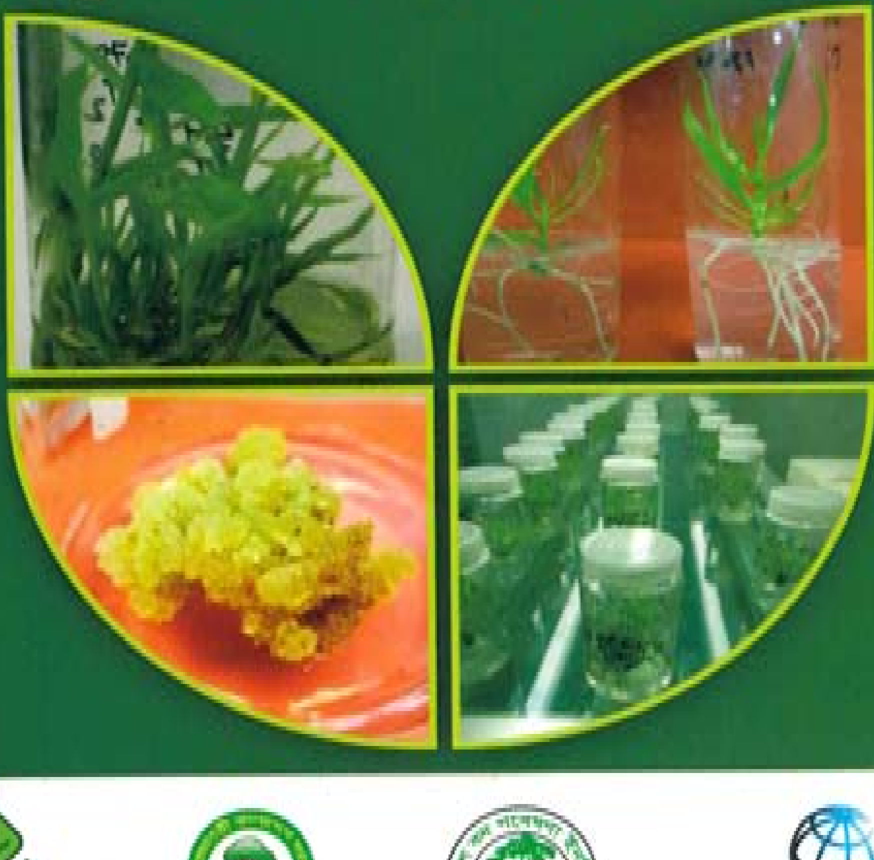
প্রশিক্ষণ ম্যানুয়াল

উদ্ভিদ কোষ আবাদ কৌশল



THE WORLD BANK

বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট
ষোলশহর, চট্টগ্রাম
পরিবেশ, বন ও জলবায়ু পরিবর্তন মন্ত্রণালয়
জুন, ২০২১

প্রশিক্ষণ ম্যানুয়াল

উদ্ভিদ কোষ আবাদ কৌশল

বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট
ষোলশহর, চট্টগ্রাম
পরিবেশ, বন ও জলবায়ু পরিবর্তন মন্ত্রণালয়
জুন, ২০২১

প্রকাশকাল
জুন, ২০২১

প্রকাশক/ প্রকাশনায়
বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট

গ্রন্থস্বত্ব
বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট

রচনায়
ড. মোঃ মাহবুবুর রহমান
ড. ওয়াহিদা পারভীন
নুসরাত সুলতানা
জহিরুল ইসলাম
সাইফুল আলম মোঃ তারেক
সিলভিকালচার জেনেটিক্স বিভাগ

অর্থায়নে
টেকসই বন ও জীবিকা (সুফল) প্রকল্প
বাংলাদেশ বন অধিদপ্তর, বন ভবন
আগারগাঁও, ঢাকা।

মুদ্রণ ও প্রচ্ছদ । তিশা এন্টারপ্রাইজ, ৩২ নারিন্দা, ঢাকা-১১০০।
ফোন । ০১৮১৯-২৯৯৪৩০।

সতর্কতা
সমস্ত অধিকার সংরক্ষিত, যথাযথ কর্তৃপক্ষের লিখিত অনুমতি ছাড়া এই বই বা এর কোন অংশ, কোন ফর্ম বা কোন উপায়ে, ইলেকট্রনিক বা যান্ত্রিক মাধ্যমে, ফটোকপি, রেকর্ডিং বা কোনও তথ্য ভান্ডারে সংরক্ষণ করা এবং পুনরুৎপাদন পদ্ধতি যা বর্তমানে জানা নেই বা যা ভবিষ্যতে আবিষ্কার হতে পারে সহ যেকোন মাধ্যমে পুনরুৎপাদন করা যাবে না।

বাণী

বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট (বিএফআরআই) দেশের বন ও বনজ সম্পদের উন্নয়ন ও সুষ্ঠু ব্যবহার বিষয়ক গবেষণার একমাত্র জাতীয় প্রতিষ্ঠান। বনজ সম্পদের সুষ্ঠু ও বিজ্ঞান সম্মত ব্যবহার বিষয়ক প্রযুক্তি উদ্ভাবনের লক্ষ্যে ১৯৫৫ সালে "ফরেস্ট প্রোডাক্টস ল্যাবরেটরি" নামে প্রতিষ্ঠানটির পথ চলা শুরু হয়। পরবর্তীতে ১৯৬৮ সালে বনজ সম্পদের উন্নয়ন ও ব্যবস্থাপনা সংক্রান্ত গবেষণা শুরু করার মাধ্যমে এটি একটি পূর্ণাঙ্গ গবেষণা প্রতিষ্ঠানে রূপান্তরিত হয়। বিএফআরআই এর মূল লক্ষ্য হলো দেশের বনজ সম্পদের উৎপাদন বৃদ্ধি, সঠিক ব্যবস্থাপনা এবং সুষ্ঠু ব্যবহার নিশ্চিতকরণ এবং উদ্ভাবিত প্রযুক্তি সমূহ ভোক্তা পর্যায়ে সম্প্রসারণ।

বাংলাদেশ বন গবেষণ ইনস্টিটিউট এর গবেষণা কার্যক্রম বন ব্যবস্থাপনা ও বনজ সম্পদ উইং এর আওতায় ১৭টি গবেষণা বিভাগ, ০১টি শাখা এবং ২২টি ফিল্ড স্টেশনের মাধ্যমে পরিচালিত হচ্ছে। অভীষ্ট লক্ষ্য অর্জনে উন্নত জাত ও গুণগত মানসম্পন্ন প্লান্টিং ম্যাটেরিয়াল উৎপাদন, বাঁশ, বেত, পাটিপাতা ও অন্যান্য অকাষ্ঠল বনজ সম্পদ ব্যবস্থাপনা, সামাজিক বনায়ন ও সুষ্ঠু খামার ব্যবস্থাপনা পদ্ধতি, বৃক্ষ প্রজনন ও উন্নয়ন, বন ব্যবস্থাপনা ও বনবাগান উত্তোলন পদ্ধতি, জীব বৈচিত্র্য সংরক্ষণ, বনজ সম্পদের ইনভেন্টরি, বৃদ্ধি এবং উৎপাদন হার নিরূপণ, বন মৃত্তিকা সংরক্ষণ ও ওয়াটার শেড ব্যবস্থাপনা, বনব্যাধি ও কীট-পতঙ্গ ব্যবস্থাপনা, বনজ সম্পদের ভৌত ও রাসায়নিক ব্যবহার এবং বিভিন্ন পণ্য উৎপাদন ও উদ্ভাবন বিষয়ে প্রতিষ্ঠানটি গবেষণা পরিচালনা করছে। প্রতিষ্ঠানটির উদ্ভাবিত গুরুত্বপূর্ণ প্রযুক্তি সমূহ মাঠ পর্যায়ে বিভিন্ন ভোক্তা সংস্থাসহ ব্যক্তি পর্যায়ে ব্যবহৃত হচ্ছে এবং প্রযুক্তি সমূহ সম্প্রসারণে বিভিন্ন সংস্থার সাথে যৌথভাবে কার্যক্রম চলমান রয়েছে। এরই ধারাবাহিকতায় বিএফআরআই, বন অধিদপ্তর কর্তৃক বাস্তবায়নাধীন টেকসই বন ও জীবিকা (সুফল) প্রকল্পের সাথে যৌথ ভাবে প্রশিক্ষণ ও প্রযুক্তি হস্তান্তর কার্যক্রম বাস্তবায়ন করছে।

বন অধিদপ্তর কর্তৃক বাস্তবায়নাধীন টেকসই বন ও জীবিকা (সুফল) প্রকল্পের মূল উদ্দেশ্য হলো সহযোগিতামূলক বন ব্যবস্থাপনার উন্নয়ন এবং প্রকল্প এলাকায় বন নির্ভর জনগোষ্ঠীর বিকল্প আয়বর্ধক কাজের সুযোগ বৃদ্ধি করা। প্রকল্পটি দেশের ২৮টি জেলার ১৬৫টি উপজেলায় বাস্তবায়িত হচ্ছে। প্রকল্পের লক্ষ্য অর্জনে বিএফআরআই, বন অধিদপ্তরের সাথে যৌথভাবে কাজ করছে। দেশের বনজ সম্পদের বৃদ্ধি, উন্নয়ন ও যথাযথ ব্যবস্থাপনার উপর বিএফআরআই কর্তৃক উদ্ভাবিত প্রযুক্তি সমূহ সম্প্রসারণের লক্ষ্যে এবং বন বিভাগের কর্মকর্তা-কর্মচারি ও ব্যক্তি পর্যায়ের বন নির্ভর ভোক্তা গোষ্ঠীর দক্ষতা বৃদ্ধিতে প্রকল্পের মাধ্যমে বিভিন্ন বিষয়ে প্রশিক্ষণ প্রদান করা হচ্ছে। এ লক্ষ্যে **"উদ্ভিদ কোষ আবাদ কৌশল"** বিষয়ক প্রশিক্ষণ ম্যানুয়ালটি প্রশিক্ষণার্থীসহ অন্যান্য ভোক্তাগোষ্ঠীর কাজে সহায়ক ও জীবনমান উন্নয়নে ভূমিকা পালন করবে বলে আমি বিশ্বাস করি। প্রশিক্ষণ ম্যানুয়ালটি প্রস্তুত করায় আমি সংশ্লিষ্ট গবেষণা বিভাগের গবেষকবৃন্দ এবং ম্যানুয়ালটির মুদ্রণ কাজে আর্থিক সহযোগিতার জন্য সুফল প্রকল্প, বন অধিদপ্তর এবং বিশ্ব ব্যাংক কে আন্তরিক ধন্যবাদ জানাচ্ছি।

