CC BY

College of Basic Education Research Journal

www.berj.mosuljournals.com

Molecular Diagnosis of the Pothos Plant *Epipremnum aureum* Cultivated in Nineveh Governorate for the First Time in Iraq

Shahad faris Ibrahim
Jihan Yahya Al-Hatem
Anwaar Fakhre ALtaee
College of Education for Girls Department of biology

Article Information

Article history:
Received: May 1.2024
Reviewer: June 6.2024
Accepted: June 9.2024

Keywords: *Epipremnum aureum, genetic mutations, molecular diagnosis*

Correspondence:

Abstract

In this study, the molecular genetic index of the plant pipremnum aureum was examined using the Specific-PCR technique. DNA fragments were amplified using the recommended Favor PrepTM (Genomic DNA Extraction Mini Kit) and amplified through Polymerase Chain Reaction. The molecular level detection of the Epipremnum aureum genome revealed that the sizes of the resulting bands matched the primer design (ITS1F:5:TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3) (ITS4R: 5:TCCTCCGCTTATTGATAGC-3), which are responsible for identifying the studied gene. The bands appeared during electrophoresis with a size of 473 base pairs. The nitrogen base sequences were entered into the NCBI-BLAST and MEGA 6.0 programs to determine their similarity to the existing and recorded genes in the Gene Bank. The results of the analysis showed a high similarity of 98.57 - 100% between the studied nucleotide sequences and the sequences recorded in the Gene Bank, with accession numbers (OP604476.1, PP297885.1). The genetic pattern tree indicated that they originated from countries far from Iraq and the regional area, namely the United States and South Korea. This study provides information for further researches on molecular genetic relationships within the Araceae family, as well as molecular mutations and breeding of new varieties.

ISSN: 1992 – 7452

التشخيص الجزيئي لنبات البوثس *Epipremnum aureum* المستزرع في محافظة نينوى لأول مرة في العراق

شهد فارس ابراهيم جهان يحيى الحاتم انوار فخري ذنون
كلية التربية للبنات قسم علوم الحياة

الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة المؤشر الوراثي الجزيئي للنبات المدروس البوثس *Epipremnum aureum* باستعمال تقنية تفاعل التضاعفي المتخصص Specific – PCR اذ تم مكاثرة قطع ال DNA باستعمال الكت الموصى به Favor Prep™ (Genomic DNA Extraction Mini Kit) وتضمينها من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction واظهرت نتيجة الكشف عند المستوى الجزيئي لجينوم اوراق نبات البوثس أن حجوم الحزم الناتجة كان مطابقاً لما جاء في تصميم زوج البوادئ (ITS_1F: 5:TCCGTAGGTGAACCTGCGG−3) (ITS_4R:5:TCCTCCGCTTATTGATAGC−3) المسؤول كمحدد عن وجود المورث قيد الدراسة وظهرت الحزم اثناء الترحيل الكهربائي بحجم ٤٧٣ زوج قاعدة , أدخلت تسلسلات القواعد النتروجينية في برنامج NCBI−BLAST وبرنامج MEGA 6.0 لبيان مدى تقاربها مع المورثات الموجودة والمسجلة في بنك الجينات Gene Bank . وأظهرت النتائج التحليل وجود تشابه كبير بنسبة ٩٨.٥٧ – ١٠٠ % بين تسلسلات النيوكليوتيدات قيد الدراسة والتسلسلات المسجلة في بنك الجينات ودخلت تحت رقم (OP604476.1 , PP297885.1) ومن المخطط الشجري للنمط الوراثي لوحظ انها كانت من بلدان بعيدة عن العراق والمنطقة الاقليمية والمتمثلة بالولايات المتحدة الامريكية وكوريا الجنوبية. قد توفر هذه الدراسة معلومات لدراسة أوسع للعلاقات الوراثية الجزيئية ضمن عائلة الأراكية، فضلاً عن الطفرات الجزيئية وتربية الأصناف الجديدة .

الكلمات المفتاحية: نبات البوثس، طفرات وراثية، التشخيص الجزيئي.

