دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

بررسی فیلوژنتیکی چند ژنوتیپ بومی‌و غیربومی‌لوفا (*Luffa cylindrica*) با استفاده از نشانگر *ITS*

حلیمه اربابی[۱]، مجتبی کیخاصابر[۲]، لیلا فهمیده[۳] و ولی‌الله قاسمی عمران[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل
۲- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، (نویسنده مسوول: mkeikhasaber@uoz.ac.ir)
۳- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه ساری، ساری

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۱۴
صفحه: ۱۲۶ تا ۱۳۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: لوفا *Luffa cylindrica* گیاهی از خانواده کدوییان است و علاوه بر مصرف خوراکی میوه بالغ سبز، خواص دارویی و بهداشتی روغن بذر، به‌علت بافت اسفنجی فیبری میوه‌های خشک آن دارای اهمیت می‌باشد. لوفا دارای نوعی اسفنج طبیعی است که خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فردی دارد. در بین ارقام مختلف لوفا تنوع زیادی از لحاظ شکل، اندازه، کیفیت اسفنج و غیره وجود دارد که بررسی آن به متخصصین اصلاح نباتات در شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی مهم یاری خواهد کرد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تنوع ژنتیکی پنج ژنوتیپ بومی‌گیاه لوفا مربوط به استان‌های مازندران، کرمان، سیستان و بلوچستان، و سه ژنوتیپ غیربومی‌مربوط به کشورهای چین، برزیل و اسپانیا از طریق ارزیابی ناحیه فاصله انداز داخلی (Internal transcribed spacer) ITS ریبوزومی‌مورد بررسی قرار گرفت. پس از نمونه‌برداری ، استخراج دی ان ای به روش دلاپورتا از برگ‌های جوان انجام شد و واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از یک جفت پرایمر ITS صورت گرفت. قطعات تکثیر شده پس از توالی یابی و تعیین کیفیت هم ردیف‌سازی شده و دندروگرام روابط فیلوژنتیک و ماتریس تفاوت و تشابه توالی‌ها تعیین و ترسیم شدند.

یافته‌ها: از مجموع ۷۰۳ جایگاه، ۱۷۵ جایگاه دارای حذف و اضافه (۱۷۰مونومورف و ۵ پلی‌مورف) و ۵۲۸ جایگاه بدون حذف و اضافه بودند. بیش‌ترین جانشینی‌ها برای توالی ITS از نوع متقاطع (۵۵/۵ درصد) بود و تنها ۴۴/۵ درصد جانشینی‌ها از نوع نوع انتقالی بود. همچنین در ناحیه مورد مطالعه ITS به‌طور میانگین نسبت تیمین ۹/۱۸، سیتوزین ۸/۲۸، آدنین ۹/۱۹ و گوانین ۴/۳۲ درصد کل نوکلئوتیدها بود. هم‌چنین مقدار متوسط عددی نسبت dN/dS برابر با ۰/۸۶ بود. میانگین کلی فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی برای نشانگرITS با استفاده از مدل Maximum Composite ۰/۱۰۷ بود.

نتیجه‌گیری: بررسی قرابت‌ها در تحقیق حاضر با استفاده از ناحیه بین ژنی ITS نشان‌دهنده وجود تنوع درون گونه‌ای در ژنوتیپ‌های *لوفا* مورد مطالعه بود، اما فواصل ژنتیکی نسبتاً کم بین ژنوتیپ‌ها شاید بیانگر ضعف نسبی این مارکر در مطالعات ژنتیکی گیاه مورد مطالعه باشد. بنابراین جهت نتیجه‌گیری دقیق‌تر، پیشنهاد می‌شود این مارکر به‌عنوان بارکد مکمل با سایر مارکرها استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: بارکد مولکولی، تنوع ژنتیکی، لوفا ، فاصله ژنتیکی، نشانگر ریبوزومی

مقدمه

لوفا گیاهی از خانواده کدوئیان (*Cucurbitaceae*) با نام علمی *Luffa cylindrica* می‌باشد که عمدتا در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود (۱۶). رویش آن در اکثر مناطق ایران نیز امکان‌پذیر است، و از گذشته به ویژه در مناطق شمالی و جنوبی کشور به صورت محدود کشت می‌شده است.گیاه لوفا علاوه بر مصرف خوراکی میوه بالغ سبز و نیز خواص دارویی و بهداشتی روغن بذر آن (۲،۱۹)، به‌علت بافت اسفنجی فیبری میوه‌های خشک آن (۱۲،۱۵،۱۱) دارای اهمیت می‌باشد. لوفا دارای نوعی اسفنج طبیعی است که خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فردی دارد و از آن در صنایع آرایشی و بهداشتی، پزشکی و صنایع تزیینی و ساختمانی و غیره استفاده می‌شود (۱۶،۲۰).

تنوع فراوانی از لحاظ شکل، اندازه، کیفیت اسفنج و غیره در بین ارقام مختلف لوفا وجود دارد که حاصل طبیعت دگر افشان این گیاه است. در هر برنامه اصلاح نژادی، اولین مرحله ارزیابی تنوع موجود بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. تنوع و انتخاب دو رکن اصلی هر برنامه اصلاحی بوده و انجام انتخاب منوط به وجود تنوع مطلوب از حیث هدف مورد بررسی می‌باشد. برای بهره‌مندی از تنوع موجود و ایجاد تغییرات جدید، ارزیابی ذخایر ژرم پلاسم ضروری به نظر می‌رسد (۹). بررسی تنوع ژنتیکی، متخصصین اصلاح نباتات را در شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی مهم آن یاری می‌کند. امروزه با پیشرفت علم، روش‌های شناسایی مولکولی در مطالعات سیستماتیک جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند. یکی از این روش‌ها بررسی و مقایسه ساختار ژن‌ها و قطعات دی‌ان‌ای دارای توالی‌های محافظت شده‌ای است که طی فرایندهای تکاملی در گونه‌ها و ارقام مختلف ساختار منحصر به فرد خود را حفظ نموده اند. از جمله ژن‌ها و توالی‌هایی که در گیاهان به فراوانی برای بررسی روابط فیلوژنتیک استفاده شده است ناحیه بین ژنی *ITS* می‌باشند (۴،۶). کوماری و همکاران (۱۳) به دلیل سهولت در تکثیر، الگوی نوار بندی روشن و چند شکلی‌های گزارش شده در مقالات، برای ارزیابی روابط فیلوژنتیکی دو گونه لوفای *Luffa acutangula* و *Luffa aegyptiaca*، از سه نشانگر بارکدگذاری ITS، rbcL و trnH-psbA استفاده کردند. اخیرا سودمندی منطقه *ITS* به عنوان بارکد دی ان ای مورد ارزیابی بیشتر قرار گرفته است، و پیشنهاد شده است که *ITS* باید به‌عنوان بارکد گیاهی مرکزی مورد استفاده قرار گیرد (۵). گیاه لوفا در نقاط مختلف دنیا و نیز بخش‌های مختلف ایران قابلیت رشد دارد. علی رغم اهمیت اقتصادی این گیاه و کاربرد وسیع آن در حوزه‌های مختلف بهداشتی، صنعتی، عمرانی و... (۲،۱۹) و نیز سابقه دیرین رویش آن در نقاط مختلف ایران تا کنون هیچ مطالعه‌ای درخصوص بررسی مولکولی و شناسایی گونه‌های مختلف بومی‌ایران و نیز بررسی روابط خانوادگی و