ড. রফিকুল হায়দার
পরিচালক
বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট
চট্টগ্রাম।

সূচিপত্র

বিষয়বস্তু	পৃষ্ঠা নং
প্লান্ট টিস্যু কালচার বা উদ্ভিদ কোষ আবাদ	১
সংক্ষিপ্ত ইতিহাস	১
উল্লেখযোগ্য বিজ্ঞানীবৃন্দ এবং টিস্যু কালচার বিষয়ে তাদের অবদান	২
টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরি ও প্রয়োজনীয় উপকরণ	৪
টিস্যু কালচারের উদ্দেশ্য ও ব্যবহার	৬
উদ্ভিদ টিস্যু কালচারের সুবিধাসমূহ	৬
টিস্যু কালচারজাত চারার প্রধান বৈশিষ্ট্য	৮
প্লান্ট টিস্যু কালচারের প্রয়োগ	৮
উদ্ভিদ অঙ্গের কালচার	৯
অর্গানোজেনেসিস	১৩
এমব্রায়োজেনেসিস	১৪
টিস্যু কালচার পদ্ধতি	১৫
টিস্যু কালচার পদ্ধতির প্রধান নিয়ামক	১৬
পুষ্টি মাধ্যমের উপাদান সমূহ	১৭
পুষ্টি মাধ্যমের কার্যরূপ	২০
বিভিন্ন পুষ্টি মাধ্যম	২০
এমএস মিডিয়াম এর উপাদান সমূহ	২১
এমএস মিডিয়াম তৈরি পদ্ধতি	২১
টিস্যু কালচার প্রক্রিয়া	২৫
টিস্যু কালচার কৌশল বাণিজ্যিকীকরণ	৩০
বাংলাদেশের চিত্র	৩০
বাণিজ্যিক উদ্ভিদ টিস্যু কালচার পরীক্ষাগার প্রতিষ্ঠাকরণ	৩১
উপসংহার	৩৫
শব্দকোষ	৩৬

প্লান্ট টিস্যু কালচার বা উদ্ভিদ কোষ আবাদ (Plant Tissue Culture)

প্লান্ট টিস্যু কালচার বা উদ্ভিদ কোষ-কলা আবাদ উদ্ভিদের অঙ্গজ প্রজনন প্রক্রিয়ার একটি আধুনিক পদ্ধতি। এ পদ্ধতিতে উদ্ভিদ দেহের যে কোন সজীব ক্ষুদ্রাংশ (Explant) যেমন মূলের অগ্রভাগ, কান্ডের অগ্রভাগ, পাতা, কাক্ষ সুপ্ত কুঁড়ি অথবা যে কোন অংশের কলাকে (Tissue) পরীক্ষাগারে জীবাণুমুক্ত ও কৃত্রিম পরিবেশে নির্দিষ্ট মাত্রায় পুষ্টি সরবরাহের মাধ্যমে জন্মানো হয়। উদ্ভিদের আবাদকৃত কলা থেকে কম সময়ে স্বল্প পরিসরে উন্নতমানের ৫ থেকে ১০ গুণ অনুচারা (Planlets) উৎপাদনের কৌশলকে সংক্ষেপে টিস্যু কালচার (Tissue culture) বলা হয়। উদ্ভিদের টিস্যু আবাদ কেবলমাত্র টিস্যু ব্যবহার করেই সম্পাদন করা হয় না বরং উদ্ভিদের বিভাজনক্ষম বিচ্ছিন্ন অংশ (Explant) যেমন অঙ্গ, ভ্রূণ, পরাগরেণু প্রভৃতিও ব্যবহার করা হয়। তাই সামগ্রিকভাবে উদ্ভিদ টিস্যু আবাদ শব্দটি ব্যবহৃত হলেও বিভিন্ন ক্ষেত্রে একে বিভিন্ন ভাবে ব্যবহার করা হয়, যেমন- ভ্রূণ আবাদ (Embryo culture), পরাগধানী আবাদ (Anther culture), পাতা আবাদ (Leaf culture), ভাজক অঞ্চল আবাদ (Meristem culture) প্রভৃতি। উদ্ভিদ টিস্যুকালচারকে আমরা উদ্ভিদের ক্লোনিং, মাইক্রোপ্রোপাগেশন বা ইনভিট্রো কালচারও বলতে পারি। উদ্ভিদ জৈব প্রযুক্তির একটি নতুন মাধ্যম হল টিস্যু কালচার। ইতোমধ্যে এ প্রযুক্তি দ্বারা উদ্ভিদ প্রজনন, উদ্ভিদ উৎপাদন ও উদ্ভিদের মান উন্নয়নে ব্যাপক সফলতা এসেছে। বর্তমানে বিভিন্ন প্রকার উদ্ভিদের টিস্যু কালচার পদ্ধতি নিয়ে ব্যাপক গবেষণা চলছে এবং এসব গবেষণালব্ধ ফলাফল মানব কল্যাণে ব্যবহৃত হচ্ছে। এ প্রযুক্তির মাধ্যমে পৃথিবীর বিভিন্ন উন্নত ও উন্নয়নশীল দেশে বাণিজ্যিকভাবে উদ্ভিদ চারা উৎপাদন করা হচ্ছে। ফলে টিস্যু কালচার পদ্ধতি ইতোমধ্যে এ সমস্ত দেশের অর্থনীতিতে বিশেষ অবদান রাখছে। টিস্যু কালচার উদ্ভিদ বিজ্ঞানের একটি নতুন শাখা এবং এ শাখার সাথে অন্যান্য শাখাসমূহ যেমন- উদ্ভিদ প্রজনন, বংশগতিবিদ্যা, শারীরবিদ্যা, ভ্রূণবিদ্যা ইত্যাদি অঙ্গাঙ্গিভাবে জড়িত।

সংক্ষিপ্ত ইতিহাস

বহুকোষী জীবের কোষতাত্ত্বিক জটিলতা সম্পর্কে সর্বপ্রথম তত্ত্বীয় ব্যাখ্যা প্রদান করেন জার্মান জীববিজ্ঞানী M.J. Schleiden (১৮৩৮) ও T. Schwann (১৮৩৯) এবং তাঁরা কোষ মতবাদের (Cell theory) সূচনা করেন। এই মতবাদ অনুসারে কোষই হলো জীবনের জন্য প্রয়োজনীয় সব বস্তুর আঁধার এবং সব জীবন্ত বস্তুই কোষ দিয়ে তৈরি। তাঁদের মতে কোষ হল জীবদেহ গঠনের একক অর্থাৎ প্রতিটি কোষকে এক একটি স্বাধীন সত্ত্বা (Living entity) হিসাবে বিবেচনা করা হয়েছে। এই ধারণার সূত্র ধরে পরবর্তীতে জার্মান উদ্ভিদ বিজ্ঞানী G. Haberlandt সর্বপ্রথম ১৯০২ সালে উদ্ভিদ কোষের সেলুলার টটিপটেন্সি (Cellular totipotency) সম্পর্কে ধারণা দেন। সেলুলার টটিপটেন্সি হলো কোন জীবন্ত কোষ বা কলা থেকে পূর্ণাঙ্গ জীব সৃষ্টির সক্ষমতা। Haberlandt মনে করেছিলেন যদি উদ্ভিদ কোষগুলি প্রকৃতপক্ষেই টটিপটেন্ট (Totipotent) হয় তবে তাদেরকে (সংশ্লিষ্ট কোষ বা কলা) উদ্ভিদদেহ থেকে আলাদা করে উপযুক্ত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে ও কৃত্রিম পরিবেশে কালচার করে তার বৃদ্ধি ও বিকাশ ঘটানো সম্ভব। এই ধারণা থেকে G. Haberlandt, ১৯০২ সালে সর্বপ্রথম উচ্চশ্রেণীর উদ্ভিদে সুনির্দিষ্টভাবে প্রথম টিস্যু কালচার করতে চেষ্টা করেন। যদিও তিনি পরিপূর্ণভাবে সাফল্য লাভ করতে সমর্থ হননি কিন্তু তাঁর গবেষণালব্ধ প্রারম্ভিক ফলাফল পরবর্তীতে টিস্যু কালচার গবেষণার জন্য এক বিশেষ দিক নির্দেশনা ছিল। পরবর্তীতে তাঁর সুযোগ্য ছাত্র Robbin এবং W. Kotte ১৯২২ সালে একক কোষের পরিবর্তে মেরিস্টেম (ঘাসের মূলাগ্র) কালচার করেন এবং এর বৃদ্ধি লক্ষ্য করেন। এভাবে তাঁরা টিস্যু কালচার গবেষণার প্রাথমিক ভিত্তি স্থাপন করেন। পরে ১৯৩৪ সালে E.R. White টমাটোর মূলাগ্র কালচার করেন এবং আশানুরূপ ফলাফল লাভে সমর্থ হন। ১৯৩৯ সালে P. Nobecouirt সর্বপ্রথম গাজরের মূল থেকে ক্যালাস কালচার করেন এবং এর অবিরাম ও অনিয়মিত বৃদ্ধি লক্ষ্য করেন যা তিনি ৬ সপ্তাহ পর্যন্ত সাবকালচারের মাধ্যমে বাঁচিয়ে রাখতে সমর্থ হন। ১৯৪১ সালে J. Van Overbeek, M.E. Corklin ও A.F. Blakeslee প্রমুখ বিজ্ঞানীগণ *Datura*-র ভ্রূণের বৃদ্ধিতে বৃদ্ধি