المقدمة

تعد دراسة نباتات الزينة ذات قيمة كبيرة وذلك لما لها من اهمية في تنقية الهواء من الملوثات وتستخدم بكثرة كديكورات للمنازل والاماكن العامة فهي تهدف لإنتاج بيئة صحية مستدامة (Samudro et al.,2022). يضم نبات *Epipremnum* خمسة عشر نوعا منها الصغيرة الى العملاقة واغلبها متسلقات وتعود جميع هذه النباتات العشبية دائمة الخضرة الى جنوب شرق اسيا (Meshram,Srivastava,2014) يعد نبات البوثس من نباتات التنسيق الداخلي المهمة اسمه العلمي *Epipremnum aureum* والذي يعود للعائلة Araceae (Das et al .,2016). وله عدة أسماء(الجُذيلة متسلقة، قلب عبد الوهاب) يتحمل مختلف الظروف البيئية ولا يحتاج الى عناية كثيرة، موطنه الأصلي جزر سليمان، وهو من نباتات الأصيص المعلقة إذ تتدلى فروعه بأوراقه الجميلة يستخدم بكثرة في المنازل والمكاتب مناسب للبيئة الجافة ، اوراقه

مدببة الأطراف تنتشر فيها نقاط وخطوط صفراء او كريمية يستعمل بمثابة منقي هواء طبيعي اذ يقلل من كمية الاوزون في البيئة ويزيل الملوثات مثل الفورمالديهايد والبنزين من الهواء الداخلي ., Hung et al (2016).ان التشخيص الجزيئي المختبري من التقنيات الحديثة المستخدمة لتحليل الوصمات الحيوية في الجينوم التي تسهل التعرف الدقيق على الأنواع النباتية بالإضافة الى التشخيص المورفولوجي، اذ ساعدت الدراسات الجزيئية Molecular studies في حل معظم المشاكل التصنيفية واعادة تصنيف الكثير من العائلات النباتية ووضعها في موقعها الصحيح، وتمكن الباحثون الذين عزلوا المادة الوراثية للنباتات من ايجاد العلاقة التطورية بين النباتات عبر الزمان وتعرف المهتمين بالتاريخ التطوري للنباتات على الاختلافات التي طرأت عليها في الماضي والحاضر، فضلا عن ذلك تم الكشف عن هوية الكثير من النباتات واعادة توصيفها.وضح Mohamed et al (2016) ان الخلية النباتية تقوم بمضاعفة كمية الحمض النووي عند انقسام الخلية بشكل تلقائي و بشكل سريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال النسخ، و تبلغ سرعة النسخ والمضاعفة إلى ١٠٠٠ قاعدة نيتروجينية بالثانية داخل النظام الحيوي وهي تحدث في الخلية في وقت التكاثر والانقسام فقط، ومع التطور في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحمض النووي (DNA) بشكل أساسي ، استدعى ذلك العلماء على أن يبحثوا عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحمض النووي (DNA) بشكل كبير، خارج النظام الحيوي (الخلية)، ووجد من خلال البحوث ان تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) هو عبارة عن تضخيم جزيئة واحدة أو بضع نسخ من قطعة من الحمض النووي عبر عدة أوامر، لتوليد آلاف الملايين من النسخ من تسلسل الحمض النووي بصفة خاصة، وهي تقنية لا يمكن الغنى عنها في كثير من الأحيان تستخدم في مختبرات البحوث مجموعة متنوعة من التطبيقات، ان الهدف من استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) هو لتضخيم عدد نسخ الجين للوصول الى عدد معين من النسخ لاستعماله كقالب لتكثير وتضاعف DNA .

الهدف من البحث

يهدف البحث الى التشخيص الجزيئي لنبات *E. aureum* المستزرع في محافظة نينوى ومعرفة الموقع التصنيفي له.