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

فاصله ژنتیکی این گونه‌ها با هم و نیز با ارقام موجود در سایر نقاط دنیا صورت نگرفته است. در این تحقیق از نشانگرهای *ITS* استفاده گردید تا تنوع موجود در برخی از ژنوتیپ‌های مختلف لوفای بومی و غیر بومی‌بررسی و فاصله ژنتیکی آن‌ها تعیین شود تا از نتایج آن بتوان در جهت تشخیص و اصلاح ارقام و ژنوتیپ‌های برتر، برای افزایش کمیت و کیفیت محصول لوفا استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی

در این تحقیق که در سال ۱۳۹۹ در دانشگاه زابل انجام شد، از پنج ژنوتیپ بومی گیاه لوفا مربوط به استان‌های مازندران، کرمان، سیستان و بلوچستان و سه ژنوتیپ غیربومی مربوط به کشورهای چین، برزیل و اسپانیا استفاده شد (جدول ۱). کلیه بذور از شرکت نسیما تولیدکننده و فرآوری‌کننده گیاه لوفا (قم، ایران) تهیه گردید. پس از کشت بذرها و رشد گیاهچه‌ها (۱۰ گیاهچه از هر ژنوتیپ) در گلخانه نمونه‌برداری از برگ‌های تازه و جوان گیاهچه‌ها انجام شد و پس از بسته‌بندی به‌صورت جداگانه در پلاستیک‌های مخصوص و ثبت مشخصات رقم، و تاریخ نمونه‌برداری نمونه‌های برگی به آزمایشگاه پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل منتقل شدند و تا زمان استخراج دی ان ای در فریزر۸۰- درجه نگهداری گردیدند.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های لوفا موردمطالعه

Table 1. Characteristics of luffa genotypes studied

موقعیت منطقه	علامت اختصاری	نام فارسی	شماره ژنوتیپ
مازندران Mazandaran	Si	شمالی بذرسیاه Northern black seed	۱
کرمان Kerman	He	شیاردار Angled	۲
مازندران Mazandaran	Se	شمالی بذرسفید Northern white seed	۳
اسپانیا Spain	Es	اسپانیایی Spanish	۴
سیستان و بلوچستان Sistan and Baluchistan	Tu	توری Touri	۵
چین China	Lc	لانگ لوفا Long luffa	۶
مازندران Mazandaran	Gh	شمالی بزرگ Northern large	۷
امریکای لاتین Latin America	Be	برزیلی Brazilian	۸

استخراج و تکثیر دی ان ای

جهت استخراج دی ان ای از برگ‌های نمونه‌برداری شده گیاه لوفا، از روش دلاپورتا و همکاران (۷) استفاده شد. به‌منظور تعیین کیفیت و کمیت دی ان ای استخراج شده، از الکتروفورز تحت ولتاژ ۸۰ به مدت ۶۰ دقیقه و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. علاوه بر این برای تعیین کمیت دی ان ای از دستگاه اسپکتوفتومتر مدل Unico USA UV-2100 استفاده شد. از یک جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده از روی ناحیه ITS برای انجام PCR طبق برنامه جدول ۲ با استفاده از دستگاه Eppendorf (22331 Humburg) استفاده شد (جدول ۳).

جدول ۲- برنامه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با آغازگر ITS

Table 2. Polymerase Chain Reaction Program with ITS primer

مرحله واکنش	سیکل	دما (سانتی‌گراد)	زمان
واسرشت سازی اولیه (Initial denaturation)	۱	۹۴	دقیقه ۶
واسرشت سازی (Denaturation)	۳۵	۹۴	ثانیه ۴۵
اتصال آغازگر (Connection of primer)	۳۵	۵۹/۳	ثانیه ۴۵
توسعه آغازگر (Primer extension)	۳۵	۷۲	ثانیه ۵۰
توسعه نهایی (Final extension)	۱	۷۲	دقیقه ۱۵
نگهداری (Maintenance)	-	۴	-

جدول ۳- توالی آغازگرهای ITS

Table 3. The primer sequence of ITS genes

ITS_f	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	Rabinson *et al*., 2001
ITS_r	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White *et al*., 1990

توالی‌یابی محصول PCR و تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج PCR جهت انجام توالی‌یابی به شرکت فزا پژوه ارسال و توالی‌یابی انجام گردید. پس از تعیین توالی، کیفیت توالی‌ها توسط نرم‌افزارهای Chromas و BioEdite بررسی شده و سپس با روش ClustalW توسط نرم‌افزارهای BioEdit و MEGA نسخه 7.0.26 هم‌ترازی و ویرایش توالی‌های به‌دست‌آمده انجام شد. نتایج حاصله در پایگاه داده NCBI ثبت گردید. هم‌چنین پارامترهای ژنتیکی از قبیل تعداد جهش‌ها، تنوع نوکلئوتیدی و تعداد جایگزینی‌ها و تنوع آن‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای DNAspv5 و MEGA7 محاسبه شد و روابط

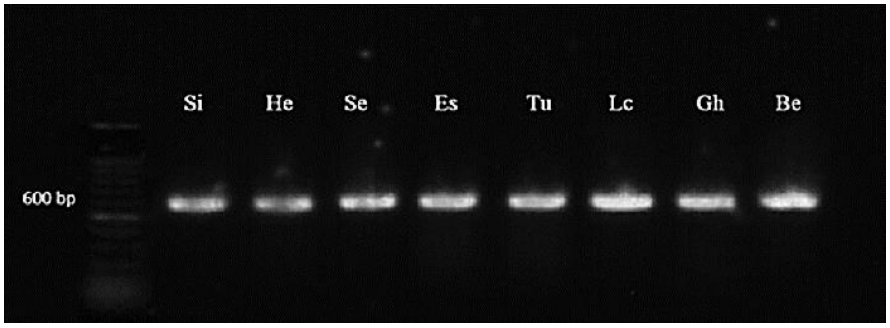
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

خویشاوندی و فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها تعیین و در نهایت درخت فیلوژنی با استفاده از روش UPGMA ترسیم گردید.