উদ্দীপক হিসাবে নারিকেল পানির ব্যবহারের কথা উল্লেখ করেন। S.M. Caplin এবং E.C. Steward (১৯৪৮) নারিকেল পানির গুরুত্বের সত্যতা স্বীকার করেন। পরবর্তীতে এই বিজ্ঞানীগণ নারিকেল পানির সাথে অন্যান্য সিনথেটিক (Synthetic) অক্সিনের সমন্বয় ঘটিয়ে কোষ বিভাজনকে উদ্দীপিত করতে সমর্থ হয়েছিলেন। Ball ১৯৪৬ সালে গুপ্তবীজী উদ্ভিদের কাণ্ড শীর্ষকে (Shoot apices) পৃথক ও তা থেকে পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদের বিকাশ সম্পর্কে সম্ভাবনা ব্যাখ্যা করেন। F. Skoog ১৯৫৪ সালে তামাকের কাণ্ড খণ্ড (Stem segment) থেকে ক্যালাস কালচার করার চেষ্টা করেন এবং ১৯৫৫ সালে তিনি কোষ বিভাজনের উদ্দীপক হিসাবে ৬-ফুরফুরাইল অ্যামাইনো পিউরিন (6-furfurylamino-purine) সনাক্ত করেন, যাকে তিনি পরবর্তীতে কাইনেটিন (Kinetin) নাম দেন। F. Skoog ও C.O. Miller ১৯৫৭ সালে বিভিন্ন মাত্রার অক্সিন ও কাইনেটিন ব্যবহার করে তামাকের ক্যালাস থেকে প্রাথমিক মূল ও কাণ্ডের বৃদ্ধি লক্ষ্য করেন। ১৯৬৬ সালে H.W. Kohlenbach, Plumepoppy (*Macleaya cerdata*) এর পাতার মেসোফিল কোষ কালচার করার কথা উল্লেখ করেন। ১৯৭০ সালে T. Nagata ও I. Takebele তামাক পাতার মেসোফিল কোষ থেকে পৃথককৃত প্রোটোপ্লাস্ট কালচার করে তা থেকে কোষ কলোনী (Cell colony) উদ্ভবের কথা উল্লেখ করেন। ১৯৬৬ সালে S. Guha এবং S.C. Maheshwari, *Datura innoxia*-এর পরাগধানী (Anther) কালচার করে তা থেকে হ্যাপ্লয়েড অনুচারা উৎপাদন করতে সমর্থ হন। এর এক বছর পরে J.P. Bourgin এবং J.P. Nitsch তামাকের বিভিন্ন প্রজাতি থেকে একইভাবে হ্যাপ্লয়েড অনুচারা উৎপাদনের কথা উল্লেখ করেন। পরে ১৯৭২ সালে C. Nitsch বিভিন্ন উদ্ভিদে (*Datura, Nicotiana, Lycopersicon* প্রভৃতি) পরাগরেণু কালচার করে তা থেকে ভ্রূণ উৎপাদন তথা অনুচারা উৎপাদন লক্ষ্য করেন। পরবর্তীতে উদ্ভিদের নানা অঙ্গ, যেমন- কাণ্ড, মূলাগ্র, পাতা, ফুল, পুংরেণু, পরাগধানী, গর্ভাশয়, ডিম্বক, ভ্রূণ, এন্ডোস্পার্ম প্রভৃতির কালচার করা হয়েছে। বিজ্ঞানী Murashige (১৯৭৭)-এর এক পরিসংখ্যান অনুযায়ী প্রায় ৬০০ প্রজাতির সৌন্দর্যবর্ধক (Ornamental plants) উদ্ভিদের টিস্যু কালচার পদ্ধতিতে চারা উৎপাদন সম্ভব হয়েছে। এছাড়াও বিভিন্ন ধরণের ফল, তৈল, সবজি জাতীয় উদ্ভিদ ছাড়াও বিভিন্ন কৃষি শস্যের ক্ষেত্রে টিস্যু কালচার পদ্ধতি উল্লেখযোগ্য ভূমিকা পালনে সমর্থ হয়েছে। একবীজপত্রী উদ্ভিদের তুলনায় দ্বিবীজপত্রী উদ্ভিদের টিস্যু কালচার বেশি করা হয়েছে। কিছু কিছু ব্যক্তবীজী উদ্ভিদের (Gymnosperm) ক্ষেত্রেও আশাব্যঞ্জক ফল পাওয়া গেছে। টেরিডোফাইট জাতীয় উদ্ভিদে গ্যামেটোফাইট, কাণ্ডের শীর্ষভাগ, কচিপাতা প্রভৃতিরও কালচার করা হয়ে থাকে। ব্রায়োফাইট উদ্ভিদের লিঙ্গধর (গ্যামেটোফাইট) উদ্ভিদও কালচার করা হয়েছে।

উল্লেখযোগ্য বিজ্ঞানীবৃন্দ এবং টিস্যু কালচার বিষয়ে তাদের অবদান

বিজ্ঞানীর নাম	আবিষ্কার	আবিষ্কারের বছর
গোটলিয়েব হ্যাবারল্যান্ড	জার্মান উদ্ভিদ বিজ্ঞানী সর্বপ্রথম কোষ আবাদ করার প্রচেষ্টা চালান। তিনি *Lanium* উদ্ভিদের পাতার মেসোফিল কোষ পৃথক করে কৃত্রিম আবাদ মিডিয়ামে ইনভিট্রো পদ্ধতিতে জন্মানোর চেষ্টা করেন। যদিও তিনি সফলকাম হননি।	১৯০২
হ্যানিং	*Raphanus* এবং *Cochlearia* এর প্রায় পরিণত ভ্রূণকে ইনভিট্রো পদ্ধতিতে আবাদ করে পরিণত ভ্রূণ উৎপাদনে সক্ষম হন। সমসাময়িক সময়ে ভন অভারবেক ও তার সহকর্মীগণ *Datura* ভ্রূণের বিকাশে নারিকেল পানি ব্যবহার করেন এবং তার উদ্দীপক প্রভাব নিরূপন করেন।	১৯০৪
সাইমন	পপলার উদ্ভিদের কাণ্ডের টুকরা থেকে সফলভাবে ক্যালাস, কুঁড়ি ও মূল উৎপন্ন করেন। ক্যালাস আবাদ ও মাইক্রোপ্রোপাগেশনের ভিত্তি উদ্ভাবনের কৃতিত্ব তাকে দেওয়া হয়।	১৯০৮

