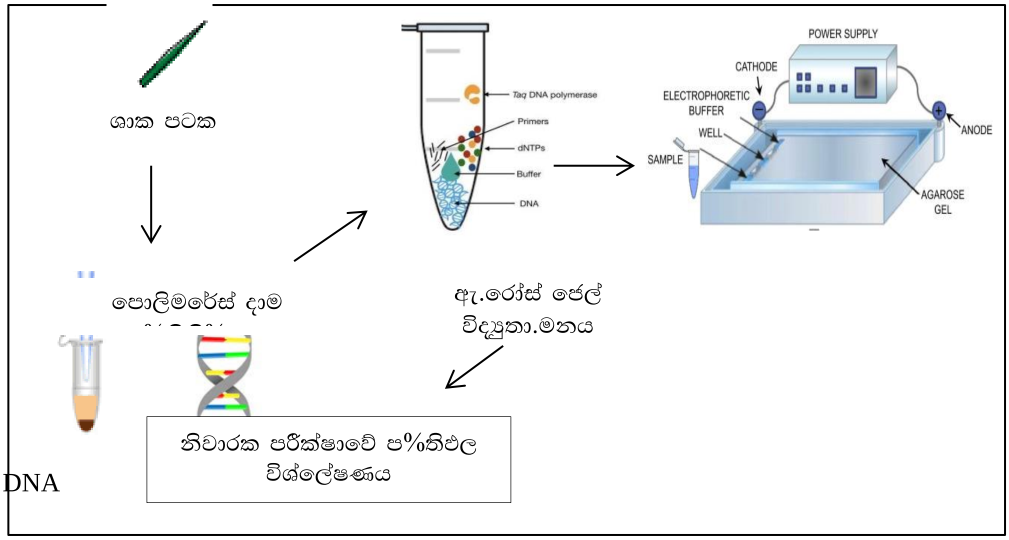
ශ්‍රී ලංකාවේ මෙනේරි (*Panicum miliaceum* L.) දර්ශ වල අණුක විවිධත්වය විශ්ලේෂණය සඳහා RAPD ප්‍රයිමර් වල නිවාරක පරීක්ෂාවක් (Screening) සිදු කිරීම

එස්. ඒ. ඒ. උදාරි සහ පී.ඩබ්.එම්. තරින්දි

කෘෂි විද්‍යා පීඨය, ශ්‍රී ලංකා සබරගමුව විශ්වවිද්‍යාලය

udariarunodya@gmail.com 0714582848

රූපමය සංක්ෂිප්තය (Graphical Abstract)



නිස්සාරිත DNA

හැඳින්වීම (Introduction)

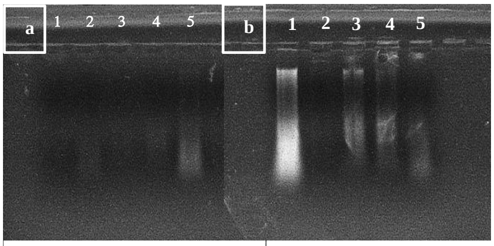
මෙනේරි (*Panicum miliaceum* L.) යනු ප්‍රෝටීන්, විටමින් සහ ඛනිජ ලවණවලින් පොහොසත් සහ ග්ලයිසමික් දර්ශකය අඩු *Poaceae* පවුලේ ඌන උපයෝගී ධාන්‍ය බෝගයකි. ආහාර නිෂ්පාදනය, ජල හිඟය, සහ මන්දපෝෂණය වැනි ගෝලීය ගැටළු සඳහා විසඳුම් ලබා දීමට මෙනේරි වලට හැකියාව ඇත. මෙනේරි වල බෝග වැඩිදියුණු කිරීම සඳහා එහි ජාන විවිධත්වය පිළිබඳ තොරතුරු අවශ්‍ය වේ. මෙහිදී ශාක අභිජනනය පසුගාමී කරන ප්‍රධාන ලක්ෂණය එහි තෝරා ගැනීමේ ක්‍රියාවලියයි. එම නිසා විශේෂ හඳුනාගැනීමටත්, වැදගත් රූපාණු දර්ශී ලක්ෂණ හඳුනාගැනීමටත් අණුක ජීව විද්‍යාත්මක විශ්ලේෂණයන්හි දී නිවාරක පරීක්ෂාවන් අත්‍යන්තයෙන් වැදගත් වේ. පහත අධ්‍යයනයේ දී මෙනේරි ප්‍රභේද 5ක් විශ්ලේෂණයට ලක් කරන ලදී.

පර්යේෂන ක්‍රමවේදය (Methodology)