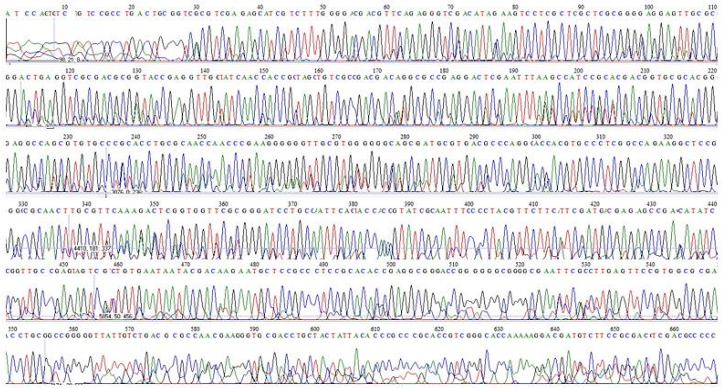
نتایج و بحث

تکثیر ناحیه بین ژنی ITS و توالی‌یابی

جهت تکثیر و آنالیز توالی ناحیه موردنظر *ITS*، ابتدا دی‌ان‌ای نمونه ها با استفاده از روش دلاپورتا از بافت برگی استخراج و در ادامه به منظور بررسی کیفیت و کمیت آنها از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و هم‌چنین اسپکتوفتومتر استفاده گردید. واکنشPCR نمونه‌ها نیز با استفاده از دی‌ان‌ای استخراجی به عنوان الگو و پرایمرهای اختصاصی انجام شد و در ادامه الکتروفورز محصولات تکثیر شده روی ژل آگارز یک درصد انجام گردید (شکل ۱). سپس قطعات تکثیر شده برای توالی‌یابی ارسال شدند و پس از دریافت نتایج توالی‌یابی، کیفیت آنها با استفاده از نرم‌افزارهای Chromas و BioEdite مورد بررسی قرار گرفت. کیفیت گراف‌های حاصل از توالی‌یابی با توجه به عدم وجود همپوشانی و مجزا و قابل تفکیک و تشخیص بودن گراف‌ها نشان‌دهنده میزان دقت در تعیین توالی بود (شکل ۲).



شکل ۱- محصولات PCR با پرایمرهای ITS برای ۸ ژنوتیپ لوفای مورد مطالعه
Figure 1. PCR products of ITS primers for 8 Luffa genotypes studied



شکل ۲- گراف حاصل از نتایج توالی‌یابی ژن *ITS* در لوفای شیاردار به‌عنوان نمونه
Figure 2. The graph of sequencing results of ITS gene in angle luffa, as a sample

آنالیز توالی‌ها

نتایج حاصل از توالی‌یابی ناحیه تکثیر شده ITS با توالی‌های مشابه ثبت شده موجود در پایگاه داده Nucleotide NCBI مورد مقایسه قرار گرفتند. با انجام مقایسه توالی‌های حاصله شباهت بالایی بین این توالی‌ها با توالی‌های گونه *Luffa aegyptiaca* موجود در بانک ژن مشخص گردید (حدود ۹۳/۵-۹۱ درصد). نتایج توالی‌یابی ناحیه تکثیر شده ITS ژنوتیپ‌های مورد بررسی در پایگاه داده NCBI ثبت گردید. شماره دسترسی هر کدام از توالی‌های ثبت شده در جدول ۴ آورده شده است.

بر اساس نتایج آنالیز هشت توالی مورد مطالعه به کمک نرم‌افزار DNAsp، برای ژن *ITS* در مجموع چهار سینگلتن در جایگاه‌های ۴۶، ۱۲۱، ۱۶۴ و ۲۱۲ و یک PIS (Parsimony Informative Sites) در جایگاه ۱۷۰ شناسایی شد. از ۱۷۵ جایگاه دارای حذف و اضافه (۱۷۰ مونومورف و ۵ پلی مورف) و ۵۲۸ جایگاه بدون حذف و اضافه شناسایی شد. یک ناحیه حفاظت شده بین جایگاه ۶۵۰- ۲۰۸ با ضریب حفاظتی ۰/۸۶ و میزان شباهت ۰/۹۶ با P-value=۰ در توالی تکثیر شده ژن *ITS* شناسایی شد (شکل ۳). در این جمعیت سه هاپلوتیپ (شاخص‌هاپلوتیپی ۰/۷۵) وجود داشت.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

جدول۴- نتایج توالی‌یابی ژنوتیپ‌ها موردبررسی پس از تعیین توالی و ثبت ژن ITS در پایگاه داده NCBI
Table 4. Sequencing results of genotypes examined after sequencing in the NCBI database

شماره ژنوتیپ	نام فارسی	کد شناسایی	شماره دسترسی
۱	شمالی بذرسیاه Northern black seed	Si	LC548415
۲	شیاردار Angled	He	LC548416
۳	شمالی بذرسفید Northern white seed	Se	LC548417
۴	اسپانیایی Spanish	Es	LC548418
۵	توری Touri	Tu	LC548419
۶	لانگ لوفا Long luffa	Lc	LC548420
۷	شمالی بزرگ Northern large	Gh	LC548421
۸	برزیلی Brazilian	Be	LC548422

3'-GTGCKCACGGGAGGCCAGCGTGTGCCCSCACCTGCGCAACCRACCCGAAGGGGGGTTGCGTGGGGGGCAGCGATG
CGTGACGCCCAGGCASCACGTGCCCTCGGCCAGAAGGCTCCGGGCCGCAACTTGYGTTCAAARACTCGGTGGTKCGC
GGGGATCCTGCCAATTCACWMCMACCGTATCGCAATYTYCSCTACGTTCTTCATYCGATGAYGMGARRSCSRRSATA
TCCGGTTGCCSRRKAGTCGTCTGTGAAKAATACGACAAGAAATGCTCCGCCCTCCGCACACCGAGGCGGGRCSKGGG
GSCGGGKYGAATTCRYCTTGAGTTCCKTGGTCGCGACCTGCGCCGGGGGTTTTGTTGAGGCGCCRGGARGSTGCGTGC
KTTGCWAGTACGATGCTYYCMACSYCGGCACAGAAARGATTCRTGMAACGCGATGCGCG-5'

شکل ۳- ناحیه حفاظت شده
Figure 3. Conserved region

آنالیز جانشینی‌های نوکلئوتیدی و بر اساس الگوی Tamura-Nei model تامورا و نی (۲۱)، در نرم‌افزار MEGA7 نشان داد که با توجه به جایگزینیهای بازهای پورینی و پریمیدینی در نقاط پلی مورف بیش‌ترین جانشینی‌ها برای توالی *ITS* از نوع متقاطع (Transversion) (۵۵/۵درصد) یعنی جایگزینی باز پورینی با پریمیدینی و بلعکس بود و تنها ۴۴/۵ درصد جانشینی‌ها از نوع نوع انتقالی (Transition) یعنی جایگزینی باز پورین با پورین و یا پریمیدین با پریمیدین بود (جدول ۵). همچنین طبق محاسبات انجام شده به کمک نرم‌افزار MEGA7 در توالی ناحیه مورد مطالعه *ITS* به‌طور میانگین نسبت تیمین ۹/۱۸، سیتوزین ۸/۲۸، آدنین ۹/۱۹ و گوانین ۴/۳۲ درصد کل نوکلئوتیدها بود (جدول ۶).