বিজ্ঞানীর নাম	আবিষ্কার	আবিষ্কারের বছর
এল নুডসন	সর্বপ্রথম একটি পরিপূর্ণ আবাদ মাধ্যম উদ্ভাবন করেন। তিনি বিভিন্ন খনিজ উপাদানের সাথে অ্যাগার (কতিপয় শৈবাল হতে তৈরি পলিস্যাকারাইড) যোগ করে একটি মিডিয়াম প্রস্তুত করেন যা নুডসন মিডিয়াম নামে পরিচিত। এই কৃত্রিম মিডিয়ামে তিনি বিভিন্ন অর্কিডের বীজ অঙ্কুরোদগমে সক্ষম হন।	১৯২১
ডব্লিউ কোটে এবং জে রবিনস	তারা পৃথকভাবে মূলাগ্র আবাদে সফলতা অর্জন করেন। তারা প্রস্তাব করেন যে, কৃত্রিম উপায়ে টিস্যু আবাদের জন্য মূলাগ্র, কুঁড়ি প্রভৃতির ভাজক কোষ ব্যবহার করাটাই শ্রেয়।	১৯২২
ফিলিপ আর হোয়াইট	তিনি যুক্তরাষ্ট্রের টিস্যু কালচারের জনক। সর্বপ্রথম টমেটোর কর্তিত মূলাগ্র অবিরাম আবাদ করতে সক্ষম হন।	১৯৩৪
রজার জে গাউদারেট	সর্ব প্রথম সফল টিস্যু আবাদকারী। তিনি অক্সিন সমৃদ্ধ নগ এর পুষ্টি মিডিয়ামে গাজরের ক্যাম্বিয়াম হতে বিরামহীন বিভাজনরত ক্যালাস উৎপাদনে সক্ষম হন।	১৯৩৯
এফ সি স্টিউয়ার্ড	গাজর ও আলুর আবাদকৃত ক্যালাসের বৃদ্ধিতে নারিকেল পানি ও ২,৪-ডি ব্যবহার করেন।	১৯৪৮
ডব্লিউ এইচ মুইয়ার	নার্স কালচার পদ্ধতিতে একক কোষ আবাদ করে পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ তৈরি করতে সক্ষম হন। তিনি *Tagetes erecta* এবং *Nicotiana tabacum* এর ক্যালাস টিস্যু তরল মিডিয়ামে রেখে ঝাকুনি যন্ত্র দ্বারা ঝাকালে তা ভেঙে একক কোষ সৃষ্টি করে।	১৯৫৩
সি ও মিলার এবং এফ স্কুগ	সাইটোকাইনিন আবিষ্কার করেন এবং কোষ বিভাজনে কাইনেটিনের ভূমিকা নিরূপন করেন। কান্ড ও মূল সৃষ্টিতে অক্সিন ও সাইটোকাইনিনের অনুপাত নির্ণয় করতে সমর্থ হন।	১৯৫৫-১৯৫৭
এডওয়ার্ড সি ককিং	এনজাইমীয় পদ্ধতিতে প্রোটোপ্লাস্ট পৃথকীকরণ ও আবাদ পদ্ধতি উদ্ভাবন করেন।	১৯৬০
জনস্ এটঅল.	মাইক্রোকালচার পদ্ধতি উদ্ভাবন করেন।	১৯৬০
জর্জ মোরেল	কান্ডাগ্র আবাদ পদ্ধতি উদ্ভাবন করেন। অর্কিডের ক্ষেত্রে টিস্যু আবাদ পদ্ধতিতে ক্লোনাল প্রজননের সর্ব প্রথম কৃতিত্ব মোরেলের। এর আগে অর্কিডের কেবল বীজ থেকে ইনভিট্রো অঙ্কুরোদগমের মাধ্যমে চারা তৈরি করা হতো। মোরেলের এই আবিষ্কার অর্কিড শিল্পে বৈপ্লবিক পরিবর্তন এনে দেয়।	১৯৬০
টশিও মোরাশিগে	প্রায় ১০ বছর গবেষণার পর বিজ্ঞানী স্কুগ এর সাথে যৌথভাবে টিস্যু আবাদের শাশত মিডিয়াম উদ্ভাবন করেন যা মোরাশিগে এবং স্কুগ মিডিয়াম বা এমএস মিডিয়াম হিসেবে বিবেচিত।	১৯৬২
শিপ্রা গুহ মখার্জী এবং সতীশ সি মহেশ্বরী	*Datura inoxia* এর পরাগধানী আবাদের মাধ্যমে হ্যাপ্লয়েড ভ্রূণ এবং তা থেকে নতুন উদ্ভিদ তৈরি করতে সক্ষম হন।	১৯৬৪-১৯৬৭
জে পি নিস্	তিনি *Datura* এবং *Nicotiana* এর মাইক্রোস্পোর আবাদ করে ক্রোমোসোম সংখ্যা দ্বিগুন করে মাত্র ৫ মাসের মধ্যে তা থেকে হোমোজাইগাস ডিপ্লয়েড উদ্ভিদ তৈরি করতে সমর্থ হন।	১৯৭৪

বিজ্ঞানীর নাম	আবিষ্কার	আবিষ্কারের বছর
জি মেলচারস	প্রোটোপ্লাস্ট ফিউশনের মাধ্যমে সোমাটিক হাইব্রিডাইজেশন বা দৈহিক সংকর তৈরি করেন।	১৯৭৮
পি জে লারকিন এবং ডব্লিউ আর স্কাউক্রফট	টিস্যু আবাদের মাধ্যমে সোমাক্লোনাল প্রকরণ নিরূপন করেন।	১৯৮১
কে এ বারটন এবং জে ব্রিল	রিকম্বিন্যান্ট ডিএনএ প্রযুক্তিকে কাজে লাগিয়ে আবাদী টিস্যুতে বহিঃজিন সঞ্চারণ করতে সক্ষম হন। এই পদ্ধতিতে বহু সংখ্যক ট্রান্সজেনিক উদ্ভিদ উদ্ভাবন সম্ভব হয়েছে।	১৯৮৩
আর তানাকা এবং এইচ ইদেকা	টিস্যু আবাদ সুট প্রিমর্ডিয়াম (ক্লোনাল মাইক্রোপ্রোপাগেশন) উৎপাদনের মাধ্যমে উদ্ভিদ প্রজনন এবং দীর্ঘ মেয়াদি সংরক্ষণের উন্নত পদ্ধতি উদ্ভাবন করেন।	১৯৯৪
নতুন যুগ	১৯৭০ পরবর্তী রেস্ট্রিকশন এন্ডোনিউক্লিয়েজ এনজাইম আবিষ্কারের পর উদ্ভিদ কোষ ও টিস্যু আবাদ গবেষণার গতিপথে পরিবর্তন নিয়ে এসেছে।	চলমান

টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরি ও প্রয়োজনীয় উপকরণ

টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরি

টিস্যু কালচার পদ্ধতির প্রাথমিক কার্যক্রমের জন্য স্বয়ংসম্পূর্ণ একটি ল্যাবরেটরিতে আবশ্যক চারটি কক্ষ থাকে। প্রথম কক্ষটিতে সাধারণ কার্যক্রম যেমন মিডিয়াম প্রস্তুতকরণ, অটোক্লেভ করা, সংগ্রহকৃত উদ্ভিদাংশ বা এক্সপ্লান্ট (Explant) ধৌত বা পরিষ্কারকরণ প্রভৃতি করা হয়। দ্বিতীয়টিতে ল্যামিনার ফ্লো সমন্বিত ইনোকুলেশন চেম্বার, যেখানে কালচার উপযোগী অংশগুলো জীবানুমুক্ত পরিবেশে কালচার ভেসেলে তৈরীকৃত কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে প্রবিষ্ট (Inoculate) করানো হয়। তৃতীয় কক্ষটি হলো কালচার চেম্বার, যেখানে তাপমাত্রা, আর্দ্রতা, আলোক তীব্রতা,আলোককাল প্রভৃতি নিয়ন্ত্রণ করা হয় এবং চতুর্থ কক্ষে নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে কালচার ভেসেল সংরক্ষিত থাকে, যা থেকে নির্দিষ্ট সময় অন্তর কালচারকৃত উদ্ভিদাংশুর বৃদ্ধি, বিকাশ ও তথ্য (Data) লিপিবদ্ধ করা হয়।

প্রয়োজনীয় উপকরণ

টিস্যু কালচার প্রক্রিয়াটি সম্পূর্ণ জীবানুমুক্ত পরিবেশে করা একান্ত প্রয়োজন। এজন্য কালচার করার সময় টিস্যু বা অন্যান্য প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি যাতে জীবাণুমুক্ত থাকে সেদিকে বিশেষ লক্ষ্য রাখা প্রয়োজন। টিস্যু কালচারে ব্যবহৃত যন্ত্রপাতি মূল্যবান হেতু সেগুলো অত্যন্ত সাবধানতার সাথে ব্যবহার করা উচিত। টিস্যু কালচার কার্যক্রমের জন্য বিভিন্ন ধরণের উপকরণ প্রয়োজন। সাধারণত নিম্নলিখিত উপকরণগুলো ল্যাবরেটরিতে ব্যবহৃত হয়ে থাকে ঃ

- **ওয়াশিং বাকেট (Washing bucket) ঃ** টেস্টটিউব, কনিক্যাল ফ্লাস্ক, পেট্রিডিস ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি পরিষ্কার করার জন্য প্লাস্টিকের বাকেট প্রয়োজন, যেখানে ওয়াশিং ডিটারজেন্ট সহযোগে ব্যবহৃত জিনিসপত্রসমূহ পরিষ্কার করা হয়। এখানে বিভিন্ন আকৃতির ব্রাশ (Brush) থাকা আবশ্যক।

- **হট এয়ার ওভেন (Hot air oven) ঃ** পরিষ্কার করা ভেজা টেষ্টটিউব, কনিক্যাল ফ্লাস্ক প্রভৃতি শুকানোর জন্য ইহা আবশ্যক। ব্যবহার্য জিনিসগুলো পরিষ্কার করার পর কয়েকটি এনামেলের ট্রেতে (Enameled trays) সাজিয়ে এই ওভেনের অভ্যন্তরে রাখা হয়।

- **রেফ্রিজারেটর (Refrigerator) :** টিস্যু কালচারে ব্যবহৃত বিভিন্ন রাসায়নিক দ্রব্যাদি (হরমোন, ভিটামিন, এমিনো এসিড, স্টক দ্রবণ প্রভৃতি) সংরক্ষণের জন্য রেফ্রিজারেটর আবশ্যক।

- **ব্যালান্স (Balance) :** টিস্যু কালচার কার্যক্রমের জন্য ব্যবহৃত বিভিন্ন রাসায়নিক দ্রব্যাদি (Chemicals), সুগার, অ্যাগার প্রভৃতি সঠিক পরিমাপ করার জন্য সাধারণত ইলেকট্রনিক ব্যালান্স (Electronic balance) ব্যবহার করা হয়।

- **পি-এইচ মিটার (p^H meter) :** নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামের (Nutrient medium) অম্লত্ব বা ক্ষারত্বের সঠিকতা নির্ণয়ের জন্য p^H এর মান নির্ণয় করা বিশেষ প্রয়োজন।

- **অটোক্লেভ (Autoclave) :** টিস্যু কালচারে ব্যবহৃত সকল দ্রব্যাদি, যেমন- নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়াম, কালচার ভেসেল ব্যবহৃত সকল যন্ত্রপাতি প্রভৃতি জীবাণুমুক্ত রাখা টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ার পূর্ব শর্ত। এজন্য ল্যাবরেটরিতে অটোক্লেভ মেশিন বিশেষ প্রয়োজন।

