/۶۶ میکرومتر و عرض درونی روزنه ۴/۸۷ میکرومتر محاسبه شد. تراکم روزنه در واحد mm^2 ۱۳۶ است. در برش عرضی سطح مقطع ساقه نازک ارس در سرشاخه‌ها شکلی دایره‌ای دارد؛ زیرا میانگین قطر طولی و عرضی آن تفاوت چندانی با هم ندارند. میانگین قطر بزرگ برش عرضی ۲۸۶/۳ میکرومتر و قطر کوچک برش عرضی ۲۷۸/۵ میکرومتر و میانگین ضخامت پوست ۲۰۱/۸ میکرومتر است. در بحث احیاء و تکثیر گونه‌های در خطر انقراض، پیدا کردن مکان طبیعی مناسب برای تولید و پرورش این نوع از گونه‌ها، اهمیت به‌سزایی دارد. لذا اگر در زمینه حفاظت از گونه *J. excelsa* غفلت صورت گیرد به خاطر سهولت دسترسی عوامل انسانی به این منطقه، خطر نابودی، آن‌ها را نیز هم‌چون سایر گونه‌های گیاهی کمیاب، تهدید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: حفاظت، گرده، مخروط، مطالعات تشریحی، مولکولی، nrDNA ITS

مقدمه

شناسایی گیاهان مفید، بازده اقتصادی و سلامت این اکوسیستم‌ها را دربردارد. در این شرایط، توجه به گونه‌های گیاهی که قدرت سازگاری با شرایط سخت اقلیمی را دارند و برای حفظ بقای خود، با عوامل متعدد طبیعی مبارزه می‌کنند؛ باید از اولویت‌های مهم پژوهشگران و محققان و

شناخت ارتباط بین پوشش گیاهی و عوامل محیطی در مدیریت بهتر اکوسیستم یک منطقه موثر است. به‌طوری‌که لازمه مدیریت پایدار اکوسیستم‌های طبیعی گیاهی، شناخت انواع گونه‌های گیاهی و رویشگاه آن‌ها است و

*نویسنده مسئول: parseh123p@gmail.com

مدیران اجرایی فعال در بخش‌های محیط‌زیست، منابع طبیعی، کشاورزی و صنعت باشد (عمرعطا و همکاران، ۱۳۹۸). سرده ارس با نام محلی آرچا و نام علمی *Juniperus* L. از شاخه مخروطیان و خانواده Cupressaceae است و با نام‌های متعددی در نقاط مختلف ایران شناخته می‌شود. این سرده با ۶۸ گونه مختلف در دنیا (Judd et al., 2003)، یکی از پایدارترین درختان سوزنی برگ است که بومی فراشمالگان و نواحی معتدل اوراسیا تا کوه‌های نواحی گرمسیری آفریقا، آمریکای شمالی تا گواتمالا و منطقه کارائیب است (Earle 2006; Farjon 1992). توانایی سازگاری با شرایط سخت آب‌وهوایی، تغییرات محیطی و زمین‌هایی با شیب تند و مرتفع، صفات شاخص این سرده است (کروری و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین دیگر سرده‌ها، توان رقابت طبیعی با آن‌ها را ندارند (Adams et al., 2014). این گیاه، مقاومت زیادی در برابر تنش‌های محیطی نشان می‌دهد و اغلب در سخت‌ترین شرایط زیست‌محیطی، زمین‌های صخره‌ای با خاک کم‌عمق و فقیر که امکان رویش برای اغلب گیاهان فراهم نیست، به بقای خود را به‌ر شکل ممکن ادامه می‌دهد (کروری و خوشنویس، ۱۳۷۹).

وجود گونه‌های مختلف سرده ارس در ایران و به‌خصوص در مناطق شمالی ایران، اهمیت فراوانی دارد؛ چراکه علی‌رغم حضور گونه‌های متنوع پهن‌برگ و درختان انبوه جنگلی، مرتفع و تنومند در ترکیب گونه‌ای جنگل‌های شمال کشورمان، تعداد اندکی از سوزنی برگان، که حداکثر ارتفاع رویشی (ارتفاع کل) آن‌ها، به بیش از ده متر نمی‌رسد، می‌توانند به‌صورت طبیعی در این مناطق رویشی مهم و حیاتی کشور استقرار یابند. زوهری (Zohari, 1973) درختان ارس در ایران را به‌عنوان گونه‌ای باستانی و باقی‌مانده از گستره وسیع جنگل‌های کوهستانی رشته‌کوه‌های فلات مرکزی ایران به حساب می‌آورد که دامنه گسترش آن به خارج از ایران نیز کشیده شده است. وی معتقد است که دخالت‌های فراوان انسانی، تحولات شرایط اقلیمی و عوامل متعدد فرسایش مناطق کوهستانی، در تجزیه و کاهش وسعت این جنگل‌ها مؤثر بوده است.

درخت ارس از سوزنی‌برگان همیشه‌سبز در ایران به شمار می‌آید که ارزش حفاظتی بسیار زیادی دارد. به لحاظ اکولوژیکی دارای سازگاری بسیاری است و آشیان اکولوژیک وسیعی را به خود اختصاص می‌دهد و معمولاً در استان

خراسان از ارتفاع ۸۰۰ متر تا دو هزار و ۵۰۰ متری می‌روید. این درخت نسبت به آفات و امراض یا تنش‌های اقلیمی مانند گرما، سرما و بی‌آبی مقاومت زیادی از خود نشان داده است. اگر رویشگاه‌های آن امروز خالی و خالی‌تر می‌شود، به علت مرگ طبیعی این درختان نیست، بلکه به علت بهره‌برداری بی‌رویه و تغییر کاربری رویشگاه‌های آن است (پورمجیدیان و مرادی، ۱۳۸۸).

مطالعات مولکولی بر روی گونه‌های ایرانی *Juniperus* محدود است. آدامز و حجتی (Adams & Hojati, 2012) با استفاده از چهار ناحیه (-trnD, petN-psbM, nrDNA, trnT, trnS-trnG) 3,705 bp نشان دادند که تاکسون‌های مربوط به *Juniperus* در جنوب ایران بسیار متنوع هستند. آدامز و همکاران (Adams, et al., 2014) با استفاده از همین نواحی حمایت بسیار بالایی برای تاکسون‌های *Juniperus* var. *turcomanica* در فسا (جنوب غربی ایران) به‌دست آوردند. این محققان همچنین در سال ۲۰۱۶ با استفاده از مارکر هسته‌ای nrDNA ITS روابط بین دو گونه *J. polycarpus* K. Koch و *J. excelsa* M. Bieb را در آسیای صغیر بررسی کردند و شواهدی مبنی بر lineage sorting یا hybridization ما بین گونه‌های *J. polycarpus* و *J. seravschanica* در مرکز ترکیه و شمال غربی ایران نشان دادند. در زمینه مطالعات گرده‌شناسی، گونه *J. excelsa* توسط هالبریت (Halbritter, 1998) بررسی شد و مشخص گردید که گرده‌ها کوچک، نامتقارن، با یک شیار سطحی و تزئینات دانه‌دار هستند. لاکوشیچ، آناتومی برگ و ساقه چهار تاکسون از سرده *Juniperus* را در شبه جزیره بالکان بررسی نمودند و ارزش تاکسونومیک آن را در سطح گونه و فراگونه‌ای به خوبی نشان دادند (Lakušić, 2011). همچنین واسیک و همکاران، مورفولوژی و آناتومی برگ گونه‌های *Juniperus* در ارتفاعات مختلف (۱۴۲۰ - ۴۲۰ متر) کوه‌های صربستان را مطالعه کردند که طی آن سه ویژگی مورفولوژیکی و شش ویژگی آناتومیک را ارزشمند دانستند (Vasic, et al., 2014). در مطالعه انجام شده توسط عمرعطا و همکاران (۱۳۹۷) شاخص‌های صفات کمی و کیفی مخروط میوه و بذر دو گونه *J. excelsa* و *J. polycarpus* در منطقه چهارباغ ارزیابی شدند. این محققان همچنین به مطالعه سیستماتیک *J. excelsa* و *J. polycarpus* در چهار باغ استان گلستان پرداختند و نتایج