جدول ۵- جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه توالی‌یابی شده ژن ITS به‌صورت میزان جانشین‌های نوع انتقالی و متقاطع محاسبه شده به کمک نرم‌افزار MEGA7 جانشین‌های انتقالی به‌صورت پررنگ شده مشخص شده‌اند
Table 5. Nucleotide replacement as a transition and transversion, in sequenced region of *ITS* gene calculated with MEGA7 Transitional substitutions are shown in bold

From\To	A	T/U	C	G
A	-	۵/۲	۸/۰	**۱۳/۲**
T/U	۵/۳	-	**۱۴/۴**	۹/۲
C	۵/۳	**۹/۳**	-	۹/۲
G	**۷/۶**	۵/۲	۸/۰	-

نرخ‌های جایگزینی

بررسی روند انتخاب طبیعی (dN/dS) برای توالی *ITS* با استفاده از روش گویوبوری و نی (۱۸) و آمار ارتقاء یافته توسط اتا و نی (۱۷) نشان داد علی‌رغم وجود جایگزینی‌های مترادف و غیرمترادف در مقایسه بین جفت توالی‌ها، مقدار متوسط عددی این نسبت حدوداً برابر با ۰/۸۶ بود. مقادیر نرخ‌های جایگزینی‌های مترادف و غیرمترادف بر اساس جفت توالی‌های هم‌تراز شده در جدول ۷ آمده است.

جدول۶- نسبت نوکلئوتیدهای مختلف به کل نوکلئوتیدها در ناحیه توالی‌یابی شده توالی ITS محاسبه شده به کمک نرم افزار MEGA7
Table 6. The ratio of different nucleotides to total nucleotides in sequenced region of *ITS* gene calculated with MEGA7

ژنوتیپ	T(U)	C	A	G	مجموع
ITS-Si	۱۷/۳	۳۱/۸	۲۰/۰	۳۱/۰	۷۵۹/۰
ITS-He	۱۸/۷	۲۸/۲	۱۹/۵	۳۳/۶	۷۰۲/۰
ITS-Se	۱۸/۶	۲۸/۹	۱۹/۴	۳۳/۱	۶۹۵/۰
ITS-Es	۱۸/۶	۲۸/۶	۱۹/۹	۳۲/۹	۶۹۹/۰
ITS-Tu	۱۸/۲	۲۹/۸	۱۸/۸	۳۳/۲	۷۰۲/۰
ITS-Lc	۲۱/۹	۲۷/۰	۱۹/۷	۳۱/۴	۶۴۴/۰
ITS-Gh	۱۹/۶	۲۷/۴	۲۱/۷	۳۱/۲	۷۳۳/۰
ITS-Be	۱۸/۵	۲۸/۴	۱۹/۸	۳۳/۲	۷۰۱/۰
Avg.	۱۸/۹	۲۸/۸	۱۹/۹	۳۲/۴	۷۰۴/۴

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

جدول ۷- محاسبه نرخ‌های جایگزینی‌های مترادف و غیرمترادف بر اساس توالی‌های هم‌تراز شده ITS

Table 7. SNAP calculates synonymous and non-synonymous substitution rates based on a set of codon-aligned nucleotide sequences