- **মাইক্রোস্কোপ (Microscope) :** ক্যালাস বা কোষ কালচারের সময় বিকাশমান কোষ বা কলার বিভিন্ন পর্যায় সম্পর্কে স্লাইডে পর্যবেক্ষণের জন্য ল্যাবরেটরিতে সাধারণ ও জটিল মাইক্রোস্কোপের প্রয়োজন আছে। এছাড়াও উদ্ভিদের অতি ক্ষুদ্র অংশ যেমন- মেরিস্টেম, নিউসেলাস, ভ্রূণ, স্কুটেলাম ইত্যাদি পৃথককরণের জন্য ডিসেক্টিং মাইক্রোস্কোপের প্রয়োজন হয়।

- **কালচার ভেসেল (Culture vessel) :** টিস্যু কালচারের জন্য বিভিন্ন ধরণের পাত্র (Container) ল্যাবরেটরিতে ব্যবহৃত হয়ে থাকে, যেমন- টেস্টটিউব, কনিক্যাল ফ্লাস্ক, বোতল, পেট্রিডিস, খাঁজযুক্ত স্লাইড, কখনও কখনও প্লাস্টিকের (অটোক্লেভ সহনশীল) পাত্রও ব্যবহৃত হয়ে থাকে।

উপর্যুক্ত উপকরণসমূহ ছাড়াও মিডিয়াম প্রস্তুতকরণের সময় বিভিন্ন আকৃতির কাঁচের সিলিন্ডার (100 ml-1000 ml), বড় আকৃতির কাঁচের ফ্লাস্ক, বিভিন্ন দাগাঙ্কিতের (10 ml, 5 ml, 1 ml, 0.5 ml, 0.05 ml প্রভৃতি) পিপেট, পিপেট পাম্প (Pipette pump), বীকার প্রভৃতি প্রয়োজন হয়। এছাড়াও স্কালপেল (Scalpel), বিভিন্ন আকৃতির ফরসেপ (Forcep), ব্লেড, স্প্যাচুলা, নিডেল, কাঁচি, তুলা, কটনপ্লাগ (কালচার পাত্রের মুখ বন্ধ রাখার জন্য), লেবেল, মার্কার কলম (Marker pen), প্যারাফিল্ম (Parafilm) প্রভৃতি আনুষাঙ্গিক দ্রব্যাদি বিশেষভাবে ব্যবহৃত হয়ে থাকে।

ইনোকুলেশন চেম্বার (Inoculation Chamber)

ল্যাবরেটরিতে ব্যবহৃত এই কক্ষটিতে কোন জানালা বা ভেন্টিলেটার (Ventilator) না থাকাই ভাল, যাতে বাইরের কোন ধুলাবালি ঘরে প্রবেশ করতে না পারে। সাধারণত এখানে ২টি দরজা থাকে। কক্ষটি এয়ারকুলার (Air cooler) ও সাদা টিউবলাইটসহ এর মেঝে রাবার বা প্লাস্টিকের মাদুর দ্বারা আবৃত করে রাখা হয় এবং সর্বদাই তা যেন পরিষ্কার থাকে সেদিকে বিশেষ নজর রাখা হয়। এই চেম্বারে রক্ষিত ল্যামিনার এয়ার ফ্লো কেবিনেট (Laminar air flow cabinet) একটি অত্যন্ত গুরুত্বপূর্ণ যন্ত্রবিশেষ, যেখানে জীবাণুমুক্ত পরিবেশ বজায় রেখে কালচার কার্যক্রম সম্পন্ন করা হয়। এছাড়া ইনোকুলেশন চেম্বারের পার্শ্বে স্পিরিট ল্যাম্প, ৭০% ইথাইল অ্যালকোহল, মিথিলেটেড স্পিরিট, তুলা প্রভৃতি ইনোকুলেশন কাজে ব্যবহারের জন্য রক্ষিত থাকে।

কালচার বা গ্রোথ চেম্বার (Growth Chamber)

কালচারকৃত উদ্ভিদাংশুর বৃদ্ধি ও বিকাশ উপযোগী ইহা একটি বিশেষ চেম্বার বা কক্ষ যেখানে তাপমাত্রা, আর্দ্রতা, আলো প্রভৃতি নিয়ন্ত্রণে রাখা হয়। এই নিয়ন্ত্রিত কালচার পরিবেশে নির্দিষ্ট সময় পর পর কালচারকৃত উদ্ভিদাংশুর বৃদ্ধি ও বিকাশ (Development) পর্যবেক্ষণ ও তৎসংক্রান্ত তথ্য লিপিবদ্ধ করা হয়। এই কক্ষে বিশেষভাবে নির্মিত কতকগুলো শেলভ (Shelves) থাকে, যেখানে কালচার ভেসেলগুলি (কনিক্যাল ফ্লাস্ক, পেট্রিডিস, জার, বোতল প্রভৃতি) সাজিয়ে রাখা হয়। টেষ্টটিউবগুলি টেষ্টটিউব র‍্যাকে সাজিয়ে অতঃপর এখানে রাখা হয়। প্রতিটি কালচার র‍্যাক (Culture rack) সাদা টিউবলাইট (White fluorescent light) দিয়ে নির্দিষ্ট সময় অবধি আলোকিত রাখা হয়, এক্ষেত্রে সাধারণত আলোক কাল ১৪-১৬ ঘন্টা বজায় রাখা হয়। তাপমাত্রা ২৫ $\pm$ ২° সে. ও আর্দ্রতা ৫০% এর উপরে রাখা হয়। এই কক্ষে প্রয়োজন অনুযায়ী ব্যবহারের জন্য কমপক্ষে ২টি এয়ারকুলার (Air cooler) সন্নিবেশিত করা হয়। কক্ষের আপেক্ষিক আর্দ্রতা ও তাপমাত্রা নিয়মিত পরীক্ষা করার জন্য কক্ষের দেয়ালে রক্ষিত যথাক্রমে হাইগ্রোমিটার (Hygrometer) ও থার্মোমিটার (Thermometer) ব্যবহার হয়ে থাকে।

টিস্যু কালচারের উদ্দেশ্য ও ব্যবহার

টিস্যু কালচারের প্রাথমিক উদ্দেশ্য হল নির্বাচিত কোন কাঙ্ক্ষিত মাতৃউদ্ভিদের গুণাগুণ সম্পন্ন প্রচুর সংখ্যক চারা, অল্প সময়ে স্বল্প পরিসরে এবং কম খরচে উৎপাদন করা। এ ছাড়াও দূরবর্তী অঞ্চলে রোপণ দ্রব্য স্থানান্তর, দীর্ঘদিন যাবত ক্লোনাল দ্রব্য সংরক্ষণ প্রভৃতিতে এ পদ্ধতি ব্যবহৃত হয়ে থাকে। উদ্ভিদ প্রজননবিদগণও তাদের বিভিন্ন কাজে এ পদ্ধতির সাহায্য নিয়ে থাকেন।

উদ্ভিদ টিস্যুকালচারের সুবিধা সমূহ

- কাঙ্ক্ষিত চরিত্র বিশিষ্ট (Elite) উদ্ভিদ জেনোটাইপের দ্রুত প্রপাগেশন থেকে বিপুল পরিমাণ চারা স্বল্প সময়ে তৈরি করা যায়।
- এ প্রক্রিয়ায় মাতৃ উদ্ভিদের সামান্য একটু মেরিস্টেমেটিক টিস্যু ব্যবহার করে চারা তৈরি করা হয় বিধায় মাতৃ উদ্ভিদের জেনেটিক বৈশিষ্ট্য চারায় বজায় থাকে অথচ কোনো রোগ সংক্রমিত হয় না।
- দীর্ঘদিন যাবত ক্লোনাল দ্রব্য/জার্মপ্লাজম সংরক্ষণ হয়ে থাকে। সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসের মাধ্যমে কাঙ্ক্ষিত উদ্ভিদের বিকাশ ও দ্রুত সংখ্যা বৃদ্ধি ঘটে।
- অর্থনৈতিক গুরুত্বপূর্ণ উদ্ভিদ সমূহ টিস্যু কালচারের মাধ্যমে পাওয়া যায়।
- ইনভিট্রো কালচারের মাধ্যমে সম্পূর্ণ রোগ ও ভাইরাস মুক্ত অনুচারা উৎপাদন করা যায়।
- একটি মাত্র কোষ বা টিস্যু থেকে একটি পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ পাওয়া যায়।
- যেখানে বীজ থেকে পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ পেতে দীর্ঘ সময় অপেক্ষা করতে হয়, সেখানে উদ্ভিদের টিস্যু কালচারের মাধ্যমে খুব অল্প সময়ে অসংখ্য পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ পাওয়া যায়।
- যে সকল উদ্ভিদের বীজ সচারচর পাওয়া যায় না সে সকল উদ্ভিদের জন্য টিস্যু কালচার একটি উপযুক্ত কৌশল।
- টিস্যু কালচারে যেহেতু জীবাণুমুক্ত অবস্থায় কৃত্রিম আবাদ মাধ্যমে (জমাটবদ্ধ বা তরল) নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে আবাদ করা হয় তাই অনুচারার বেঁচে থাকার হার বেশি।