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

رویشگاه ارس در منطقه حفاظت شده گوی‌نیک جرگلان در استان خراسان شمالی و در شهرستان راز و جرگلان، در دامنه و ارتفاعات سلسله جبال کم ارتفاع شاه‌کسین و در نزدیکی مرز کشور ترکمنستان و متاثر از آب و هوای نیمه‌خشک کوهستانی کوپت‌داغ (کپه‌داغ) و در حدفاصل $15^{\circ} 55' 56''$ تا $35^{\circ} 01' 57''$ طول شرقی و $35^{\circ} 58' 37''$ تا $38^{\circ} 02' 50''$ عرض شمالی واقع شده، فاصله آن تا مرکز استان (بجنورد) ۱۲۰ کیلومتر بوده، مساحت کل این منطقه که علاوه بر سایر رستنی‌های درختی و درختچه‌ای متنوع، دارای درختان ارس است، ۴۷۶۴ هکتار (۴۷۶۴۰۰۰۰ مترمربع) است و ارتفاع آن از سطح دریای آزاد، در پست‌ترین و بلندترین نقطه، به‌ترتیب ۱۱۰۹ و ۱۶۲۵ متر را نشان می‌دهد (شکل ۱). در بررسی حاضر، ۱۰ جمعیت از گونه *J. excelsa* بررسی شد (جدول ۱). این جمعیت‌ها از زیستگاه‌های مختلف جمع آوری و با کمک منبع فلور ایران (اسدی، ۱۳۹۰) شناسایی شد. همه نمونه‌های بررسی‌شده، در مرکز هرباریوم دانشگاه گنبدکاووس (GKUH) نگهداری می‌شوند.

نشان داد که احتمالاً در منطقه چهار باغ یک گونه انتشار دارد و این دو آرایه مترادفاند (چاپ نشده).

خراسان شمالی با داشتن بیش از ۴۱۰ هزار هکتار جنگل ارس، یکی از ذخیره‌گاه‌های این میراث طبیعی کشور محسوب می‌شود؛ سرمایه‌ای که با وجود اقدامات انجام شده حفاظتی نیازمند حمایت بیشتر است. وجود برخی شاخص‌های این گونه از جمله مقاومت و راست قامتی آن سبب شده بود تا در سال‌های دور قطع این درخت به منظور استفاده به عنوان تیرهای چوبی سقف و یا استفاده هیزمی به فراوانی انجام شود، مسئله‌ای که سبب کاهش شدید تعداد این گونه‌ها در استان شد. امروزه نیز ورود دام به جنگل‌های ارس خراسان شمالی بزرگترین تهدید این ذخیره‌های ژنتیکی محسوب می‌شود. چرا که با ورود دام و از بین رفتن تاج‌پوشش نهال‌های جوان عملاً امکان رشد و افزایش طبیعی این گونه‌ها در عرصه از بین رفته است (Korrouri, & Khoshnevis 2000).

در پژوهش حاضر، تلاش شده است تا با استفاده از مطالعات گرده‌شناسی، آناتومی و مولکولی گونه *J. excelsa* در این رویشگاه ارزیابی شود تا اطلاعات پایه‌ای مفیدی در اختیار مدیران قرار دهد تا از نتایج آن، برای تعیین راهبردهای حفاظتی، اجرایی، مدیریتی و تحقیقاتی آینده زیست‌محیطی و منابع طبیعی در این گونه مناطق، به‌صورت علمی و مطلوب استفاده گردد.



شکل ۱- نقشه پراکنش *J. excelsa* در ایران و موقعیت منطقه گوی‌نیک جرگلان خراسان شمالی

مطالعات مولکولی

در این پژوهش از توالی ناحیه ITS nrDNA ژنوم هسته‌ای به‌عنوان بارکد استفاده گردید. DNA کل ژنوم از برگ‌های خشک‌شده نمونه‌های هرباریومی استخراج شد. روش استخراج بر مبنای روش کیت استخراج DNA گیاهی شرکت تیان ژن چین (DNA secure Plant Kit) است. به منظور انجام واکنش PCR از آغازگرهای (پرایمر) ITS4 و ITS5m استفاده شد (White *et al.*, 1990). توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ ارائه شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از برنامه بهینه شده با آغازگر مورد نظر و دستگاه‌های ترموسایکلر (Eppendorf, Germany; Astec, Japan) دارای ۹۶ چاهک انجام شد. برنامه PCR پس از بهینه‌سازی شرایط واکنش، بدین شرح است: واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه؛ چرخه واکنش PCR (واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه؛ اتصال آغازگرها در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، بسط اولیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه)؛ و در پایان بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

پس از اطمینان از صحت PCR و تکثیر قطعه مورد نظر به کمک الکتروفورز روی ژل آگارز، تک باندهای قوی (۲۰ نانوگرم) و فاقد باند اضافی و کشیدگی به منظور تعیین توالی توسط شرکت پیشگام به شرکت Macrogen در کشور کره ارسال شدند. توالی‌های حاصل از تعیین توالی با استفاده از نرم‌افزار Finch TV بررسی شده و به صورت قالب FASTA درآمدند. توالی‌های کروماتیدی توالی‌های حاصل، با اطلاعات موجود در بانک ژنی سایت NCBI تطبیق داده شدند و میزان تشابه گونه‌ها، با نمونه‌های موجود در سایت بررسی و ثبت گردید. با استفاده از برنامه MrBayes نسخه ۳/۱۲ آنالیزهای فیلوژنتیک انجام شد. حمایت شاخه‌ها در روش Bayesian با اعداد مربوط به احتمال پسین بیان می‌شود.

مطالعات ریخت‌شناسی مخروط ماده و بذر

برای انجام مطالعات ویژگی‌های کمی و کیفی مخروط ماده (میوه) و بذر گونه *J. excelsa* جست‌وجو، شناسایی و جمع‌آوری میدانی نمونه‌ها و اندازه‌گیری و ثبت داده‌ها در دو مرحله عملیات صحرایی و آزمایشگاهی انجام گردید (شکل ۳). نخست برای ایجاد شرایط یکسان در تحقیق، در رویشگاه مورد مطالعه؛ ۲۰ درخت مادری که دارای ویژگی‌های رویشی مانند قطر برابر سینه و ارتفاع کل، نسبتاً مشابه‌اند، با حداقل ۲۰۰ متر فاصله از همدیگر، انتخاب شدند. با استفاده از قاب نیم در نیم مترمربعی در چهار جهت جغرافیایی تاج هر درخت (شمال، جنوب، شرق و غرب) و در ارتفاع ۱/۵ متری از سطح زمین (که ارتفاع در برابر سینه نامیده شد) تاج پوشش هر درخت قرار داده شد، در مرحله بعد در مجموع، تعداد ۱۰۰۰ مخروط‌ماده (میوه) از بخش‌های چهارگانه پوشش تاج درختان تعیین شده موجود در منطقه مورد مطالعه، جمع‌آوری و به‌صورت مجزا در پاکت‌های کاغذی که مشخصات کامل هر پایه و نمونه‌ها بر روی آن ثبت شده، گذاشته شد. مخروط‌های ماده (میوه) پس از این مرحله، پس از بررسی دقیق و شمارش مجدد به آزمایشگاه زیست دانشگاه انتقال یافت و تا شروع آزمایشات درون یخچال، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس از مجموعه ۱۰۰۰ تایی مخروط‌های جمع‌آوری شده، ابتدا به‌روش انتخاب تصادفی ۴ مجموعه صدتایی درست کرده، در نهایت ۴ توده مخروط میوه پنجاه‌تایی (پنجاه مخروط میوه با ۴ تکرار) انتخاب گردید. برای کسب اطلاع دقیق از تعداد دانه‌های بالغ درون مخروط‌ها، ۴ تکرار پنجاه‌تایی از مخروط میوه گونه مذکور، انتخاب و برون‌بر، میان‌بر، و درون‌بر هر مخروط میوه به‌صورت دستی باز شد و تعداد بذرها درون هر یک از مخروط‌ها شمارش و در نرم‌افزارهای مربوط ثبت گردید. ویژگی‌های کمی و کیفی بذرها در هر نمونه مورد بررسی، شامل جرم یا وزن بذر، طول و عرض اندازه گرفته شد.