المواد وطرائق العمل

جمعت العينات الورقية للنوع المدروس من محافظة نينوى خلال شهر كانون الاول وأخذت العينات المدروسة من النموات الورقية الحديثة النمو وبعمر (4_3) أسابيع والخالية من الاصابات المرضية والحشرية، وتم عزل الـ DNA الجيني، وتم تنفيذ هذه الدراسة في مختبرات التقنيات الاحيائية في شركة جسر المسيب /بغداد

/العراق. تم في هذا المحور اعتماد طرق التوصيف والتشخيص الجزيئي بالاعتماد على الحمض النووي DNA للنوع المدروس *E. aureum* لأجل تصنيفه، وللتأكيد على التشخيص المظهري والتشريحي والكيميائي المدروسين تم توصيف النبات عن طريق عزل الحامض النووي وتنقيته بالاعتماد على العدة **(i– Taq TMDNAPOLY merase)**

تم استخلاص الحمض النووي من النبات المدروس *E. aureum* باستعمال الكت الموصى به (Favor Prep^{TM} Genomic DNA Extraction Mini Kit) **وفقا لما جاء في تعليمات الشركة المصنعة الكورية**

وكما يلي :

١. طحن 50 ملغم من الوزن الرطب.
٢. تم اضافة 400 مايكروليتر من FAPG1 Buffer و 8 مايكروليتر من RNase و دوامة (vortex) بقوة ثم حضن في درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقتين ثم عند 65 درجة مئوية لمدة 10 الى 20 دقيقة وتم القلب 2_3 مرات اثناء التحضين.
٣. تم اضافة 130 مايكروليتر من FAPG2 Buffer الى الخليط. دوامة (vortex) للخلط جيدا وحضن الخليط على الجليد لمدة 5 دقائق.
٤. تم ضع عمود الفلتر في انبوب التجميع ونقل الخليط بالكامل من الخطوة السابقة الى عمود الفلتر. و اجريه الطرد المركزي لعمود التصفية بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 3 دقائق.
٥. نقلت المحللة الموضحة (الطاف) من انبوب التجميع الى انبوب الطرد المركزي الصغير الجديد.
٦. اضيف 1.5 حجم من FAPG3 Buffer (يضاف الايثانول) الى المحللة الموضحة وخلط جيدا عن طريق الانابيب.
٧. وضع انبوب FAPG في انبوب تجميع جديد و نقل ما يصل الى 750 مايكروليتر من خليط العينة بعناية الى عمود FAPG.اجريه الطرد المركزي Centrifuge بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 1 دقيقة , تم التخلص من التدفق ثم وضع عمود FAPG مرة اخرى في انبوب التجميع. كررت الخطوة 7 لبقية خليط العينة.
٨. اضفت 400 مايكروليتر W1 Buffer (تم اضافة الايثانول) الى عمود FAPG. اجريه الطرد المركزي بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 30ثانية. تخلص من التدفق ثم ضع عمود FAPG مرة اخرى في انبوب التجميع.

٩. اضفت 650 مايكروليتر من محلول الغسيل العازل (اضافة الايثانول) الى عمود FAPG . اجريه الطرد المركزي بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 30 ثانية. تم التخلص من التدفق ثم وضعت عمود FAPG مرة اخرى في انبوب التجميع. كررت الخطوة 9 لغسل اخر.

١٠. اجريه الطرد المركزي بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 3 دقائق اضافية لتجفيف عمود FAPG بالكامل. سوف نتجنب في هذه الخطوة السائل المتبقي لمنع التفاعلات الانزيمية اللاحقة.

١١. جمع عمود FAPG مع انبوب الشطف. واضفت 100 مايكروليتر من محلول الشطف المسخن مسبقا الى مركز الغشاء لعمود FAPG. الوقوف على عمود FAPG لمدة 1 دقيقة في درجة حرارة الغرفة. للحصول على شطف فعال. نتأكد من توزيع محلول الشطف على مركز الغشاء ويتم امتصاصه بالكامل.