Compare	Sequence names	Sd	Sn	S	N	ps	pn	ds	dn	ds/dn	ps/pn
۱ ۰	ITS-Si1 ITS-He	۱۳۲/۵۰۰۰	۳۷۰/۵۰۰۰	۱۹۲/۱۶۶۷	۵۰۹/۸۳۳۳	۰/۶۸۹۵	۰/۷۲۶۷	۱/۸۸۸۱	۲/۶۰۴۰	۰/۷۲۵۱	۰/۹۴۸۸
۲ ۰	ITS-Si1 ITS-Se	۱۴۰/۳۳۳۳	۳۸۰/۶۶۶۷	۱۸۶/۱۶۶۷	۵۰۶/۸۳۳۳	۰/۷۵۳۸	۰/۷۵۱۱	nan	nan	nan	۱/۰۰۳۶
۳ ۰	ITS-Si1 ITS-Es	۱۳۸/۱۶۶۷	۳۷۹/۸۳۳۳	۱۹۰/۱۶۶۷	۵۰۸/۸۳۳۳	۰/۷۲۶۶	۰/۷۴۶۵	۲/۵۹۹۱	۴/۰۲۱۰	۰/۶۴۶۴	۰/۹۷۳۳
۴ ۰	ITS-Si1 ITS-Tu	۱۱۱/۱۶۶۷	۳۱۱/۸۳۳۳	۱۸۸/۰۰۰۰	۵۱۴/۰۰۰۰	۰/۵۹۱۳	۰/۶۰۶۷	۱/۱۶۴۹	۱/۲۴۱۲	۰/۹۳۸۵	۰/۹۷۴۷
۵ ۰	ITS-Si1 ITS-Lc	۱۱۹/۳۳۳۳	۳۴۵/۶۶۶۷	۱۷۴/۶۶۶۷	۴۶۷/۳۳۳۳	۰/۶۸۳۲	۰/۷۳۹۷	۱/۸۱۳۸	۳/۲۱۲۹	۰/۵۶۴۶	۰/۹۲۳۷
۶ ۰	ITS-Si1 ITS-Gh	۱۳۹/۰۰۰۰	۳۹۸/۰۰۰۰	۱۹۱/۳۳۳۳	۵۴۰/۶۶۶۷	۰/۷۲۶۵	۰/۷۳۶۱	۲/۵۹۶۷	۲/۹۹۲۷	۰/۸۶۷۷	۰/۹۸۶۹
۷ ۰	ITS-Si1 ITS-Be	۱۰۴/۱۶۶۷	۳۰۱/۸۳۳۳	۱۹۰/۶۶۶۷	۵۰۸/۳۳۳۳	۰/۵۴۶۳	۰/۵۹۳۸	۰/۹۷۷۷	۱/۱۷۶۶	۰/۸۳۱۰	۰/۹۲۰۱
۲ ۱	ITS-He1 ITS-Se	۱۳۳/۸۳۳۳	۳۵۰/۱۶۶۷	۱۸۵/۰۰۰۰	۵۰۸/۰۰۰۰	۰/۷۲۳۴	۰/۶۸۹۳	۲/۵۰۵۰	۱/۸۸۵۷	۱/۳۲۸۵	۱/۰۴۹۵
۳ ۱	ITS-He1 ITS-Es	۱۳/۶۶۶۷	۳۷/۳۳۳۳	۱۸۹/۰۰۰۰	۵۱۰/۰۰۰۰	۰/۰۷۲۳	۰/۰۷۳۲	۰/۰۷۶۰	۰/۰۷۷۰	۰/۹۸۷۲	۰/۹۸۷۸
۴ ۱	ITS-He1 ITS-Tu	۱۲۴/۱۶۶۷	۳۵۴/۸۳۳۳	۱۸۶/۸۳۳۳	۵۱۵/۱۶۶۷	۰/۶۶۴۶	۰/۶۸۸۸	۱/۶۲۹۴	۱/۸۷۹۱	۰/۸۶۷۱	۰/۹۶۴۹
۵ ۱	ITS-He1 ITS-Lc	۸۸/۵۰۰۰	۲۶۵/۵۰۰۰	۱۷۵/۰۰۰۰	۴۶۷/۰۰۰۰	۰/۵۰۵۷	۰/۵۶۸۵	۰/۸۴۱۳	۱/۰۶۴۲	۰/۷۹۰۵	۰/۸۸۹۵
۶ ۱	ITS-He1 ITS-Gh	۱۰۴/۰۰۰۰	۳۳۰/۰۰۰۰	۱۸۴/۰۰۰۰	۵۱۸/۰۰۰۰	۰/۵۶۵۲	۰/۶۳۷۱	۱/۰۵۰۷	۱/۴۱۹۹	۰/۷۳۹۹	۰/۸۸۷۲
۷ ۱	ITS-He1 ITS-Be	۱۳۴/۳۳۳۳	۳۴۳/۶۶۶۷	۱۸۹/۵۰۰۰	۵۰۹/۵۰۰۰	۰/۷۰۸۹	۰/۶۷۴۵	۲/۱۷۷۷	۱/۷۲۲۱	۱/۲۶۴۶	۱/۰۵۰۹
۳ ۲	ITS-Se1 ITS-Es	۱۲۹/۳۳۳۳	۳۵۵/۶۶۶۷	۱۸۳/۱۶۶۷	۵۰۹/۸۳۳۳	۰/۷۰۶۱	۰/۶۹۷۶	۲/۱۲۸۶	۱/۹۹۶۱	۱/۰۶۶۴	۱/۰۱۲۲
۴ ۲	ITS-Se1 ITS-Tu	۱۲۹/۰۰۰۰	۳۷۳/۰۰۰۰	۱۸۰/۳۳۳۳	۵۱۲/۶۶۶۷	۰/۷۱۵۳	۰/۷۲۷۶	۲/۳۰۵۹	۲/۶۳۲۲	۰/۸۷۶۰	۰/۹۸۳۲
۵ ۲	ITS-Se1 ITS-Lc	۱۱۷/۶۶۶۷	۳۱۷/۳۳۳۳	۱۷۱/۶۶۶۷	۴۷۰/۳۳۳۳	۰/۶۸۵۴	۰/۶۷۴۷	۱/۸۳۹۳	۱/۷۲۳۹	۱/۰۶۶۹	۱/۰۱۵۹
۶ ۲	ITS-Se1 ITS-Gh	۱۲۴/۰۰۰۰	۳۷۰/۰۰۰۰	۱۷۸/۰۰۰۰	۵۱۵/۰۰۰۰	۰/۶۹۶۶	۰/۷۱۸۴	۱/۹۸۲۱	۲/۳۷۶۳	۰/۸۳۴۱	۰/۹۶۹۶
۷ ۲	ITS-Se1 ITS-Be	۱۱۶/۶۶۶۷	۳۶۷/۳۳۳۳	۱۸۳/۶۶۶۷	۵۰۹/۳۳۳۳	۰/۶۳۵۲	۰/۷۲۱۲	۱/۴۰۷۷	۲/۴۴۴۹	۰/۵۷۵۸	۰/۸۸۰۸
۴ ۳	ITS-Es1 ITS-Tu	۱۲۹/۱۶۶۷	۳۷۲/۸۳۳۳	۱۸۴/۵۰۰۰	۵۱۴/۵۰۰۰	۰/۷۰۰۱	۰/۷۲۴۷	۲/۰۳۲۴	۲/۵۴۰۵	۰/۸۰۰۰	۰/۹۶۶۱
۵ ۳	ITS-Es1 ITS-Lc	۹۱/۶۶۶۷	۲۶۸/۳۳۳۳	۱۷۴/۱۶۶۷	۴۶۷/۸۳۳۳	۰/۵۲۶۳	۰/۵۷۳۶	۰/۹۰۷۴	۱/۰۸۵۳	۰/۸۳۶۰	۰/۹۱۷۶
۶ ۳	ITS-Es1 ITS-Gh	۱۰۰/۳۳۳۳	۳۲۹/۶۶۶۷	۱۸۲/۰۰۰۰	۵۱۷/۰۰۰۰	۰/۵۵۱۳	۰/۶۳۷۷	۰/۹۹۶۱	۱/۴۲۳۹	۰/۶۹۹۶	۰/۸۶۴۵
۷ ۳	ITS-Es1 ITS-Be	۱۳۶/۵۰۰۰	۳۵۲/۵۰۰۰	۱۸۷/۸۳۳۳	۵۱۱/۱۶۶۷	۰/۷۲۶۷	۰/۶۸۹۶	۲/۶۰۴۰	۱/۸۸۹۳	۱/۳۷۸۳	۱/۰۵۳۸
۵ ۴	ITS-Tu1 ITS-Lc	۱۱۴/۳۳۳۳	۳۳۵/۶۶۶۷	۱۶۹/۶۶۶۷	۴۷۲/۳۳۳۳	۰/۶۷۳۹	۰/۷۱۰۷	۱/۷۱۵۷	۲/۲۱۰۸	۰/۷۷۶۱	۰/۹۴۸۲
۶ ۴	ITS-Tu1 ITS-Gh	۱۳۰/۱۶۶۷	۳۹۰/۸۳۳۳	۱۷۹/۸۳۳۳	۵۲۲/۱۶۶۷	۰/۷۲۳۸	۰/۷۴۸۵	۲/۵۱۶۳	۴/۶۵۲۹	۰/۵۴۰۸	۰/۹۶۷۰
۷ ۴	ITS-Tu1 ITS-Be	۱۱۷/۳۳۳۳	۳۵۲/۶۶۶۷	۱۸۵/۰۰۰۰	۵۱۴/۰۰۰۰	۰/۶۳۴۲	۰/۶۸۶۱	۱/۴۰۱۴	۱/۸۴۷۳	۰/۷۵۸۶	۰/۹۲۴۴
۶ ۵	ITS-Lc1 ITS-Gh	۱۱۶/۰۰۰۰	۳۴۱/۰۰۰۰	۱۶۸/۳۳۳۳	۴۷۳/۶۶۶۷	۰/۶۸۹۱	۰/۷۱۹۹	۱/۸۸۳۲	۲/۴۱۲۰	۰/۷۸۰۸	۰/۹۵۷۲
۷ ۵	ITS-Lc1 ITS-Be	۱۲۵/۶۶۶۷	۳۴۵/۳۳۳۳	۱۷۴/۳۳۳۳	۴۶۷/۶۶۶۷	۰/۷۲۰۸	۰/۷۳۸۴	۲/۴۳۵۵	۳/۱۲۷۹	۰/۷۷۸۶	۰/۹۷۶۲
۷ ۶	ITS-Gh1 ITS-Be	۱۱۴/۳۳۳۳	۳۳۱/۶۶۶۷	۱۸۲/۵۰۰۰	۵۱۶/۵۰۰۰	۰/۶۲۶۵	۰/۶۴۲۱	۱/۳۵۲۸	۱/۴۵۴۴	۰/۹۳۰۱	۰/۹۷۵۶