جدول ۱- لیست جمعیت‌های مورد مطالعه و مشخصات رویشگاه گوی نیک

نام نمونه	ارتفاع از سطح دریا (m)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	نام مکان	شماره هرباریومی	جمع کننده
<i>J. excelsa</i> M. Bieb.	۱۴۱۶	57° 00' 21" E	38° 02' 80" N	گوی نیک جرگلان	803593-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۳۸۳	57° 01' 30" E	38° 02' 91" N	گوی نیک جرگلان	803594-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۱۸	57° 00' 80" E	38° 03' 40" N	گوی نیک جرگلان	803595-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۵۹	57° 00' 81" E	38° 03' 60" N	گوی نیک جرگلان	803596-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۷۴	57° 00' 82" E	38° 03' 80" N	گوی نیک جرگلان	803597-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۵۱	56° 99' 41" E	38° 03' 61" N	گوی نیک جرگلان	803598-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۳۰	57° 00' 30" E	38° 03' 62" N	گوی نیک جرگلان	803599-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۷۱	57° 00' 42" E	38° 03' 80" N	گوی نیک جرگلان	803600-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۱۰	57° 01' 30" E	38° 03' 20" N	گوی نیک جرگلان	803601-GKUH	پارسه
<i>J. excelsa</i>	۱۴۴۱	57° 01' 10" E	38° 03' 81" N	گوی نیک جرگلان	803603-GKUH	پارسه



شکل ۲- سیمای عمومی ذخیره‌گاه ارس منطقه حفاظت شده گوی نیک جرگلان در خراسان شمالی

جدول ۴- توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکن های زنجیره ای پلیمرز

نام آغازگر	جهت حرکت آغازگر	توالی آغازگر
ITS5	رفت	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'
ITS4	برگشت	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'



شکل ۳- مخروط *J. excelsa*

گرده از طبقه بندی ارتمن (Erdtman, 1943) و برای واژه شناسی از مقالات معتبر و سایت معتبر گرده شناسی PalDat استفاده شده است.

مطالعات تشریحی

برای مطالعات تشریحی، پنج جمعیت از هر تاکسون انتخاب شد و قسمت های مختلف نمونه ها از یک بخش ثابت نمونه برداری و در محلول اتانول ۷۰ درصد و گلیسرین با نسبت ۳:۱ به مدت ۱۵ روز نگهداری شده، سپس برش گیری دستی و رنگ آمیزی توسط کارمن زاجی و آبی متیل انجام شد. نمونه ها با میکروسکوپ نوری Olympus (مدل BX-40) و با دوربین دیجیتال Canon عکس برداری شدند.

مطالعات گرده شناسی

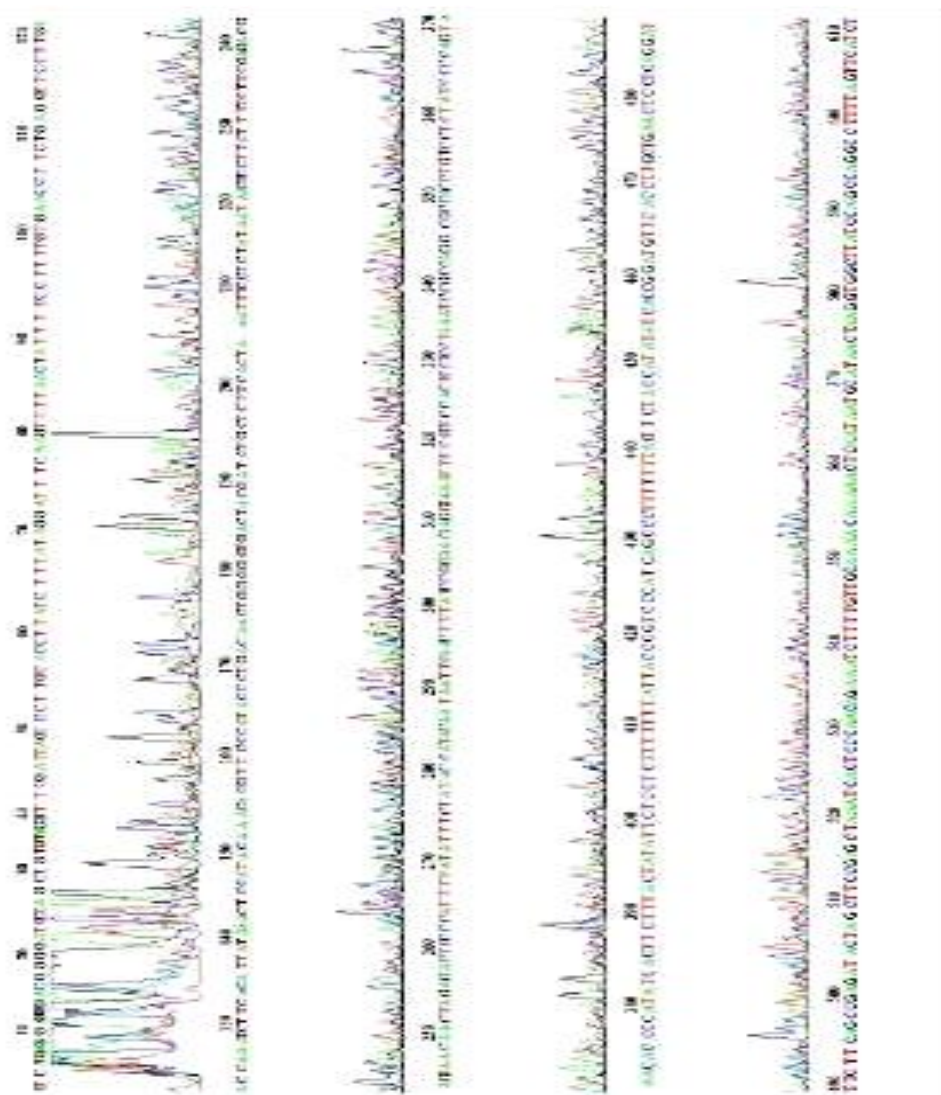
برای مطالعه دانه گرده، نمونه های گرده براساس فنولوژی (پدیده شناسی) به طور مستقیم از رویشگاه طبیعی منطقه جرگلان جمع آوری گردید. برای مشاهده با میکروسکوپ نوری از روش استولیز (Erdtman, 1943) استفاده گردید. پس از استولیز با میکروسکوپ نوری Nikon مدل E100 و بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ از ۲۰-۳۰ گرده از نمای قطبی و استوایی با دوربین دیجیتال Canon (مدل a63 و ۸ مگاپیکسل) عکس برداری شد. به منظور مطالعه و تهیه میکروگراف های الکترونی، دانه های گرده مناسب با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM مدل VEGA// TESCAN-LMU تحت ولتاژ 15 KV , 22 KV، در مرکز پژوهشکده رازی تهران مورد بررسی و تصویربرداری قرار گرفتند. صفات طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E)، نسبت P/E، ضخامت و نوع تزئینات اگزین ارزیابی شد. تمام اندازه گیری های مربوطه توسط نرم افزار Image tools نسخه ۳ و Axio vision با نسخه ۴/۳ انجام شد. میانگین و انحراف معیار نیز توسط نرم افزار Minitab 14 محاسبه گردید. برای تعیین اندازه و شکل