- টিস্যু কালচারের মাধ্যমে কাঙ্ক্ষিত মিউট্যান্ট পাওয়া সম্ভব।
- বিপন্ন ও বিলুপ্ত প্রায় উদ্ভিদ সমূহ টিস্যু কালচারের মাধ্যমে সহজে প্রজনন ঘটানো যায়।
- জিন ব্যাংক সংরক্ষণে ভূমিকা রাখে।
- রিজেনারেটেড বা উৎপাদিত উদ্ভিদে উপযোগী বা কাঙ্ক্ষিত বংশগতীয় পরিবর্তন সাধন সম্ভব হয়।
- কোষ পপুলেশনে নির্বাচনী চাপ (Selection pressure) প্রয়োগ করে রিজেনারেটেড উদ্ভিদে উপযোগী বংশগতীয় পরিবর্তন সম্পন্ন উদ্ভিদ নির্বাচন করা হয়।
- হ্যাপ্লয়েড উৎপাদন এবং জেনেটিক অধ্যয়নের জন্য হোমোজাইগাস পিওর ব্রিডিং লাইন সৃষ্টি করা যায়।
- ইনভিট্রো সিলেকশনের কার্যকারীতার উন্নয়ন ঘটে।
- দূরসম্পর্কীয় উদ্ভিদের মধ্যে হাইব্রিডাইজেশনের জন্য এমব্রায়ো উদ্ধার ও কালচার করে পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ উৎপাদন করা যায়।
- প্রোটোপ্লাস্ট ফিউশনের মাধ্যমে ভিন্ন প্রজাতির উপযোগী জিন অর্ন্তভূক্ত করে হাইব্রিড সেল লাইন তৈরি এবং উদ্ভিদের রিজেনারেশন ঘটানো যায়।
- কাঙ্ক্ষিত জিন প্রোটোপ্লাস্ট এ স্থানান্তর করে ট্রান্সজেনিক উদ্ভিদ পাওয়া যায়।
- উদ্ভিদ টিস্যু কালচারের মাধ্যমে উদ্ভিদের কোষ এবং টিস্যু সম্পর্কিত জ্ঞান বৃদ্ধি পায়, যেমন- বায়োট্রান্সফরমেশন, বনবিদ্যা, জীব প্রকৌশল, মরফোজেনেসিস, সোমাটিক হাইব্রিডাইজেশন, সেকেন্ডারি মেটাবোলাইট উৎপাদন, সংকরায়ন, প্রজাতি বিকাশ ও তাদের সংরক্ষণ, টটিপটেনসি, ক্লোনাল প্রপাগেশন, কোষ বিভাজন, কোষের পুষ্টি, উদ্ভিদের বিকাশ, রেডিও বায়োলজি প্রভৃতি।
- উদ্ভিদের অঙ্গসংস্থান ও শরীরবৃত্তীয় বন্ধ্যাত্ব এবং অসঙ্গতি টিস্যুকালচারের মাধ্যমে দূর করা সম্ভব।
- উন্নত জাত বা জেনোটাইপ উৎপাদন করা যায়।
- উচ্চ ফলনশীল উদ্ভিদ প্রজাতি উৎপাদন করা যায়।
- রোগমুক্ত চারা উৎপাদন করা যায়।
- প্রচলিত বংশ বিস্তারকে সহজীকরন করা যায়।
- উপযুক্ত পদ্ধতি হিসাবে জায়গা এবং কৃষকের শ্রম হ্রাস করা সম্ভব হয়।
- পুষ্টি, আলো, তাপমাত্রা এবং অন্যান্য উপাদান সঠিকভাবে নিয়ন্ত্রণের মাধ্যমে উদ্ভিদের বৃদ্ধি, বিস্তার এবং পুনরুৎপাদন ত্বরান্বিত করা যায়।
- টিস্যু কালচার পদ্ধতি ঋতুর উপর নির্ভরশীল নয় তাই সারা বছর চারা উৎপাদন প্রক্রিয়া চলমান থাকে, ফলে বর্ধিত চাহিদা পুরণ করা সম্ভব হয়।

টিস্যু কালচারজাত চারার প্রধান বৈশিষ্ট্য

- চারাগুলো রোগজীবাণু মুক্ত হয়।
- চারাগুলো মাতৃ উদ্ভিদের চারিত্রিক বৈশিষ্ট্য সম্পন্ন হয়।
- চারাগুলো পুনঃজন্মানোর ক্ষমতা সম্পন্ন হয়।
- চারাগুলো মাঠে বেঁচে থাকার হার প্রায় শত ভাগ।

প্লান্ট টিস্যু কালচারের প্রয়োগ (Application of Plant Tissue Culture)

(১) **মাইক্রোপ্রোপাগেশন ঃ** মাইক্রোপ্রোপাগেশন চিরাচরিত উদ্ভিদ প্রোপাগেশন পদ্ধতির এক আধুনিকতম সংযোজন। বাছাই করা উন্নত চরিত্র বিশিষ্ট জেনোটাইপের দ্রুত ক্লোনাল সংখ্যাবৃদ্ধি মাইক্রোপ্রোপাগেশনের মূল উদ্দেশ্য। বাছাই করা উদ্ভিদের মুকুল (Bud) নির্দিষ্ট মিডিয়ামে উপযুক্ত পরিবেশে কালচার করে এক্সিলারি বিটপ উৎপন্ন করা হয়। বিপুল সংখ্যক মাতৃ উদ্ভিদের সমতুল্য উদ্ভিদ উৎপন্ন না হওয়া পর্যন্ত উৎপাদিত মুকুল এবং বিটপ ক্রমাগত সাবকালচার করা হয়।

(২) **মেরিস্টেম কালচার ঃ** কান্ডের একেবারে শীর্ষে অবস্থিত প্রারম্ভিক বিকাশমান পত্র (Leaf primordia) সহ মেরিস্টেম পৃথক করে নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করাই মেরিস্টেম কালচারের অন্তর্গত। মেরিস্টেম, সক্রিয় বিভাজনশীল কোষ সমন্বয়ে গঠিত একটি ক্ষুদ্র গম্বুজ (Dome) যা সাধারণত ০.০৫-০.১ মিলিমিটার পরিধি বিশিষ্ট। মেরিস্টেমে সাধারণত অভ্যন্তরীণ জীবাণু সহজে প্রবেশ এবং দ্রুত বংশবৃদ্ধি করতে পারে না। ফলে মাইক্রোপ্রোপাগেশন পদ্ধতিতে মেরিস্টেম থেকে বিপুলসংখ্যক রোগমুক্ত উদ্ভিদ পাওয়া সম্ভব। বিভিন্ন উদ্ভিদে অত্যন্ত সফলতার সঙ্গে মেরিস্টেম কালচার করে ভাইরাস নিষ্কাশন অব্যাহত রয়েছে।

(৩) **সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস ঃ** সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস বলতে সোমাটিক কোষ (অযৌন) থেকে এমব্রায়ো সাদৃশ্য কোন অবয়ব উৎপাদন বোঝায়। কোন কোন সময় সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসকে উন্নত মাইক্রোপ্রোপাগেশন পদ্ধতি হিসাবে বিবেচনা করা হয় তবে মাইক্রোপ্রোপাগেশনের তুলনায় কোষ থেকে সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসের মাধ্যমে উদ্ভিদ আহরণ করার কতগুলি সুবিধা রয়েছে। সাসপেনসন কালচারে বৃদ্ধিপ্রাপ্ত কোষ থেকে সোমাটিক এমব্রায়ো উৎপাদন করা যায়, এতে পরিশ্রম এবং খরচ সাশ্রয় করা সম্ভব। গাজর, টমাটোতে সোমাটিক এমব্রায়ো কৃত্রিমভাবে আবৃত (Encapsulation) করে কৃত্রিম বীজ হিসাবে ব্যবহার করা হয়। ইতোমধ্যে প্লান্ট জেনেটিক্স ইনকর্পোরেশন কোম্পানি এক ধরণের বায়োডিগ্রেডেবল (Biodegradable) পলিমার দ্বারা এমব্রায়ো আবৃত করে কৃত্রিম বীজ উৎপাদনের পদ্ধতি উদ্ভাবন করেছে এবং আমেরিকার টিথার এবং পেপার কোম্পানিগুলি তা অনুসরণ করে কনিফার জাতীয় উদ্ভিদের কৃত্রিম বীজ বাজারজাত শুরু করেছে।

(৪) **সোমাক্লোনাল ভ্যারিয়েশন ঃ** একটি উদ্ভিদ পপুলেশনে বিরাজমান ভ্যারিয়েশন প্লান্ট ব্রিডিং-এর দৃষ্টিতে অত্যন্ত গুরুত্বপূর্ণ। আমাদের সকল ফসলি উদ্ভিদে এই ভ্যারিয়েশন কাজে লাগিয়ে বিভিন্ন উপযোগী জাত এবং হাইব্রিড সৃষ্টি করা হয়েছে এবং হচ্ছে। কোন ব্রিডিং প্রোগ্রামে ভ্যারিয়েশনের প্রয়োজন হলে অথবা ভ্যারিয়েশন না থাকলে টিস্যু কালচার পদ্ধতি ব্যবহার করে সোমাক্লোনাল ভ্যারিয়েন্ট উৎপাদন করা যায়। বিশেষ করে যে সকল প্রজাতি অযৌন উপায়ে প্রোপাগেট করে অথবা যাদের খুব স্বল্প সংখ্যক ভ্যারাইটি প্রকৃতিতে বর্তমান, তাদের ক্ষেত্রে এটি অধিকতর প্রযোজ্য। যদিও অধিকাংশ পরিবর্তন ক্ষতিকর এবং অর্থনৈতিকভাবে গুরুত্বহীন তথাপি সোমাক্লোনাল ভ্যারিয়েশনের মাধ্যমে বেশ কিছু কৃষি উপযোগী চরিত্রযুক্ত প্রোজেনির (Progeny) উদ্ভব হয়েছে। উদাহরণস্বরূপ- Eye spot রোগ প্রতিরোধী ইক্ষু, অধিক চিনি উৎপাদনকারী ইক্ষু, উন্নত রং এবং আকার বিশিষ্ট আলু, রোগ প্রতিরোধী আলু ইত্যাদি।