نتایج مقایسه داده‌های ژنتیکی میان جفت نواحی

آنالیزها فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی برای نشانگر*ITS* با استفاده از مدل Maximum Composite Likelihood تامورا و نی (۲۱) نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی از ۰/۰۲۷ تا ۲۶۱/۰ با میانگین کلی فاصله ۰/۱۰۷ بود. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (۲۶۱/۰) بین نمونه‌های لانگ لوفا (*ITS*-Lc1) و شمالی بذرسیاه از ایران (*ITS*-Si1) و کم‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۲۷۰) بین نمونه‌های اسپانیایی (*ITS*-Es1) و شمالی سفید (*ITS*-Se1) بود (جدول ۸).

جدول ۸- فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های لوفای موردمطالعه

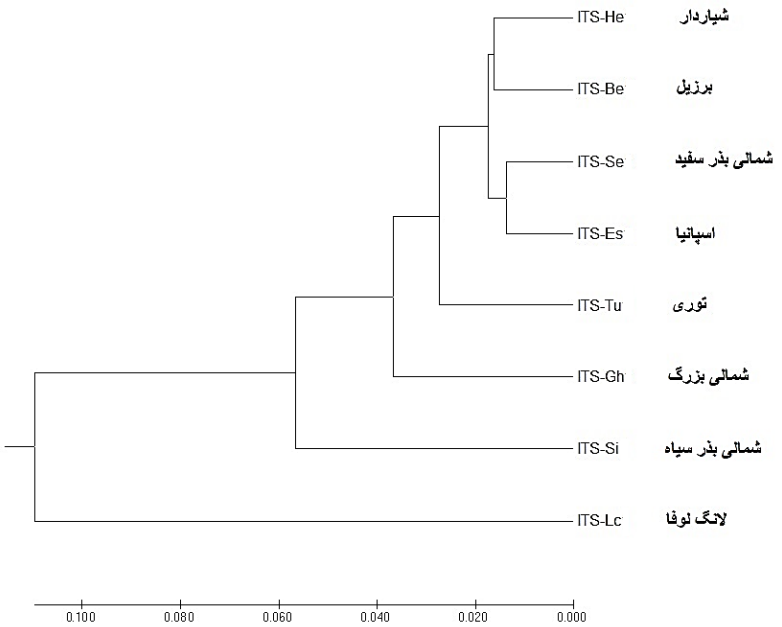
Table 8. Genetic distance of Luffa genotypes studied

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
ITS-Si							
ITS-He	۰/۱۱۳						
ITS-Se	۰/۱۱۷	۰/۰۳۱					
ITS-Es	۰/۱۱۳	۰/۰۳۷	۰/۰۲۷				
ITS-Tu	۰/۱۰۴	۰/۰۳۹	۰/۰۶۱	۰/۰۶۱			
ITS-Lc	۰/۲۶۱	۰/۲۱۱	۰/۲۰۷	۰/۲۱۱	۰/۲۲۲		
ITS-Gh	۰/۱۱۳	۰/۰۷۵	۰/۰۶۸	۰/۰۶۸	۰/۰۸۲	۰/۲۲۱	
ITS-Be	۰/۱۲۲	۰/۰۳۲	۰/۰۳۶	۰/۰۳۶	۰/۰۵۸	۰/۲۰۳	۰/۰۷۵

بررسی روابط فیلوژنتیکی

توالی‌های *ITS* به‌دست‌آمده پس از ویرایش جهت ترسیم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار ۷MEGA بر اساس روش UPGMA و Maximum-likelihood method مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۴). بر اساس برش دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های موردمطالعه بر دو گروه اصلی (خوشه) تقسیم شدند. گروه اول خود به دو زیر شاخه تقسیم شد. که در زیر شاخه اول ژنوتیپ‌های شیاردار و برزیلی با فاصله ژنتیکی بیشتر نسبت به ارقام شمالی بذر سفید و اسپانیایی قرار گرفتند و ژنوتیپ شیاردار، برزیلی، شمالی بذر سفید و اسپانیایی با فاصله ژنتیکی بیشتر نسبت به رقم توری و همچنین تمامی این ژنوتیپ‌ها با فاصله ژنتیکی بیشتر نسبت به رقم شمالی بزرگ قرار گرفتند. در زیر شاخه دوم نیز رقم شمالی بذر سیاه قرار گرفت. در گروه دوم نیز رقم وارداتی و اصلاح شده لانگ لوفا به صورت مجزا قرار گرفت.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]



شکل ۴- درخت روابط فیلوژنتیکی ارقام لوفا، ترسیم شده به روش UPGMA بر اساس توالی ناحیه *rbcl* مورد مطالعه
Figure 4. The phylogenetic tree of *Luffa genotypes* designed with UPGMA method based on the sequence of *rbcL* region studied.