نتایج

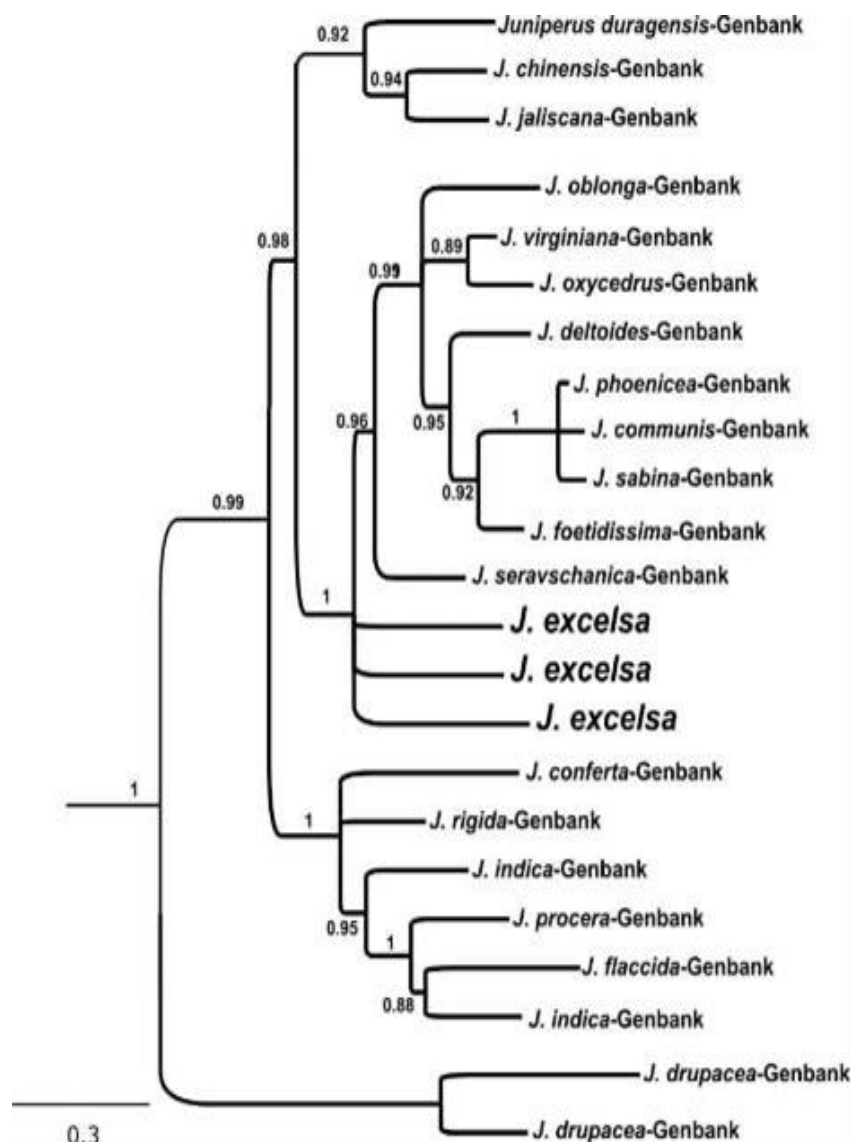
مطالعات مولکولی

نتایج تخلیص DNA ژنومی بیانگر کیفیت مناسب DNA استخراج شده است و همچنین نتایج PCR بر روی DNA ژنومی با استفاده از پرایمر های ITS4 و ITS5 بیانگر ایجاد محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱٪ در ناحیه ۸۰۰ - ۶۰۰ جفت باز است. این مطالعه با استخراج و

تکثیر DNA ریبوزومی به مقایسه این توالی با توالی‌های موجود در بانک ژنومی NCBI پرداخته و به این سلیت برای ثبت توالی ارسال شد. بررسی‌های بیوسیستماتیکی منجر به شناسایی گونه گیاهی از روی کلیدهای شناسایی شد. در نهایت آنالیز نتایج توالی توسط BLAST توالی در بانک ژنومی NCBI بیانگر یک توالی ۶۵۴ نوکلئوتیدی می باشد (شکل ۶ و ۷).



شکل ۶ - نتیجه تعیین توالی توسط شرکت Macrogen



شکل ۷- درخت خویشاوندی بایزین *J. excelsa* مبتنی بر همردیفی توالی ITS

مطالعات ریخت‌شناسی مخروط ماده و بذر

میانگین جرم (وزن) مخروط میوه یکصد (۱۰۰) مخروط در گونه *J. excelsa* ۳۰/۳۲ گرم است. و میانگین حجم آن، ۳۶/۵ سانتی‌مترمکعب است. متوسط چگالی ۱۰۰ مخروط ۰/۸۳ گرم بر سانتی‌مترمکعب را نشان می‌دهد. میانگین طول یکصد مخروط میوه ۸/۵۷ میلی‌متر و میانگین عرض آن ها، ۹/۲۹ میلی‌متر محاسبه شد (جدول ۳).

نتایج آنالیز داده‌های میانگین جرم (وزن) دانه بذر در چند تکرار آزمایش، نشان می‌دهد که میانگین جرم یکصد بذر در *J. excelsa* ۲/۹۵ گرم و متوسط حجم آن ۳/۸ سانتی‌مترمکعب است. میانگین چگالی بذر، ۰/۷۸ گرم بر سانتی‌مترمکعب را نشان می‌دهد. میانگین طول بذرها ۵/۶۷ و همچنین میانگین عرض بذرها ۴/۲۶ میلی‌متر است (جدول ۴).

جدول ۳- میانگین جرم، حجم، چگالی، طول و عرض ۱۰۰ مخروط ماده در رویشگاه گوی‌نیک

نام گونه	میانگین جرم مخروط‌ها (g)	میانگین حجم مخروط (cm ³)	میانگین چگالی مخروط (g/cm ³)	میانگین طول مخروط (mm)	میانگین عرض مخروط (mm)
<i>J. excelsa</i>	۳۰/۳۲	۳۶/۵	۰/۸۳	۸/۵۷	۹/۲۹

جدول ۴- میانگین جرم (وزن)، حجم، چگالی، طول و عرض ۱۰۰ بذر در رویشگاه گوی نیک

نام گونه	جرم (وزن) بذر (g)	حجم بذر (cm ³)	چگالی بذر (g/cm ³)	طول بذر (mm)	عرض بذر (mm)
<i>J. excelsa</i>	۲/۹۵	۳/۸	۰/۷۸	۵/۶۷	۴/۲۶

مطالعات گرده شناسی

تحلیل داده‌های دانه‌گرده گونه *J. excelsa* از نظر ویژگی‌های ظاهری مشخص کرد که غلب دانه‌های گرده منفرد (Monad) بوده و به حالت منفرد نیز گرده‌افشانی می‌شوند. در تصاویر میکروسکوپ نوری (LM) (شکل ۸) طرح کلی گرده‌ها از دید قطبی، گرد و دایره‌ای شکل (Circular) است، اما در تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) (شکل ۹) به صورت