(৫) **ইনভিট্রো সিলেকশন :** বিভিন্ন স্ট্রেস (Stress) সহনশীল অথবা প্রতিরোধ জাত উদ্ভাবনের জন্য ইনভিট্রো সিলেকশন একটি উপযোগী পদ্ধতি হিসাবে বিবেচিত। একটি কোষ পপুলেশনে সিলেকশন প্রেসার প্রয়োগ করে আবেশিত প্রতিরোধী ভ্যারিয়েন্ট লাইনগুলি ইনভিট্রো অবস্থায় নির্বাচন করা হয়। এই সকল নির্বাচিত কোষ লাইন রিজেনারেট করে উদ্ভিদ তৈরি করা হয়। এই প্রতিরোধী বৈশিষ্ট্য যদি জেনেটিক হয় তবে তা উৎপাদিত অন্যান্য উদ্ভিদেও স্থানান্তরিত হয়।

(৬) **অ্যান্থার কালচার :** অণুজীব হ্যাপ্লয়েড প্রকৃতির, এ কারণে মাইক্রোবিয়াল জেনেটিক্স গবেষণায় যতটা দ্রুত অগ্রসর করা সম্ভব হয়েছে ডিপ্লয়েড অথবা পলিপ্লয়েড প্রকৃতি বিশিষ্ট উচ্চতর উদ্ভিদের ডমিন্যান্স এবং সেগ্রিগেশনের কারণে ততটা সম্ভব হয়নি। তামাক, তুলা ভুট্টা, ধান ইত্যাদি কিছু প্রজাতি ছাড়া উচ্চতর প্রজাতিতে প্রকৃতিতে কোন হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদ নাই। ডিপ্লয়েড উদ্ভিদের তুলনায় হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদে মিউট্যান্ট লাইন সৃষ্টি অধিকতর সহজ। এছাড়া হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদে ক্রোমোজোম সংখ্যা দ্বিগুণ করে হোমোজাইগাস লাইন তৈরি করা যায়। কাজেই জেনেটিক্স এবং প্লান্ট ব্রিডিং বিজ্ঞানীগণ হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদ উৎপাদনের নির্ভরযোগ্য পদ্ধতির অনুসন্ধান করে থাকেন, টিস্যু কালচার প্রক্রিয়া এই হ্যাপ্লয়েড উৎপাদনের পথকে প্রশস্ত করেছে।

(৭) **প্রোটোপ্লাস্ট কালচার :** যান্ত্রিক অথবা এনজাইম ক্রিয়ার মাধ্যমে কোষ থেকে প্রাচীর দূরীভূত করে প্রোটোপ্লাস্ট আহরণ করা হয়। যেহেতু সংগৃহীত প্রোটোপ্লাস্ট প্রাচীর বিহীন সেজন্য কালচার মিডিয়ামে ইহা কোষ অপেক্ষা সহজে এবং দ্রুত সাড়া দেয়। উদ্ভিদে জিন ম্যানিপুলেশনের ক্ষেত্রে রিকম্বিনেন্ট ডিএনএ পরীক্ষাতেও প্রোটোপ্লাস্ট ব্যবহার করা হয়। অবশ্য কোষ বা ক্যালাস অপেক্ষা প্রোটোপ্লাস্ট কালচার করে উদ্ভিদ রিজেনারেশন অনেক বেশি কষ্টসাধ্য। এই সমস্যার কারণে সোমাটিক হাইব্রিডাইজেশন এবং জিন স্থানান্তরের ক্ষেত্রে প্রোটোপ্লাস্টের ব্যবহার অনেকটা সীমিত হয়ে এসেছে। খাদ্যশস্যের ক্ষেত্রে এই সীমাবদ্ধতা আরও ব্যাপক কারণ সেখানে রিজেনারেশন পদ্ধতি প্রতিষ্ঠিত করা বেশ কঠিন। তথাপি সফল প্রোটোপ্লাস্ট কালচার তালিকায় দিন দিন উদ্ভিদ প্রজাতির সংখ্যা বৃদ্ধি পাচ্ছে।

উদ্ভিদ অঙ্গের কালচার

উদ্ভিদ দেহের কোন সুসংগঠিত অংশ যেমন- কাণ্ডাগ্র, মূলাগ্র, কাণ্ডাংশ, পাতা, ভ্রূণ ইত্যাদি উদ্ভিদ দেহের বাইরে কৃত্রিমভাবে সুনির্দিষ্ট কোন নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কালচার করে তাদের অঙ্গসংস্থানিক বিকাশ (Morphogenic development) ঘটানোর পদ্ধতিকে অঙ্গের (Organ culture) কালচার বলে।

কাণ্ডাগ্র কালচার (Shoot tip culture)

ভাজক কলা (Meristemic tissue) সমন্বিত কাণ্ডের শীর্ষস্থ (Terminal) অঞ্চলকে সাধারণভাবে কাণ্ডাগ্র (Shoot tip) বলা হয়। তবে কাণ্ডাগ্রের পরিধি ০.১-১.০মি.মি. হওয়া বাঞ্ছনীয়। কাণ্ডের একেবারে শীর্ষাংশে অবস্থিত মেরিস্টেম, প্রারম্ভিক কচিপাতা ও বিকাশমান পাতাসহ (Primordial and developing leaves) কাণ্ড সংলগ্ন সংশ্লিষ্ট অঞ্চলকে সাধারণত কাণ্ডাগ্র হিসাবে চিহ্নিত করা হয়। যে পদ্ধতিতে উদ্ভিদ দেহের বাইরে কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কাণ্ডাগ্র কালচার করে তা হতে পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ বিকাশের প্রচেষ্টা চালানো হয় তাকে কাণ্ডাগ্র কালচার (Shoot tip culture) বলে। ইহা একটি স্বাভাবিক টিস্যুকালচার পদ্ধতি।

মূলের কালচার (Root culture)

জীবাণুমুক্ত কালচার মিডিয়ামে সদ্য অঙ্কুরিত বীজের (Aseptically germinated seed) মূলাগ্র (Radicle tip) কর্তন করে জীবাণুমুক্ত ও নিয়ন্ত্রিত পরিবেশ বজায় রেখে কোন তরল মিডিয়ামে কালচার করে মূলতন্ত্রের বিকাশ ঘটানোকে মূলের কালচার (Root culture) বলে। মূলাগ্রের কালচার সাধারণত তরল মিডিয়ামে (Liquid medium) করা হয়। কালচার মিডিয়াম কর্তৃক আবিষ্ট হয়ে একটি একক মূলাগ্র, পরবর্তীতে বহু শাখা-প্রশাখা যুক্ত মূলতন্ত্র গঠন করে এবং নির্দিষ্ট সময় পর পর সাবকালচারের মাধ্যমে তা বহুদিন পর্যন্ত বজায় রাখা হয়। যখন অঙ্কুরিত বীজের মূলের দৈর্ঘ্য ২০ থেকে ৪০ মি.মি. হয় তখন সেই মূলের শীর্ষের ১০ মি.মি. কর্তিত (Excise) অংশ কালচারের জন্য বিশেষ উপযোগী। যে সমস্ত কালচার পাত্রে তা করা হয় সেগুলো কালচার কক্ষে (Culture room) ২৫° সে. তাপমাত্রায় ১৬ ঘণ্টা অন্ধকারে ও ৮ ঘণ্টা আলোতে রাখা হয়। কালচার মিডিয়ামে এক্স-প্লান্ট বা মূলাগ্র যাতে তরলে ডুবে না যায় সেজন্য অবলম্বন হিসাবে গ্লাস বল (Glass ball) বা ফিল্টার কাগজের সেতু (Filter paper bridge) ব্যবহার করা হয়। টমাটো, মটর, গাজর প্রভৃতি উদ্ভিদের মূলের কালচার সফলতার সাথে সম্ভব হয়েছে।

পর্ব খন্ডের কালচার (Nodal segment culture)

উদ্ভিদ দেহের কাণ্ড বা শাখা-প্রশাখার যে অঙ্গ হতে পাতা উৎপন্ন হয় তাকে পর্ব (Node) বলে। এই পর্ব বহনকারী কান্ডাংশকে পর্ব খণ্ড (Stem segment) বলে। এই পর্ব খন্ডের অক্ষের কাক্ষিক মুকুলকে অক্ষিলারি (Axillary bud) বলে। কাণ্ড বা শাখা-প্রশাখার শীর্ষদেশে বর্ধনশীল কচি পাতাসহ কান্ডাংশ, উদ্ভিদ দেহ থেকে বিচ্ছিন্ন করে অপ্রয়োজনীয় অংশ, যেমন- পাতা, কান্ডের পরিণত অংশ ইত্যাদি বাদ দিয়ে কেবল পর্ব বহনকারী খন্ডাংশ উপযুক্ত খাদ্য মাধ্যমে (Nutrient medium) জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কৃত্রিমভাবে কালচার করাকে পর্ব খন্ডের কালচার (Nodal segment culture) বলে।

পাতার কালচার (Leaf culture)

কান্ডের শীর্ষাংশে অবস্থিত অপরিণত কচি পাতা (Young leaves) যখন কৃত্রিমভাবে কোন খাদ্য মাধ্যমে জীবণুমুক্ত ও নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে কালচার করা হয় তাকে পাতার কালচার (Leaf culture) বলে। অধিকাংশ ক্ষেত্রে নিম্ন শ্রেণির উদ্ভিদ, যেমন- ফার্ন বা কখনও কখনও উচ্চশ্রেণির উদ্ভিদ, যেমন- তামাক, সূর্যমুখী প্রভৃতিতে এই প্রক্রিয়া ব্যবহৃত হয়ে থাকে।