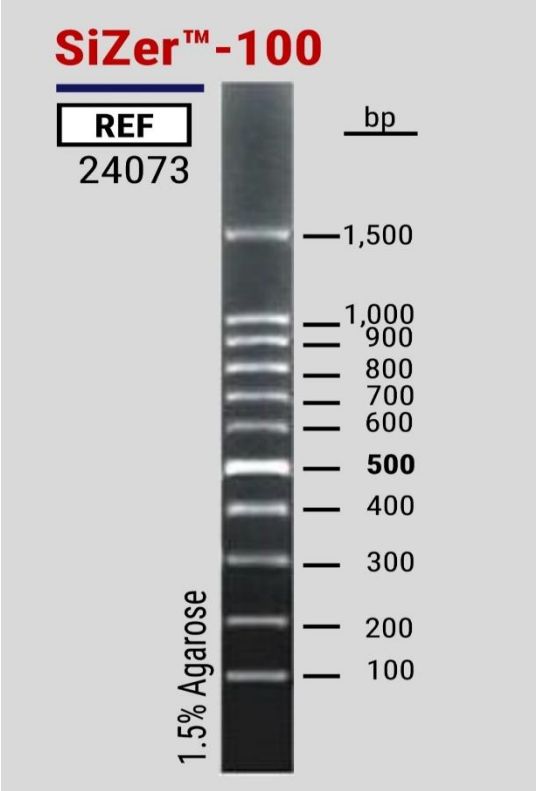
١٢. اجريه الطرد المركزي بأقصى سرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة لاستخلاص الحمض النووي المنقى.

تحديد تركيز الحمض النووي والترحيل الكهربائي الهلامي لتحليل جودة الحمض النووي:

تم تحضير محلول الاكاروز بإذابة 1 غرام من مسحوق الاكاروز في 100 مل من 1x TBE في دورق سعة 100مل. تم اذابة الاكاروز في كتلة ساخنة حتى يصبح المحلول صافيا.

تم تبريد محلول الاكاروز الى حوالي ($50- 55^0C$) تدوير الدورق لتبريده بالتساوي.

اضيفت صبغة الايثيديوم بروماید (3 مايكروليتر) الى الجل الدافئ ثم اغلقت أطراف صينية الصب بطبقتين من الشريط. ثم وضعت الامشاط في صينية صب الجل. ثم سكب محلول الاكاروز المذاب في صينية صب الجل. وتم ترك الاكاروز ليتصلب في درجة حرارة الغرفة، المشط، بعدها تم سحبه بعناية وتمت ازالة الشريط. ثم وضع الجل على غرفة الترحيل الكهربائي المملوءة بعازل 1x TBE، وبعدها تم خلط عينات الحمض النووي (5 مايكروليتر) مع عازل تحميل الحمض النووي (3 مايكروليتر) وتحميلها في هلام الاكاروز. وتم الانتهاء من عملية الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز عند جهد 70 فولت, 65امبير لمدة ساعة واحدة. تم ملاحظة الحمض النووي من خلال مشاهدته تحت جهاز اضاءة UV- transilluminator (Viber lourmat/ france) عند الطول الموجي 302 نانوميتر.



الشكل (1) الترحيل الهلامي **Gel electrophoresis** لاستخراج الحمض النووي الجينومي DNA من النبات.

تقدير الاحجام الجزيئية للدنا (DNA):

قدرت الاحجام الجزيئية للدنا اعتمادا على اجراء عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز 1.5%. باستخدام دليل حجمي يمثل قطع من الدنا حجمها الجزيئي معلوم متمثلة بالدلائل الحجمية Markers . ان المسافة التي قطعتها هذه الجزيئات في الهلام تناسبت عكسيا مع احجامها الجزيئية وقد استعمل الدليل Sizer DNA Markers (intron) اذ اعطى هذا الدليل في هلام الاكاروز حزم ذات اوزان جزيئية معروفة وكما مبين بالشكل رقم (١) .