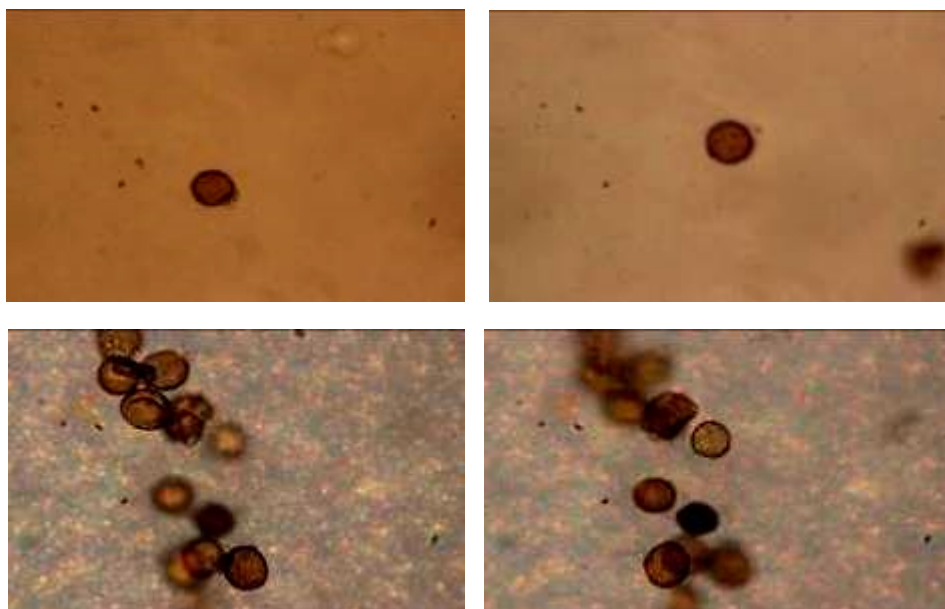
نامنظم و دارای فرورفتگی‌های متعدد (Irregular) مشاهده می‌شوند.

در همه نمونه‌ها گرده‌ها از نظر اندازه، در گروه گرده‌های کوچک (۱۰-۲۵ میکرومتر) جای می‌گیرند، به طوری که گونه *J. excelsa*، با ضخامت لایه اگزین ۰/۸ میکرومتر دارای متوسط طول محور قطبی ۲۰/۴۸ میکرون است (جدول ۴). بنابر نسبت طول مدار قطبی به طول مدار استوایی (P/E) بر اساس طبقه‌بندی ارتمن (۱۹۴۳) گرده‌های این گونه، شکلی نسبتاً کروی (Prolate spheroidal) دارند.

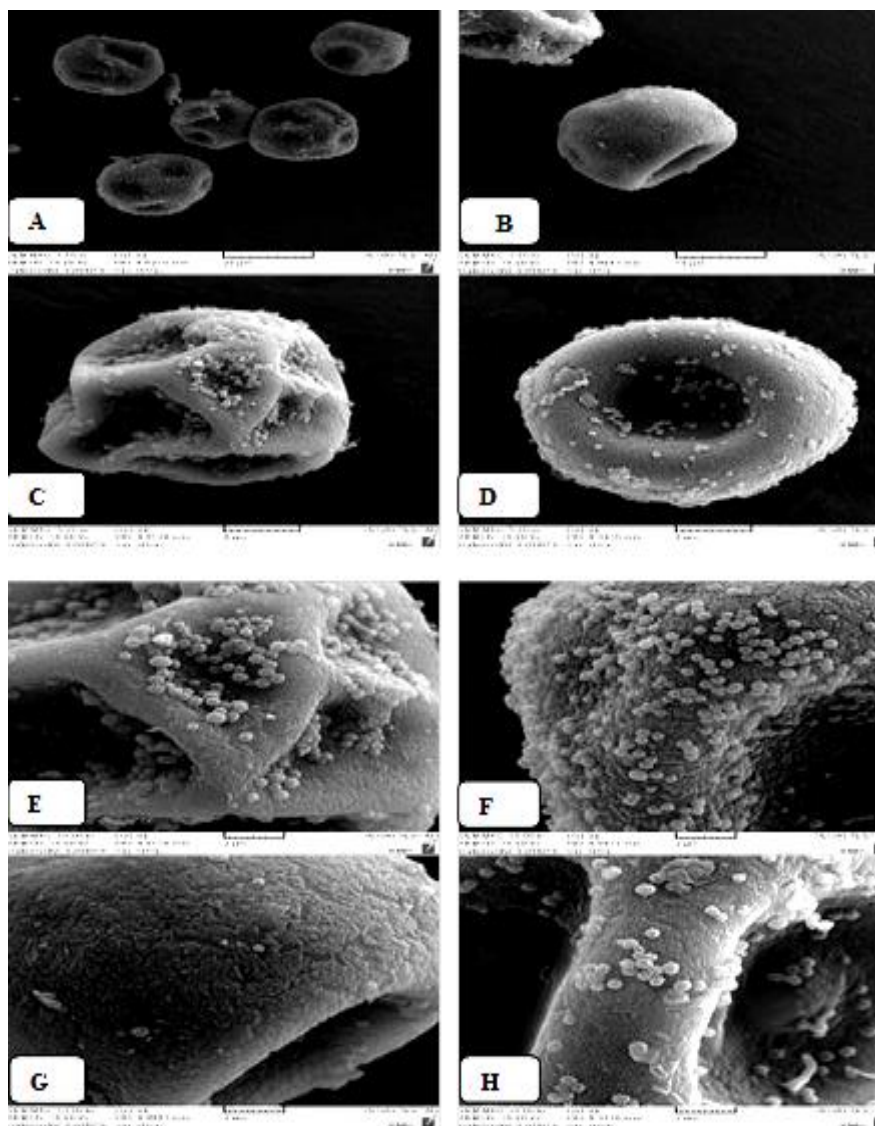
جدول ۴- صفات اندازه‌گیری شده دانه گرده (SEM) در رویشگاه گوی نیک

صفات تاکسون	طول محور قطبی (P) (μ)	طول محور استوایی (E) (μ)	P/E	شکل دانه گرده	اندازه	نوع تزئینات اگزین	ضخامت اگزین (LM)
<i>J. excelsa</i>	۲۱/۰ ± ۴۸/۷۶	۲۰/۱ ± ۴۱/۶۷	۱/۵۰	نیمه کروی	کوچک	دانه دانه بودن	۰/۰ ± ۷۹/۱۱

Prolate- spheroidal: تقریباً کروی - کروی کشیده / granulate: دانه دانه بودن



شکل ۸- دانه گرده استولیز شده *J. excelsa*، رویشگاه گوی نیک، در زیر میکروسکوپ (LM با بزرگ‌نمایی ۴۰X)