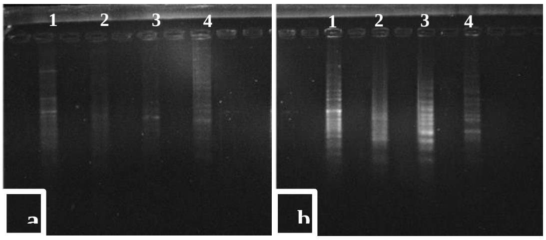
සති 2 ක් වයසැති, පත්‍ර 2-3 ක් සහිත අවස්ථාවේ පසුවන මෙනේරි පැළැටි වල ළපටි පත්‍ර DNA නිස්සාරණය සඳහා යොදාගන්නා ලදී. එකී ළපටි පත්‍ර සාම්පල ක්‍රියාපටිපාටීන් 2 ක් යටතේ DNA නිස්සාරණයට භාජනය විය. පළමු ප්‍රටෝකෝලයට (Protocol I - Mace, Buhariwalla and Crouch, 2003) අදාල ව ළපටි පත්‍ර සාම්පල 20-30mg ක් ද, දෙවන ප්‍රටෝකෝලයට (Protocol II - Doyle, 1991) අදාල ව 0.45-1g ක පමණ සාම්පලයක් ද CTAB නිස්සාරක ස්වාරක්ෂකය හමුවේ DNA නිස්සාරණයට ලක් කෙරුණි. මෙසේ නිස්සාරිත DNA සාම්පල යොදා ගනිමින් ඇගරෝස් ජෙල් විද්‍යුතාගමනය ඔස්සේ DNA ප්‍රමාණාත්මක විශ්ලේෂණයකට බඳුන් කරන ලදී. ඉහලම යෝග්‍යතාවයකින් යුතු ප්‍රයිමර් හඳුනාගැනීම සඳහා නිස්සාරිත DNA පොලිමරේස් දාම ප්‍රතික්‍රියාව (Polymerase Chain Reaction – PCR) මඟින් බහුගුණනය කරනු ලැබිණි. මෙහිදී නිස්සාරිත DNA සමඟ RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ප්‍රයිමර්, dNTPs, සහසාධක ($MgCl_2$), ස්වාරක්ෂක (buffer), සහ DNA පොලිමරේස් එන්සයිමය සමඟ මෙම සාම්පල PCR බහුගුණන චක්‍ර 35 ක් සඳහා යොමු කරනු ලැබිණි.

ප්‍රතිඵල විශ්ලේෂණය (Results and Discussion)

මෙහිදී ඇගරෝස් ජෙල් විද්‍යුතගමන ක්‍රියාපටිපාටියෙන් ලැබූ ප්‍රතිඵල විශ්ලේෂණය මඟින් වඩා කාර්යක්ෂම සහ ගුණාත්මක DNA නියැදියක් ලබාදෙන ප්‍රොටොකෝලය හඳුනාගැනිණි. ප්‍රවේණිදර්ශ 5 (L1 (1), L11 (2), L12 (3), L14 (4), සහ L25 (5)) කට අදාල ව ක්‍රියාපටිපාටින් දෙකෙහි දෘශ්‍ය නිරීක්ෂණයන්ට අනුකූල ව ප්‍රොටොකෝල II හි ප්‍රොටොකෝල I ට වඩා ප්‍රමුඛ දීප්තියක් දැක ගන්නට ලැබිණි.



ප්‍රොටොකෝල I ප්‍රොටොකෝල II



නිවාරක පරීක්ෂාව a) L1 b) L12

සාමාන්‍යයෙන බොහො අවසථාවලදද, ප්‍රදීපනය වැඩි වන්නේ DNA නියැදියේ සාන්ද්‍රණයේ වැඩි වීමක් තිබෙන බැවිනි (Scobeyeva *et al.*, 2018). එය සැලකිල්ලට ගනිමින් මෙහි දී ප්‍රොටොකෝල II හි වැඩි DNA සාන්ද්‍රණයක් ඇති බව පෙනේ. නිවාරක පරීක්ෂාවේ දී RAPD ප්‍රයිමර් 4 (OPA 16 (1), 77SP10G8 (2), 83SP10G14 (3), සහ 87SP10T18 (4)) ක් ප්‍රවේණිදර්ශ 2 (L1, සහ L12) ක් සම. පරීක්ෂාවට ලක් කෙරිණි. මෙහි දී පෙනී ගියේ, සංසන්දනාත්මක ප්‍රතිඵල වලට අනුව OPA 16 (1), 83SP10G14 (3), සහ 87SP10T18 (4) මඟින් ගුණාත්මක සහ පැහැදිලි අනුක්‍රමික

රටාවක් ලබා දෙන අතර, 77SP10G8 (2) මඟින් එකී අනුක්‍රමික රටාවක් පැහැදිලි ව නොපෙන්වයි.

<u>නිගමන (Conclutions)</u>

ඉහල ගුණාත්මක බවකින් යුතු DNA දෙවෙනි ප්‍රොටොකෝලය (Doyle, 1991) මෙනේරි වල DNA නිස්සාරණයට වඩාත් යෝග්‍ය වේ. මෙනේරි විශේෂ අතර බහුරූපීතාව (Polymorphism) හඳුනාගැනීම සඳහා OPA 16, 83SP10G14, සහ 87SP10T18 යන ප්‍රයිමර වඩා උචිත වන අතර 77SP10G8 ඒ සඳහා යෝග්‍ය නොවේ.

<u>පරිශීලන කෘතs (References)</u>

Doyle, J. (1991) 'CTAB total DNA Isolation'.

Mace, E. S., Buhariwalla, H. K. and Crouch, J. H. (2003) 'A high-throughput DNA extraction protocol for tropical molecular breeding programs', *Plant Molecular Biology Reporter*, (December). doi: 10.1007/BF02772596.

Scobeyeva, V. A. *et al.* (2018) 'Comparison of Some Plant DNA Extraction Methods', 54(5), pp. 576–586. doi: 10.1134/S1022795418050095.