البادئات المستخدمة في التفاعل:

تم تجفيف البادئات بالتجميد، وتم اذابتها بالماء المقطر منزوع الايونات ddH_2O الحر لإعطاء تركيز قدره ١٠٠ بيكومول / ميكروليتر كمحلول مخزون والاحتفاظ بالمخزون عند حرارة −٢٠مْ ، لتحضير محلول تركيزه ١٠ بيكومول / ميكروليتر كعامل تمهيدي مغلق .سحب ١٠ ميكروليتر من محلول المخزن واضيف الى ٩٠ ميكروليتر من الماء المنزوع الايونات ddH_2O للوصول الى الحجم النهائي ١٠٠ ميكروليتر. تم الاختبار

اعتمادا على تعليمات شركة التقنيات الكندية المتكاملة Integrated DNA Technologies Company .Canaola(IDT)

اهم البادئات المستخدمة في الدراسة وكما مبينة في الجدول 1وكما يلي:

الجدول(١) تسلسل البادئات المستخدمة في الدراسة.

Primer	Sequence	Primer sequence	Tm (°C)	GC%	Size of Product (bp)
18S	F	5′– CGGGTGACGGAGAATTAGGG–3′	59.90 %	60.00%	473 bp
	R	5′ GGACGGAATCCTGTGACGTT–3′	60.04 %	55.00%	

تم اجراء تضخيم PCR بحجم اجمالي قدره 25 ميكرولتير يحتوي على 1.5ميكرولتير من الحمض النووي و5 ميكرولتير Intron(Pre mix PCR) كوري المنشا ،1ميكرولتير من كل بادئ ثم تم اضافة الماء المقطر الى الانبوب للوصول الى الحجم الكلي من ٢٥ مايكرولتير . اجريت ظروف التدوير الحراري وفق ماجاء به وكما بين في الجدول تم مضاعفة الحامض النووي باستخدام خطوات وظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR الانية كما مبينة في الجدول (٣)تم عمل مسخ اولي Initial denaturation للحامض النووي (DNA)لمدة 5دقائق في درجة حرارة 95 مْ متبوعة ب35 دورة مؤلفة من عملية مسخ نهائي (Denaturation–2) لمدة 45 ثانية في درجة حرارة 95 مْ ، ثم حدوث الارتباط البوادئ (annealing) لمدة 1 ثانية في درجة حرارة 53 مْ ، ومن ثم استطالة اولية لبادئ الناتج الحامض النووي المضاعف لمدة ثانية في درجة حرارة 72مْ ، واخيرا انهاء تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بخطوة الاستطالة النهائية خمس ثواني في درجة حرارة 72مْ.

الجدول (٢) مكونات تفاعل PCR.

Component	25 µL (Final volume)
Taq PCR PreMix	5µl
Forward primer	10 picomols/µl (1 µl)
Reverse primer	10 picomols/µl (1 µl)
DNA	1.5µl
Distill water	16.5 µl

الجدول (٣) البرنامج الخاص بالتفاعل المتسلسل التضاعفي المتخصص.

No.	Phase	Tm (°C)	Time	No. of cycle
1-	Initial Denaturation	95°C	5 min	1 cycle
2-	Denaturation -2	95°C	Sec45	35 cycle
3-	Annealing	56°C	1 min	
4-	Extension-1	72°C	1 min	
5-	Extension -2	72°C	5 min.	1 cycle

للكشف عن تسلسل القواعد النتروجينية وتعيين المخطط التشجري

(تحليل التتابع النيوكليوتيدي Sequencing Analysis) يعد الحصول على نتائج الترحيل الكهربائي من خلال نتائج تضاعف الجين DNA ،وتم تحديد تتابعات النيوكليوتيدات للعزلة بإرسال الحزم الناتجة من ناتج من تفاعل البلمرة المتسلسل الى الشركة الكورية Biotechnology ، وتتم باستخدام جهاز (Appliced Biosystem DNA Secuencer)، وتم مقارنة النتائج من خلال الشبكة العنكبوتية باستخدام اداة البحث Basic Aligmmente Search Tool(BLAST)، اذ تم تحديد تسلسل القواعد النتروجينية لحزم الحمض النووي لمورثات النوع المدروس من قبل المركز الوطني لمعلومات التقنات الحيوية (NCBI) (National centre for biotechnology information) من خلال الرابط:

http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi

وتم اجراء التطابق لتتابعات النيوكليوتيدات للنوع المدروس حسب التطابق في قاعدة البيانات، بعد الانتهاء من التشخيص تم تسجيل النباتات في البنك الوراثي واعطاء رقم الانضمام العالمي، ثم رسم شجرة التطور Phyiogenetic Tree باستعمال برنامج Mega اعتماد على تسلسل النيوكليوتيدات للعزلات المسجلة في بنك الجينات Gene Bank .