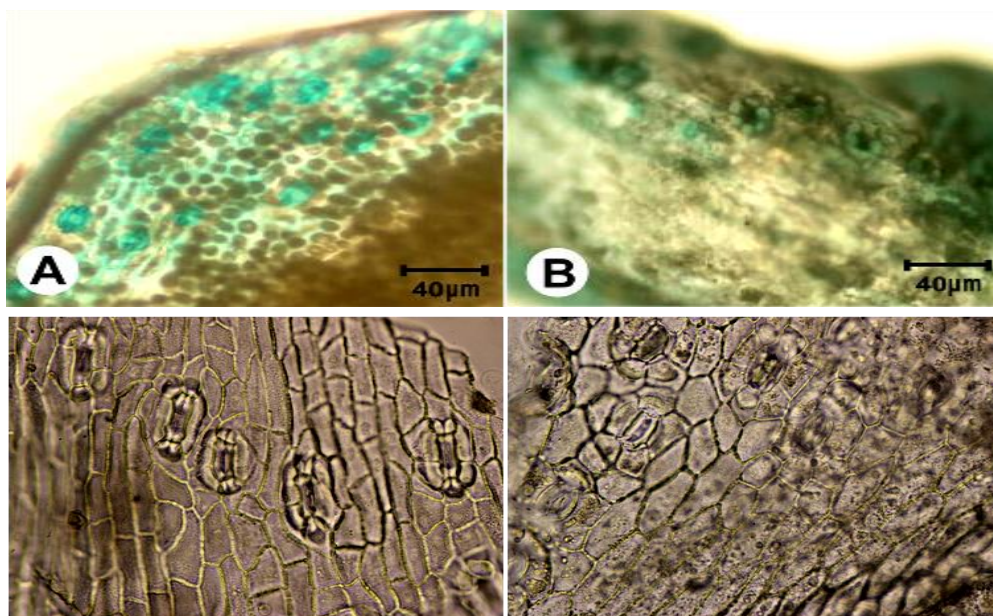
شکل ۹- تصاویری از گرده *J. excelsa* زیر میکروسکوپ الکترونی (SEM) در منطقه گوی نیک از دید قطبی و استوایی با بزرگ‌نمایی‌های: A: 20 میکرون، B: 10 میکرون، C و D: 5 میکرون، E تا H: 2 میکرون

مطالعات تشریحی

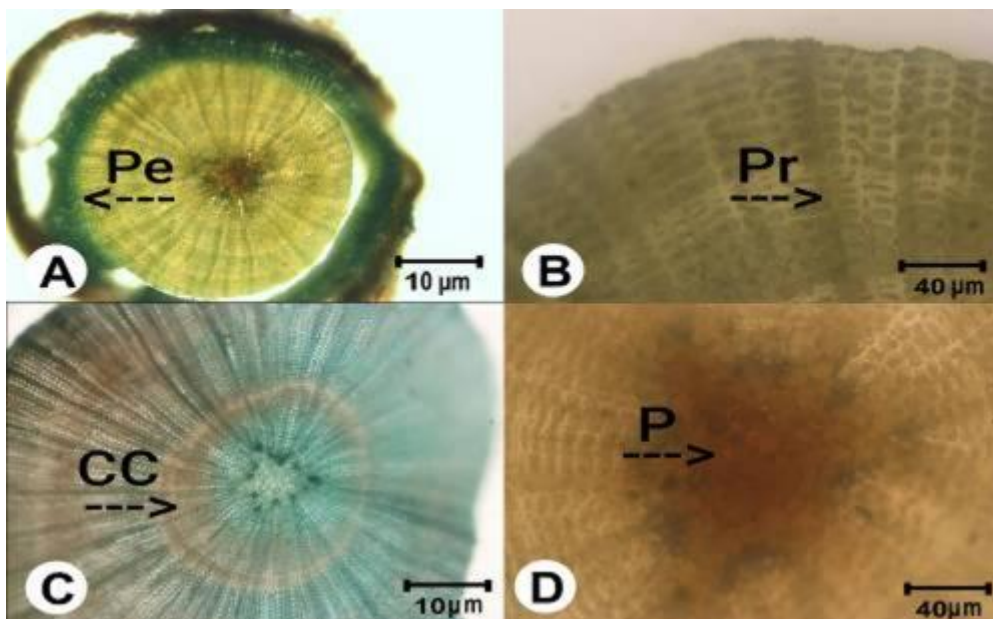
نتایج به‌دست آمده از مطالعات تشریحی برگ نشان داد که در گونه *J. excelsa* میانگین طول بیرونی روزنه ۲۸/۴۷ میکرومتر و طول درونی آن ۱۸/۲۰ میکرومتر است. هم‌چنین میانگین عرض بیرونی روزنه ۱۳/۶۶ میکرومتر و عرض درونی روزنه ۴/۸۷ میکرومتر محاسبه شد. تراکم روزنه در واحد ۱۳۶

(mm²) است (شکل ۱۰).

در برش عرضی سطح مقطع ساقه نازک ارس در سرشاخه‌ها شکلی دایره‌ای دارد؛ زیرا میانگین قطر طولی و عرضی منطقه تفاوت چندانی با هم ندارند. میانگین قطر بزرگ برش عرضی ۲۸۶/۳ میکرومتر و قطر کوچک برش عرضی ۲۷۸/۵ میکرومتر و میانگین ضخامت پوست ۲۰۱/۸ میکرومتر است (شکل ۱۱).



شکل ۱۰- روزنه، سلول محافظ روزنه و غدد ترشحی برگ *J. excelsa*



شکل ۱۱- تصاویری از برش عرضی ساقه *J. excelsa*

CC: central cylinder; P: pith; Pr: pith ray; Pe: priderm.

بحث و نتیجه گیری

در گذشته شناسایی گونه‌ها تنها بر اساس صفات ریختی بود که این نوع شناسایی دارای مشکل غیرقابل استفاده بودن کلید شناسایی ریختی گیاهان در تمام فصول سال است؛ لذا امروزه شناسایی عمومی گونه‌ها از صفات ظاهری به سمت جنبه‌های ژنتیک سوق پیدا کرده است و برای مثال روش DNA بارکدینگ برای شناسایی و محافظت از گونه‌های در خطر انقراض و یا معرفی یک گونه جدید به کار می‌رود. نشانگرهای مولکولی تکنیک‌های ارزشمندی برای بررسی

ساختار ژنتیکی و اکولوژیکی جمعیت‌های گیاهی هستند. عده‌ای از محققان عقیده دارند که در بیشتر گونه‌های ارس در ایران، فقط یک نوع از توالی‌های ITS به‌خوبی آشکار می‌گردد. که ممکن است به‌خاطر تکامل هم‌نوا (concerted evolution) از طریق نوترکیبی (-crossing over) یا تبادل ژنی نابرابر (gene conversion) باشد، که باعث هم‌گرایی بهتر تکرارهای توالی‌هسته‌ای شده باشد. عوامل زیستی متعددی برای توضیح فرآیند تکامل هم‌نوا ناکافی ذکر می‌شود. به طوری که پلی‌پلوئیدی (بیش از

جفت همولوگ کروموزومی) و دورگه‌گیری یا هیبریداسیون پدیده‌هایی شایع، در میان سرده ارس جهان هستند (Adams et al., 2014). مطالعات انجام شده بر روی برخی از گونه‌های ارس نشان داده است که دورگه‌گیری می‌تواند از عوامل مهم گونه‌زایی در این سرده باشد (Adams et al., 2014). اگرچه نتایج تحقیق حاضر، در منطقه مورد مطالعه قادر به تفکیک گونه‌ای در درختان ارس منطقه مورد مطالعه نبود، ولی کروری و همکاران نیز، در مطالعاتی از رویشگاه‌های دیگر ارس ایران به این موضوع اشاره کرده‌اند که دامنه پراکنش و استقرار طبیعی *J. excelsa* از *polycarpus* (Krorruori, et al., 2000). این وضعیت در پژوهش‌های میزان پراکنش و ترکیب جمعیتی دو گونه مورد نظر، در سایر مناطق رویشگاهی ارس کشور نیز مشاهده و مورد تاکید واقع شده است (Kharazipour et al., 2008; Assadi, 1997).