هدف از تحقیق حاضر بررسی تنوع موجود در تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی‌و غیربومی‌گیاه لوفا از طریق ارزیابی ناحیه بین ژنی *ITS* ریبوزومی به منظور تعیین فاصله ژنتیکی، تعیین شباهت و ترسیم درخت فیلوژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. دو آغازگر *ITS* و *trnH-psbA* قبلا توسط چاپالاق پریدری و همکاران (۳) به منظور تعیین روابط فیلوژنتیکی جنس ممرز (*Carpinus*) در ایران استفاده شده بود. نتایج تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی حاکی از برتر بودن کارایی آغازگر *ITS* نسبت به *trnH-psbA* در تفکیک و شناسایی گونه‌های این جنس بود. حاجی احمدی و همکاران (۱۰) نیز از چهار بارکد (*matk, rbcl, ITS, trnH-psbA*) برای بررسی تنوع درون و برون گونه‌های سه خانواده *Lythraceae, Punicaceae, Myrtaceae* استفاده کردند. نتایج توالی سه خانواده مذکور با هدف تعیین موقعیت انار در سیستم رده بندی گیاهی، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در خانواده *Myrtaceae* می‌توان از دو ناحیه *ITS* و *trnH-psbA* به طور مکمل و در رابطه با خانواده *Lythraceae* از ناحیه *ITS* برای مطالعات فیلوژنی استفاده کرد. قهرمانزاده و همکاران در سال ۱۳۹۱ (۸) ۸۱ نمونه متعلق به ۱۳ گونه مختلف از جنس مریافیلوم را مورد بررسی قرار دادند. در آن تحقیق از مناطق بین ژنی هسته‌ای *ITS1* و *ITS2*، مناطق کلروپلاستی *matk*، *rbcl* و *trnH-psbA* برای تشخیص گونه‌های بومی‌و مهاجم متعلق به این جنس استفاده شده بود که نتایج آنها نشان داد که توالی *ITS1* و *ITS2*، با اینکه حاوی جایگاه‌های متغیر متعددی بودند و باعث تفکیک گونه‌ها از همدیگر شدند ولی به دلیل درصد تکثیر پایین، به عنوان بارکد مناسب انتخاب نشدند. در تحقیق دیگر تنوع ژنتیکی هشت گیاه دارویی جمع آوری شده از استان اردبیل از طریق بارکدهای کلروپلاستی *rbcl, matk, trnH-psbA,* و بارکد هسته‌ای *ITS* ارزیابی شد (۱). درصد موفقیت تکثیر و توالی یابی در نمونه‌ها بین ۱۲ تا ۸۷ درصد در نوسان بود. توالی‌ها با نمونه‌های موجود در پایگاه داده NCBI همردیف شده و تحت تجزیه بیوانفورماتیکی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آنها بارکد *rbcl* به دلیل قدرت تفکیک بالا، تعداد SNP پایین و جامعیت در اکثر گونه‌ها، به عنوان بهترین بارکد معرفی شد. با این وجود، بارکدهای *trnH-psbA* و *ITS* به دلیل مشکل مرتبط با توالی یابی مستقیم محصولات PCR و عدم دسترسی به توالی‌های با کیفیت، به عنوان بارکدهای مکمل شناسایی شدند. در تحقیق حاضر تکثیر و تولی یابی ناحیه بین ژنی *ITS* ریبوزومی با کیفیت مناسب انجام و نتایج جهت مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

با توجه به نتایج حاصله از مطالعه حاضر، قرابت‌های موجود بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس توالی ناحیه بین ژنی *ITS*، نشان‌دهنده وجود تنوع درون گونه‌ای در ژنوتیپ‌های *Luffa aegyptiaca* بود با میانگین متوسط ۰/۱۰۷. همچنین این تنوع با توزیع و فواصل جغرافیایی ژنوتیپها همخوانی داشت. با این حال میزان پایین فواصل ژنتیکی بیانگر ضعف نسبی این مارکر در مطالعات ژنتیکی این گیاه بود. بنابراین همانطور که در مطالعات قبلی بر روی سایر گیاهان هم مطرح شده بود جهت حصول اطمینان و نتیجه‌گیری دقیق‌تر، و با توجه به عدم وجود اطلاعات مشابه مربوط به ناحیه بین ژنی *ITS* بر روی گیاه لوفا، پیشنهاد می شود این مارکر به عنوان مارکر مکمل با سایر مارکرها استفاده شود (۱).

براساس نتایج مطالعه حاضر، مقدار متوسط عددی جایگزینی‌های مترادف و غیرمترادف برای توالی *ITS* مورد

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

مطالعه حدوداً برابر با ۰/۸۶ بود. لی و همکاران (۱۴) بیان کردند که در تکامل ژنها چنانچه نسبت تغییرات نوکلئوتیدی که سبب تغییر در اسیدهای آمینه می‌شوند (dN) نسبت به تغییراتی که بر اسیدهای آمینه بی‌تأثیر هستند (dS) کم‌تر از یک باشد بیانگر این است که در طی تکامل این ژن‌ها انتخاب خالص صورت گرفته است. بنابراین نرخ جایگزینی برای توالی *ITS* مورد مطالعه نشان‌دهنده گزینش‌های مثبت و خالص در روند انتخاب طبیعی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد، به این معنی که وقتی بین ارقام مقایسه صورت می‌گیرد به واقع طی تکامل، ناحیه بین ژنی *ITS* مورد مطالعه دچار گزینش مثبت و یا خالص شده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد برای ژن *ITS* در مجموع چهار سینگلتن در جایگاه‌های ۴۶، ۱۲۱، ۱۶۴ و ۲۱۲، و یک PIS (Parsimony Informative Sites) در جایگاه ۱۷۰ شناسایی شد. از ۷۰۳ جایگاه شناسایی شده، ۱۷۵جایگاه دارای حذف و اضافه (۱۷۰ مونومورف و ۵ پلی‌مورف) و ۵۲۸ جایگاه بدون حذف واضافه شناسایی شد، که نشان‌دهنده تغییرات بالا بین ارقام مختلف لوفا بود. از طرف دیگر نتایج نشان داد گزینش‌های مثبت و خالص متعدد در روند انتخاب طبیعی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه اتفاق افتاده است. با توجه با فواصل ژنتیکی اندک بین ژنوتیپ‌ها پیشنهاد می‌شود که تنوع این ژنوتیپ‌ها به‌وسیله دیگر بارکدهای دی ان ای نظیر *rbcl matk*, و *IGS* نیز بررسی شود تا با نتایج تحقیق حاضر مورد مقایسه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه زابل با شماره گرنت UOZ-GR-9618-129 انجام شده است. بدینوسیله از حمایت مالی توسعه زیست فناوری و معاونت پژوهشی دانشگاه زابل جهت انجام تحقیق حاضر قدردانی می‌شود.