اعتمدت طُرق التوصيف والتشخيص الجزيئي للتأكيد على التشخيص المظهري والتشخيص التشريحي لنبات *E. aureum* فتتم توصيف النبات إلى مستوى النوع والسلالة بالاعتماد على تعيين تسلسل القواعد النيتروجينية، واعتمدت طريقة Sanaco و Leong (١٩٨٩) للعمل وتم حساب تركيز الـDNA الجينومي بالاعتماد على (Rapley,2000،Freifelder,1983).

النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج التشخيص الجزيئي للنوع المدروس *E. aureum* باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) من خلال استعمال زوج البادئات المتخصصة الكشف عن الجينات في منطقة فاصل النسخ الداخلي ITs spacer transcribed Internal وهي البادئ الامامي (ITS_1F:

(5:TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3) والبـــــــــــادئ العكســـــــــــي (ITS$_4$R:5:TCCTCCGCTTATTGATAGC-3) واظهرت نتائج تحلل الترحيل الكهربائي الشكل (2) باستعمال هلام الاكاروز بتركيز 1.5% ، اذ عرض للأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 254 نانوميتر بواسطة trasIluminator UV للكشف عن حزم ال DNA كان مطابقا لما جاء في تصميم البادئ المسؤول كمحدد لتضخيم المورثات ITs$_1$ وITs$_4$ وظهرت الحزم اثناء الترحيل بحجم 473 زوج قاعدة .

الشكل (2) : ناتج التضخيم للموروث ITs$_1$ وITs$_4$ الحزمة (1) تمثل النتيجة الموجبة عند (الزوج القاعدي) للنوع المدروس *E. aureum* المقياس الجزيئي 473 زوجاً قاعدياً.

يوضح الشكل (2) ناتج الحمض النووي (473 bp–PCRproduct) باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) من النوع المدروس باستخدام زوج البوادئ ITs$_1$ وITs$_4$. علما ان M تمثل سلم الحامض النووي (Molecular – weight size marker) بعدد أزواج القواعد النتروجينية (bp) وبأحجام مثبت كل منها على الجانب الأيسر من الشكل ، ويمثل المسار (1) النتيجة الموجبة لوجود الحزم الممثلة للنوع المدروس.

الجدول (٤) تحليل تسلسلات القواعد النتروجينية لقطع DNA للمورث (ITs_1 وITs_4) نبات *Epipremnum aureum L.*

Gene : 18S ribosomal RNA gene							
العينة	نوع الاستبدال	الموقع	القاعدة النتروجينية	جنس النبات	مقارنة التسلسلات مع التسلسلات في NCBI	مقارنة التسلسلات مع التسلسلات في NCBI	نسبة التطابق
1	**Transvertion**	568	G\C	***Epipremnum aureum***	**ID: OP604476.1**	**ID: PP297885.1**	**99%**
	Transition	685	A\G				
	Transvertion	686	A\C				
	Transvertion	730	G\C				
	Transition	814	T\C				

وبين الجدول (٤) نتائج مقارنة تسلسلات القواعد النتروجينية في DNA نبات البوش وبيان مدى تقاربها مع التسلسلات الموجودة والمسجلة في بنك الجينات , إذ اظهرت هذه النتائج وجود تشابه بنسبة ٩٩٪ بين هذه التسلسلات وتسلسلات نبات البوش المسجلة في بنك الجينات بالرقم OP604476.1 و PP297885.1 ولوحظ وجود ٥ مناطق للانتقال بين القواعد النتروجينية للنوع المدروس مما تسبب في حدوث طفرات من نوع الانتقالية واستبدال للقواعد النتروجينية عند المواقع (٥٦٨, ٦٨٥, ٦٨٦, ٧٣٠, ٨١٤) وكانت الطفرات مؤثرة على الشفرات الوراثية , ومن ثُمَ على الاحماض الأمينية المشفرة وكما مبين في الشكل (٣) وهذه النتائج تتفق مع (Meshram and Srivastava ,2014) من أن التحري الجزيئي لمحاذاة تسلسل القواعد النتروجينية لمورثات نبات البوش أثبتت قدرتها على احداث طفرات متأثرة بالبيئة وإن الأقارب البرية لنفس النوع المدروس لديها القدرة على تحسين صفة التحمل للإجهادات البيئية.