اگرچه خشکی منطقه، مهم‌ترین عامل تحریک گونه‌زایی گیاهان خشکی پسند در منطقه ایرانی تورانی، بوده است، عواملی نظیر ارتفاعات بلند و بوم‌های اکولوژیکی متفاوت، انواع متفاوت خاک، گرده‌افشانها، مکانیسم‌های متفاوت پراکنش دانه، پلی-پلوئیدی و آپومیکسی نیز می‌توانند از عوامل مهم تحریک گونه‌زایی در منطقه گوی نیک به‌شمار روند. پلی‌پلوئیدی نیز یکی از روش‌های اصلی گونه‌زایی در گیاهان محسوب می‌شود. در اکثر موارد گونه‌های پلی‌پلوئید در اثر دورگه‌گیری اجدادی که از لحاظ ژنتیکی با هم متفاوت هستند شکل می‌گیرند. زمانی که یک دورگه تبدیل به یک گونه جدید می‌شود فیلوژنی از حالت دو شاخه‌ای خارج شده و حالت شبکه‌ای پیدا می‌کند. در بسیاری از سرده‌ها دورگه‌گیری منجر به ایجاد پلی‌پلوئیدهایی می‌شود که از لحاظ تعداد کروموزوم‌ها متنوعند و یا منجر به ایجاد کمپلکس‌های پلی‌پلوئید می‌شوند.

عمرعطا و همکاران (۱۳۹۸) همچنین نتایج این پژوهش هم، اثبات کرده‌اند که گیاه ارس غالباً تک پایه (۸۵/۷۲٪)، با مخروط‌های نر و ماده مجزا بر روی پایه‌های جداگانه است.

دانه‌های گرده در تصاویر LM تقریباً بدون فرورفتگی به داخل می‌باشد و دانه‌های گرده به شکل کروری با سطح صاف دیده می‌شوند. ولی میکروگراف‌های SEM که با

گرده‌های خشک نمونه‌های هرباریومی بررسی شده است، نشان می‌دهد که سطح گرده دارای فرورفتگی‌هایی است که به آن‌ها شکل نامنظمی داده است. ضخیم بودن اگزین در گونه *J. excelsa* می‌تواند جذب آب را توسط دانه گرده سخت‌تر کرده و باز شدن دانه گرده و امکان عمل لقاح را کمتر کند. شاید به همین علت این گونه مخروط میوه کمتری تولید کند و زادآوری کمتری داشته باشد و به همان نسبت پراکنش کمتری نیز در منطقه گوی نیک دارد. اطلاعات دانه گرده و تنوع ریخت‌شناسی آنها به‌صورت کلی در همه سطوح آرایه‌شناسی ارزشمند هستند (Radford, 1974)، به‌خصوص تزئینات سطح دانه گرده که صفات ارزشمندی محسوب می‌شوند (Cronquist 1968; Ranjbar et al. 2015; Pakravan 2016). دربارہ خصوصیات مورد مطالعه دانه‌گرده در منطقه مورد مطالعه از جمله ابعاد دانه‌گرده (طول، عرض و قطر کوچک گرده)، شکل دانه‌گرده، تزئینات روی اگزین و نیز ضخامت لایه اگزین، که یکی از ویژگی‌های حائز اهمیت در تفکیک و تمایز گونه‌های مختلف گیاهی به‌حساب می‌آیند، نتایج کسب شده از گونه *J. excelsa* تایید کننده یافته‌های هالبریت (Halbritter, 1998) است. البته ابعاد ریز و کوچک دانه‌گرده، در همه گونه‌های *Juniperus* به‌وسیله راجرز و لویتین (Rajers & Levetin, 1998) و آدامز (Adams, et al., 2014) در مقالات متعددی گزارش گردیده است.

شاخص‌های مخروط میوه و بذری در مطالعه حاضر نسبت به گونه *J. excelsa* در منطقه چهار باغ (عمرعطا و همکاران) بیشتر است. به‌نظر می‌رسد دلیل اصلی این تفاوت در مناطق مورد مطالعه، به اختلاف ارتفاع آن‌ها از سطح دریا و به‌طبع آن، اختلاف دمای سالانه این مناطق برمی‌گردد؛ یعنی در رویشگاه چهارباغ به‌خاطر برودت دمایی بیشتر (سرمای شدیدتر و طولانی مدت‌تر) مخروط‌های میوه ارس، مقداری ریزتر، سفت‌تر و ضعیف‌تر از منطقه گوی‌نیک هستند. در تفکیک صفات گونه ارس آفریقایی، از شاخص کمیت و کیفیت میوه‌ها، استفاده شده است (Tigabu et al, 2007) اما عده‌ای از گیاه‌شناسان اعتقاد دارند، محتویات درون مخروط، به‌عنوان مانع مهمی در مقابل جوانه زدن بذرها در این سرده اثر می‌گذارد. البته یافته‌های مذکور، زمانی معنادار می‌شوند که بخواهیم، گیاه از طریق

گیرد به خاطر سهولت دسترسی عوامل انسانی به این منطقه، خطر نابودی، آن‌ها را نیز هم‌چون سایر گونه‌های گیاهی کمیاب، تهدید می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از استادان محترم دانشکده علوم پایه دانشگاه گنبدکاووس، مسئولان آزمایشگاه، مردم فهیم گوی‌نیک جرگلان استان خراسان شمالی و تمام افرادی که در این مطالعه یاریگر بودند، تشکر می‌کنند.

منابع

- اسدی، م.، معصومی، ع.، خاتم‌ساز، م.، مظفریان، و. (ویراستاران). ۱۳۶۷-۱۳۹۰. فلور ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. شماره ۷۵-۱.
- پورمجیدیان، م.ر.، مرادی، م. ۱۳۸۸. بررسی ویژگی‌های رویشگاهی و جنگلشناسی گونه *Juniperus excelsa* در جنگل‌های طبیعی ایلان در استان قزوین. نشریه تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. دوره ۱۷. شماره ۳. صفحه ۴۸۷-۴۷۵.
- عمرعطاء، ت.، دانشور، ا.، ستاریان، ع.، امینی، ا. ۱۳۹۸. ارزیابی صفات کمی و کیفی مخروط میوه و بذر، جهت شناسایی دو گونه ارس در استان گلستان. نشریه حفاظت زیست‌بوم ایران، دوره ۷، شماره ۱۴، ص ۲۸۹ - ۲۷۵.
- کروری، ع.ا. س.، خوشنویس، م.، متینی زاده، م. ۱۳۸۹. مطالعات جامع ارس در ایران، چاپ اول، انتشارات پونه، ص ۴۷۸.
- کروری، ع.ا. س.، خوشنویس، م. ۱۳۷۹. مطالعه اکولوژی و زیست محیطی رویشگاه‌های ارس ایران، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، شماره ۲۲۹، ص ۲۰۸.

- Assadi, M. 1997. Plan of the Flora of Iran (gymnosperms), No 19-22, Research institute of forests and rangelands, Iran. Pp.58.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Earle, C. J. 2006. *Juniperus communis*. The Gymnosperm Database.Fa
- Erdtman, G. 1943. An introduction to pollen analysis. Chronica Botanica Company Waltham, Mass., USA.
- Farjon, A. 1992. The taxonomy of multiseed junipers (*Juniperus* Sect. *Sabina*) in southwest Asia and east Africa (Taxonomic notes on Cupressaceae I). *Edinburgh Journal of Botany*, 49: 251-283.

زادآوری طبیعی و بدون دخالت انسان رشد و پراکنش یابد؛ اگر قرار است نهال ارس، در نهالستان‌های مدرن و به‌شکل صنعتی و انبوه تولید شود، قسمت گوشتی مخروط میوه بلافاصله، پس از جمع آوری، از بذره‌های درون مخروط جدا شده و تیمار سرمادهی بر روی بذره‌های سالم و تمیز، انجام می‌شود.