منابع

1. Asadi, F., S. Dezhsetan, R. Ghahramanzadeh, J. Razmjou and M. Alebrahim. 2015. DNA barcoding of some local medicinal plants of Ardabil province. *Crop Biotechnology*, 5(10): 31-40.
2. Bor, J. Y., H.Y. Chen and G.C. Yen. 2006. Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(5): 1680-1686.
3. Chaplagh Paridri, A., G. Jalali, A. Sanbali and M. Zarafshar. 2013. Review of hornbeam species (*Carpinus* L.) in Iran based on molecular markers (ITS and trnh-psbA). Genetic research and breeding of rangeland and forest plants in Iran, 20 (1 (39 consecutive)), 1-13.
4. Chillali, M., H. Idder Ighili, J.J. Guillaumin, C. Mohammed B. Long Escarmant and B. Botton. 1998. Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of *European armillaria*. Mycologica Research 102: 533-540.
5. China Plant BOL Group. 2011. Comparative analysis of a large data set indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. Proc Natl Acad Sci USA 108: 19641-19646.
6. Deng, W., D. Xi, H. Mao and M. Wanapat. 2008. The use of molecular techniques based on ribosomal RNA and DNA for rumen microbial ecosystem studies:a review. Molecular Biology Reports, 35:265-274.
7. Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks. 1993. A plant DNA minipreparation: version II. Plant Molecular Biology Reporter, 1: 19-22.
8. Ghahramanzadeh, R., S.H. Marashi, C. Wael and S. Malekzadeh. 2012. Separation of invasive species of aquatic herb Mriiophyllum (*Myriophyllum* spp.) From its native relatives using DNA barcode. Plant Protection Quarterly, 26(1).
9. Gupta, P., R. Varshney, P. Sharma and B. Ramesh. 1999. Molecular markers and their application in wheat breeding. Plant breeding, 118: 360-390.
10. Haji Ahmadi, Z., M. Talebi, S. Tabatabaei and E. Badreddin. 2012. Determination of pomegranate phylogeny using plant barcodes psbA-trnH, rbcL, matK and ITS, 12th Iranian Genetics Congress, Tehran, (In Persian).
11. Hassan, L.M. 2006. Quaternization and anion exchange capacity of sponge gourd (*Luffa cylindrica*). Journal of Applied Polymer Science, 101(4): 2495-503.
12. Klemm, D., B. Philipp, T. Heinze, U. Heinze and W. Wagenknecht. 2001. Comprehensive Cellulose Chemistry. Vol. 1. Weinheim, German: Wiley VCH.
13. Kumari, S.A.S.M., N.D.U.S. Nakandala, P.W.I. Nawanjana, R.M.S.K. Rathnayake, H.M.T.N. Senavirathna, et al. 2019. The establishment of the species-delimits and varietal-identities of the cultivated germplasm of *Luffa acutangula* and *Luffa aegyptiaca* in Sri Lanka using morphometric, organoleptic and phylogenetic approaches. PLOS ONE 14(4): e0215176. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215176.
14. Li, J., H. Bi, Z. Li and J. Feng. 2008. Genetic analysis of *Ziziphus Jujube* Huizao using ISSR markers. 1th International Jujube Symphosium, China, 82p.
15. Mazali, I.O. and O.L. Alves. 2005. Morphosynthesis: high fidelity inorganic replica of the fibrous network of loofa sponge (*Luffa cylindrica*). Anais da Academia Brasileira de Ciências, 77(1): 25-31.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

16. Oboh, I. and E. Aluyor. 2009. *Luffa cylindrical*-an emerging cash crop. African Journal of Agricultural Research, 4: 684-688.
17. Ota, T. and M. Nei. ۱۹۹۴ . Variance and covariances of the numbers of synonymous and nonsynonymous substitutions per site. Molecular Biology and Evolution, 11(4): 613-619.
18. Gojobori, T. and M. Nei. 1986. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. Molecular Biology and Evolution, 3: 418-426.
19. Partap, S., A. Kumar, N.K. Sharma and K.K. Jha. 2012. *Luffa cylindrica*: An important medicinal plant. Journal of Natural Product and Plant Resources, 2(1): 127-34.
20. Shah, J.J., Y.J. Thanki and I.L. Kothari. 1980. Skeletal fibrous net in fruits of *Luffa cylindrica* M. Roem, and *Luffa acutangula* Roxb., p. 61-72. In: M. Nagaraj and C.P. Malik (eds.). Current trends in botanical research. Kalyani Publishers, New Delhi, India.
21. Tamura, K. and M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution, 10: 512-526.
22. White T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315-322.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]

Phylogenetic Analysis of Some Indigenous and Non-Indigenous Luffa (*Luffa cylindrica*) Genotypes using *ITS* Marker

Halimah Arbabi[1], Mojtabi Keikhasabar[2], Leila Fahmideh[3] and Valiallah Ghasemi Omran[4]

1- Master's student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Zabul University, Zabul
2- Assistant Professor, Department of Plant Medicine, Faculty of Agriculture, Zabul University, Zabul, (Corresponding author: mkeikhasaber@uoz.ac.ir)
3- Associate Professor of Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- Assistant Professor, Biotechnology Research Institute, Sari University, Sari
Received: 27 Jun, 2021 Accepted: 3 April, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Luffa is a plant from the *Cucurbitaceae* family with the scientific name of *Luffa cylindrica*. In addition to the food consumption of mature green fruit and the medicinal and health properties of seed oil, it is important due to the fibrous spongy texture of its dried fruits. There is a great variety in terms of shape, size, quality of sponge, etc. among different cultivars of Luffa, the study of which helps plant breeders to identify the genetic capacity of traits associated with its important breeding goals.

Material and Methods: In this study, the genetic diversity of 5 indigenous Lufa genotypes related to Mazandaran, Kerman, Sistan and Baluchestan provinces, and 3 non-Indigenous genotypes related to China, Brazil and Afghanistan were studied by evaluating the ITS (Internal transcribed spacer) ribosome region. After sampling of young leaves, DNA was extracted by Dellaporta method, and PCR was performed using a pair of ITS primers. After sequencing and qualification, amplified products were aligned and dendrogram of phylogenic relationships and difference and similarity matrix of sequences were determined.

Results: In this research, from a total of 703 sites, 175 sites had deletion and addition (170 monomorphes and 5 polymorphs) and 528 sites were lake of deletion and addition. Most of the substitutes for the ITS sequence were transversion (55.5%), and only 44.5% of the substitutes were transitional type. Also, the mean ratio of thymine, cytosine, adenine and guanine was 9.18, 8.28, 19.9 and 42.4% of the total nucleotides. The average numerical value of DN / DS ratio was 0.86. The overall average of the genetic distance between the samples examined, for the ITS marker, using the Maximum Composite model was 0.107.

Conclusion: Studying the relationships between tested genotypes based on the ITS region, as analyzed in this study, showed the presence of intra-species variation in the genotypes of *Luffa aegyptiaca* studied. However, relatively low genetic distances between genotypes may indicate the relative weakness of this marker in the genetic studies of Luffa. Therefore, for a more accurate conclusion it is suggested that this marker is be used as a supplementary barcode with other markers.

Keywords: Genetic distance, Genetic diversity, Luffa, Molecular barcode, Ribosome markers

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.52547/jcb.14.43.126]