Sequence ID: OP604476.1 Length: 2189 Number of Matches: 1

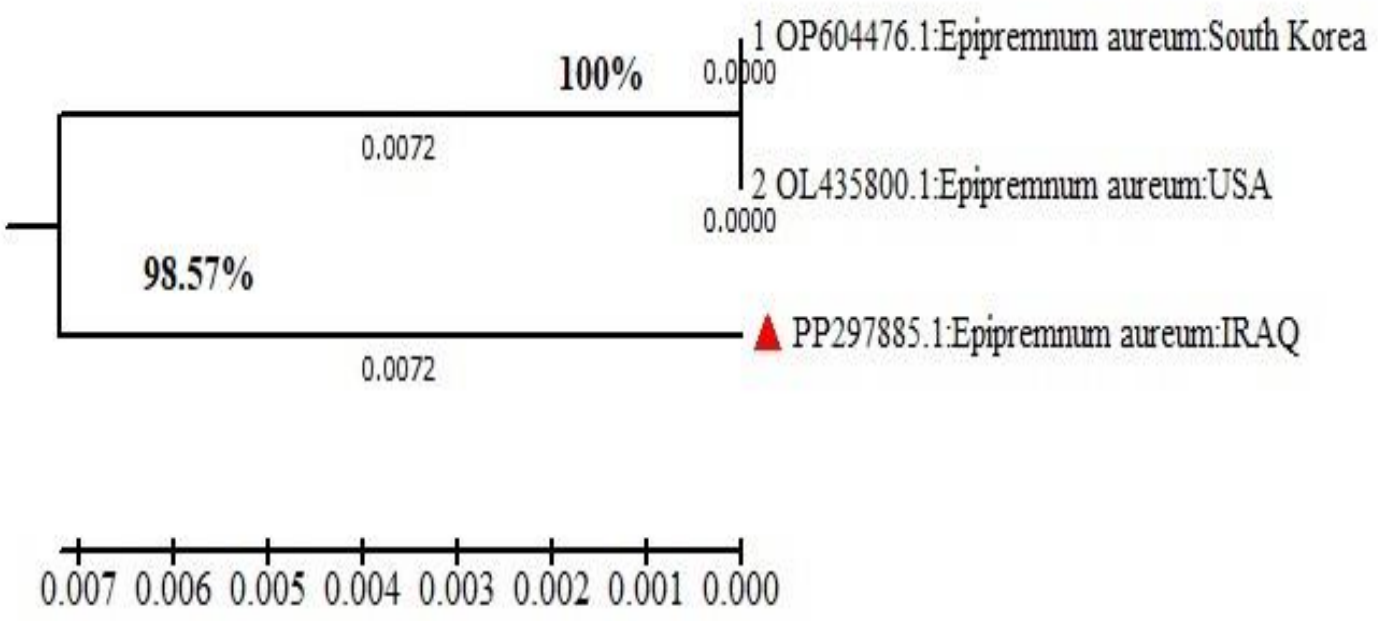
Range 1: 501 to 850 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
619 bits(335)	5e−179	345/350(99%)	0/350(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    CTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGAC  60
Sbjct  501  ............................................................  560
Query  61   ACGGGGACGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGGCTCTCCGAGTCTGGTAATTGGAATG  120
Sbjct  561  .......G.....................................................  620
Query  121  AGTACAATCTAAATCCCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCG  180
Sbjct  621  ............................................................  680
Query  181  CGGTGCTTCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAACCTCGCAGTCG  240
Sbjct  681  ....AA.....................................G..........  740
Query  241  GACCTTGGGTTGGGCCGGCCGGTCGGCCTCTCGGCGTGCACCGGCCGTCTCGTCCCTACT  300
Sbjct  741  ............................................................  800
Query  301  GCCGGCGATGCGCCCCTGGCCTTGACTGGCCGGGTCGTGCCTCCGGCGCC  350
Sbjct  801  ............T................................  850
```

الشكل (3) مقارنة تتابع القواعد النيتروجينية للمورث (ITs_1 وITs_4) للنوع *E. aureum* تسلسل (sbjct) القواعد النيتروجينية للعينات المثبتة مسبقا في الجينات العالمي VCBI, NCBI

اما عند تحليل الشجرة الوراثية الشكل (4) للنوع *E. aureum* والتي توضح مستوى التقارب على المستوى الجيني اذ كان التقارب كبيرا بين النوع المدروس (عزلة العراق) والمسجلة بالرقم **ID:** PP297885.1 وكانت اكثر تقاربا مع كلا من العزلة الكورية تحت رقم انضمام **ID:** OP604476 إذ بلغت نسبة التطابق 100% في حين بلغت نسبة التطابق مع العزلة الامريكية ذي الرقم **ID:** OL435800 والتي بلغت نسبة التطابق بينهما 98.57% . وهذه النتائج تطابق ما وجده (Cheng *et al*., 2006 ؛ HUNG and XIE ., 2009) مما يشير الى التنوع الوراثي الحيوي وإن اصناف البوش القياسية المسجلة في المركز الوطني لمعلومات التقانات الاحيائية (NCBI) كانت من بلدان بعيدة عن العراق والمنطقة الاقليمية بشكل عام.