در منطقه حفاظت شده گوی‌نیک جرگلان بافت سنگین و فشردگی خاک، تعداد کم درختان مادری، کم بودن سن پایه‌ها و کم بودن تعداد شاخه‌های جوان بر روی کنده‌های قطع شده نشان داد که نمونه‌های ارس بخصوص در شیب و ارتفاع کم، تحت تاثیر دخالت‌های انسانی قرار گرفته اند. با توجه به اهمیت رویشگاه‌های ارس در حفاظت از آب و خاک مناطق کوهستانی، حفظ و احیای این جنگل‌ها حیاتی به نظر می‌رسد. با توجه به روند رو به رشد تخریب رویشگاه‌های ارس کوهی در کشور، این رویکرد می‌تواند برای شناخت و برنامه‌ریزی برای حفاظت گونه‌های موجود این نوع رویشگاه‌ها مورد بهره‌برداری قرار گیرد. در این تحقیق تلاش شد اطلاعات پایه‌ای مفیدی در اختیار مدیران قرار گیرد تا از نتایج آن، برای تعیین راهبردهای حفاظتی، اجرایی، مدیریتی و تحقیقاتی آینده زیست محیطی و منابع طبیعی در این گونه مناطق، به‌صورت علمی و مطلوب استفاده گردد. یادآوری می‌شود که در بحث احیاء و تکثیر گونه‌های در خطر انقراض، پیدا کردن مکان طبیعی مناسب برای تولید و پرورش این نوع از گونه‌ها، اهمیت به‌سزایی دارد. لذا اگر در زمینه حفاظت از گونه *J. excelsa* غفلت صورت

- Adams Robert, P., Armagan, M., Boratynski, A., Douaihy, B., Dou Dagher-Kharrat, M., Farzaliyev, V., Gucel, S., Mataraci, T., Tashev, A., Schwarzbach, A. 2016. Evidence of relictual introgression or incomplete lineage sorting in nrDNA of *Juniperus excelsa* and *J. polycarpos* in Asia Minor. *Phytologia*. 98(2).146-155.
- Adams Robert, P., Hojjati, F. 2012. Taxonomy of *Juniperus* in iran: insight from DNA sequencing. *Phytologia*. 94(2):219-227.
- Adams Robert, P., Hojjati, F., Schwarzbach Andrea, E. 2014. Taxonomy of *Juniperus* in Iran: DNA sequences of nrDNA plus three cpDNAs reveal *Juniperus polycarpos* var. *turcomanica* and *J. seravschanica* in southern Iran. *Phytologia*, 96 (1): 19-25.

- Ranjbar, M., Pakatchi, A., Radjabian, T. 2015. Pollen morphology study of *Salvia* sect. *Plethiosphace* and sect. *Hemisphace* (Lamiaceae) in Iran. *Nova Biologica Reperta* 1(2): 16–28.
- Rogers, C.A., Levetin, E. 1998. Evidence of long-distance transport of mountain cedar pollen into Tulsa, Oklahoma. *International Journal of Biometeorology*: 42 (2): 65–72.
- Tigabu, M., Fjellström, J., Odén, P.C. Teketay, D. 2007. Germination of *Juniperus procera* seeds in response to stratification and smoke treatments, and detection of insect-damaged seeds with VIS + NIR spectroscopy. *New Forests*. 33, 155-169.
- Vasic Predrag, S., Topuzovic Marina, D., Labus Nenad, D., Dubak Darko, V. 2014. Morphological-Anatomical characteristic of common Juniper (*Juniperus communis*) from the area of mountain Kopanoik. *Natura Montenegrina, Podgorica*, 7 (3): 97-107.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis DH, Gelfand J.J. Sninsky et al. (editors) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego. 315-322.
- Zohary, M. 1973. *Geobotanical Foundation of the Middle east*, G. Fischer publisher, Stuttgart.
- Halbritter, H. 1998. Preparing living pollen material for scanning electron microscopy using 2, 2-dimethoxypropane (DMP) and criticalpoint drying. *Biotechnic Histochem* 73: 137–143.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P. F., Donoghue, M.J. 2003. *Plant systematics. A phylogenetic approach*. Third edition. Pp. 232-248.
- Korrouri, S., Khoshnevis M. 2000. *Ecological and environmental studies of Iranian Juniperus sites*. Research Institute of Forests and Rangelands Press. 208p.
- Kharazipour, A.R., Schöpper, C., Muller, C. 2008. Review of forests, wood products and wood biotechnology of Iran and Germany – part II, *Universitätsverlag Göttingen*, 194 pp.
- Lakušić, B., Lakušić, D. 2011. Anatomy of four taxa of the Genus *Juniperus* sect. *Juniperus* (Cupressaceae) from the Balkan peninsula. *Botanica Serbia*. 35 (2): (2011) 145-156.
- Levetin, E. 1998. A long-term study of winter and early spring tree pollen in the Tulsa, Oklahoma atmosphere. *Aerobiologia*: 14 (1): 21–8.
- Pakravan, M. 2016. Palynological study of the genus *Consolida* (Ranunculaceae) in Iran. *Nova Biologica Reperta* 3(2): 177–183.
- Radford, A.E., 1974. *Vascular plant systematics*. Harper & Row in New York.

Botanical study of *Juniperus* in Goinik Jargalan (North Khorasan province)

Mohammad Sehat Parseh^{1*}, Ali Sattarian², Abolfazl Daneshvar³, Elham Amini³, Fatemeh Nasrollahi⁴, Razieh Saadati⁵

^{1*} Msc Graduated, Department of Biology, Faculty of Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

² Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

³ Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

⁴ PhD Graduated, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Qom, Qom

⁵ Msc Graduated, Department of Biology, Faculty of Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

Received: 2023/02/06; Accepted: 2023/11/29

Abstract

Understanding the relationship between vegetation and environmental factors is effective in better managing the ecosystem of an area. In this research, the molecular, morphological, pollinological and anatomical indices of *Juniperus excelsa* in North Khorasan Province, Goinik Jargalan region were evaluated. Using the nuclear marker (ITS), the sequence of this taxon was compared with the sequences in the NCBI. Homologous evolution through recombination or unequal gene exchange has caused the convergence of nuclear sequence repeats. Morphological indices of female cone and seed were studied. Pollen grains were examined by light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM). The results showed that all single pollen grains were Utriculate type, asymmetrical and small in size. They are prolate spheroidal with granulate exine. The outline of the pollen in LM is circular with a smooth surface and no holes, but in the pollen grains examined in the SEM, they are irregular and have holes. Transverse section of stem and leaf was examined in anatomical studies. The results obtained from leaf anatomical studies showed that in *J. excelsa* species, the average external length of stomata is 28.47 micrometers and its internal length is 17.18 micrometers. Also, the average external width of the aperture was 13.66 μm and the internal width of the aperture was 4.87 μm . The density of the stomata in the unit is 136 (mm^2). In the transverse section, the cross-section of juniperus stem has a circular shape in the top branches, because the average longitudinal and transverse diameters of the region do not differ much. The average diameter of the large cross section is 286.3 μm and the small diameter of the cross section is 278.5 μm and the average thickness of the skin is 201.8 μm . In the discussion of restoration and reproduction of endangered species, finding a suitable natural place for the production and breeding of these species is very important. Therefore, if the protection of *J. excelsa* species is neglected due to the easy access of human factors to this area, the risk of destruction threatens them as well as other rare plant species.

Keywords: Anatomical Study, Cone, Molecular, nrDNA ITS, Pollen, Protection.

*Corresponding author: razieh.saadaty@gmail.com