الشكل (4) : مخطط الشجرة الوراثية للنوع *E. helioscopia* المعتمد من قبل (NCBI)

المصادر

Das, S.K.; Sengupta, P.; Mustapha, M.S.; Sarker, M.R. An Experimental Evaluation of Adaptogenic Potential of Standardized *Epipremnum aureum* Leaf Extract. J. Pharm. Bioallied Sci. 2016, 9, 88–9 .

Gheng, Y.J., Meng, H.J., Guo, W.W., Deng, X.X,: Univerrsal chloroplast primer primer pairs for simple sequence repeat analysis in diverse genera of fruit corps. J. hort. Sci. Biotechnol.81: 132-138,2006.

HUNG, C.Y., and XIE, J.H.(2009) A comparison of plants regenerated from a variegated *Epipremnum aureum*. Biologia Plantrum 53(4):610-616.

Hung, C.Y.; Qiu, J.; Sun, Y.H.; Chen, J.J.; Kittur, F.S.; Henny, R.J.; Jin, G.L.; Fan, L.J.; Xie, J.H.(2016) Gibberellin deficiency is responsible for shy-flowering nature of *Epipremnum aureum*. Sci. Rep, 6, 28598.

Meshram A, Srivastava N (2014) Molecular and physiological role of *Epipremnum aureum* , International Journal of Green Pharmac.

Meshram, A,and Srivastava, N.(2014) Molecular and physiological role of *Epipremnum aureum*. Int J Green Pharm;8:73-6.

Mohamed, G.I.A.; A.M. Zaher ; A. A. Ali2; Hanaa M. Saeyd and Sabrin R. Mohamed (2016) Authentication of E. peplus L. Family Euphorbiaceae Growing in Egypt Using Finger Printing . Genetic Department , Faculty of Agriculture, Assiut University ,Assiut-Egypt- ,47(5) ,72-82.

Samudro H., Samudro G., Mankoedihardjo S (2022) Overview of Indoor Plants: Phytoarchitecture as A Building Health Platform , Journal of Design and Built Environment, Vol 22 (3), 69-87, Dec 2022.

Sneath P.H.A. and Sokal R.R. (1973). *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco.

Tamura K., Nei M., and Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (*USA*) 101:11030-11035.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*30: 2725-2729.