ক্যালাস কালচার (Callus culture)

টিস্যু কালচার গবেষণায় উদ্ভিদ দেহের স্বাভাবিক ও সজীব বিভাজনক্ষম কোন কলা বা টিস্যুকে উদ্ভিদ দেহের বাইরে কৃত্রিম কালচার মিডিয়ামে বৃদ্ধি উদ্দীপক (উদ্ভিদ হরমোন) কর্তৃক উদ্দীপিত হয়ে যখন অসম বৃদ্ধি বা অসম গঠন সম্পন্ন কোষপুঞ্জের (Unorganized proliferative mass of cells) বিকাশ ঘটায় তখন তাকে ক্যালাস কালচার (Callus culture) বলে।

ক্যালাস কালচার রক্ষণাবেক্ষণ (Maitenance of callus culture)

ক্যালাস টিস্যুর বৃদ্ধি অব্যাহত এবং দীর্ঘ দিন একে সংরক্ষণ করতে মাঝে মাঝে কালচার মিডিয়াম বদলে দেবার প্রয়োজন হয় একে সাব-কালচার বলে। সাব-কালচার প্রক্রিয়ায় কালচারকৃত ক্যালাস টিস্যু সম্পূর্ণভাবে বা এর কিয়দাংশ কেটে নিয়ে তাকে পুনরায় নতুন মিডিয়ামে হরমোনের মাত্রা অপরিবর্তিত রেখে বা পরিবর্তিত বা অন্য মাত্রায় বার বার কালচার করে ক্যালাস টিস্যু কালচার প্রক্রিয়া রক্ষণাবেক্ষণ করা হয়। একটি নির্দিষ্ট সময় পর পর এই সাব-কালচার করা হয়ে থাকে।

কোষ কালচার (Cell culture)

উদ্ভিদ দেহের কোন টিস্যু, অঙ্গ বা কালচারকৃত ক্যালাস থেকে আলাদাকৃত কোন একক কোষ, যে বিশেষ পদ্ধতিতে উপযুক্ত খাদ্য মাধ্যমে জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কালচার করা হয় এবং তার বৃদ্ধি ঘটানো হয় তাকে কোষ কালচার বলে। কোষ কালচারের জন্য ব্যবহৃত টিস্যু বা অঙ্গ থেকে কোষ/কোষগুলির আলাদাকরণ প্রয়োজন। সাধারণত ২ ভাবে এই প্রক্রিয়া সম্পন্ন করা হয়-

১) **যান্ত্রিক উপায়ে (Mechanically) :** এই প্রক্রিয়ায় নির্বীজকৃত (Sterilized) কোন এক্সপ্লান্ট থেকে তীক্ষ্ণ ধারালো স্কালপেল (Scalpel) দিয়ে কোষগুলি চেঁছে (Scrap) আলাদা করা হয়। এরপর সেন্ট্রিফিউজ (Centrifuge) করে কোষগুলি একত্র করে, ফ্লাস্কে বা টিউবে নির্ধারিত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কোষগুলির একত্র কালচার করা হয় এবং তা থেকে পরবর্তীতে একক কোষ (Single cell) কালচার করা সম্ভব হয়।

২) **এনজাইমঘটিত উপায়ে (Enzymatically) :** উদ্ভিদের দেহকোষগুলি পাশাপাশি পেকটিনযুক্ত পদার্থের দ্বারা পরস্পর সংযুক্ত থাকে। তাই কোন নির্বীজকৃত টিস্যু থেকে কোষগুলি মুক্তকরণের জন্য অধিকাংশ ক্ষেত্রে পেকটিনেজ (Pectinase) এনজাইম প্রয়োগ করা হয়। এর ফলে কোষগুলি পরস্পর হতে আলাদা হয়ে যায়।

প্রোটোপ্লাস্ট কালচার (Protoplast culture)

উদ্ভিদকোষে, সেলুলোজ নির্মিত কোষপ্রাচীর ব্যতীত কোষের অবশিষ্ট অংশকেই প্রোটোপ্লাস্ট (Protoplast) বলে। সাইটোপ্লাজম, নিউক্লিয়াস এবং বিভিন্ন ধরণের কোষ অঙ্গাণু নিয়ে এই প্রোটোপ্লাস্ট গঠিত। একে জীবনের ভৌত ভিত্তি (Physical basis of life) হিসাবে চিহ্নিত করা হয়। যে বিশেষ 'ইন ভিট্রো' (*in vitro*) পদ্ধতিতে উদ্ভিদ দেহের কোন টিস্যু বা কোষ কালচার থেকে সজীব প্রোটোপ্লাস্ট আলাদা করে কোন উপযুক্ত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করা হয় তাকে সংক্ষেপে প্রোটোপ্লাস্ট কালচার বলে। এই প্রক্রিয়ায় কলা বা টিস্যু থেকে প্রোটোপ্লাস্ট মুক্তকরণের জন্য সাধারণত এনজাইমঘটিত বিক্রিয়ার প্রয়োজন হয়। এক্ষেত্রে প্রথমে টিস্যুকে পেকটিনেজ (Pectinase) এনজাইম প্রয়োগ করে টিস্যু থেকে (মিডল ল্যামেলা দ্রবীভূত করে) কোষগুলিকে পরস্পর আলাদা করা হয়। অতঃপর সেলুলোজ (Cellulase) এনজাইম যোগে কোষের প্রাচীর দ্রবীভূত (Dissolve) করা হয়। উল্লেখ্য যে, টিস্যুর প্রকৃতির উপর এনজাইমের ঘনমাত্রা ও প্রয়োগের সময়সীমা নির্ভরশীল। এই প্রক্রিয়ায় সুবিধাজনক দিকগুলো হচ্ছে ভিন্ন জিনযুক্ত (Genetically incompatible) উদ্ভিদ প্রজাতিসমূহের মধ্যে যেখানে স্বাভাবিক সংকরায়ন সম্ভব নয়, প্রোটোপ্লাস্ট সংযোগের (Protoplast fusion) মাধ্যমে স্বাভাবিক সংকর উদ্ভিদ তৈরি করা সম্ভব। জিন প্রকৌশলীতে, এই প্রক্রিয়ায় বিভিন্ন কাঙ্ক্ষিত বৈশিষ্ট্যের জিন, যেমন- রোগ প্রতিরোধক, উচ্চ ফলনশীল, নাইট্রোজেন সংবন্ধনকারী বা Nif জিন, খরা প্রতিরোধী জিন ইত্যাদি স্থানান্তর করে উদ্ভিদের বংশগতিতে উন্নয়ন (Improvement) সাধন করা সম্ভব। এছাড়াও অঙ্গজ বংশবিস্তারকারী উদ্ভিদে প্রোটোপ্লাস্ট সংযোগের মাধ্যমে জিনগত বিভিন্নতা আনা যায়। দূরসম্পর্কীয় উদ্ভিদের মধ্যে প্রোটোপ্লাস্ট সংযোগের মাধ্যমে সৃষ্ট সাইব্রিড (Cybrid) সংকর বীজ উৎপাদনে বিশেষ ভূমিকা রাখে।

ভ্রূণ কালচার (Embryo culture)

ডিম্বকের (Ovule) অভ্যন্তরে বিকশিত ভ্রূণকে জীবাণুমুক্ত উপায়ে পৃথক করে কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করে তা থেকে অনুচারা উৎপাদন প্রক্রিয়াকে ভ্রূণ কালচার বলে। এই প্রক্রিয়ায় শুধু পূর্ণ বিকশিত ভ্রূণই নয় বিকাশমান ভ্রূণের বিভিন্ন পর্যায়ক্রমিক অবস্থায় ভ্রূণকে কালচার করা হয়। বিভিন্ন পর্যায়ক্রমিক অবস্থায় ভ্রূণের কালচার সম্বন্ধে নিম্নে সংক্ষেপে বর্ণনা করা হলো :

(১) **পরিণত ভ্রূণের কালচার ঃ** বীজের অভ্যন্তরে বীজপত্র, ভ্রূণাক্ষ ও ভ্রূণমূলসহ সম্পূর্ণ বিকশিত ভ্রূণকে আলাদা করে কালচার করা যায়। এতে ভ্রূণের বিকাশমান অবস্থায় (বিশেষ করে বীজের অঙ্কুরোদগম, সুপ্তাবস্থা প্রভৃতিতে) বিভিন্ন বিপাকীয় ও জৈব রাসায়নিক প্রতিক্রিয়া সম্বন্ধে জানা যায়।

(২) **ভ্রূণ খণ্ডাংশের কালচার ঃ** পরিণত ভ্রূণকে ডিম্বক থেকে বিচ্ছিন্ন করে তা পুনরায় কতকগুলি (২-৩টি) খণ্ডে (Segment) বিভক্ত করে তা কালচার করা যেতে পারে। এতে করে কালচার মিডিয়াম ভ্রূণের বিভিন্ন খণ্ডাংশের পৃথক পৃথক প্রতিক্রিয়া তথা অনুচারা উৎপাদনের তুলনামূলক সক্ষমতা যাচাই করা হয়।

(৩) **অপরিণত ভ্রূণ বা প্রো-এমব্রায়ো কালচার ঃ** সদ্য বিকশিত ভ্রূণ, যা সাধারণত গ্লোবিউলার বা হার্টশেপ আকৃতির হয়, ভ্রূণের সেই প্রারম্ভিক অবস্থাকে প্রোএমব্রায়ো বা অপরিণত ভ্রূণ বলে। প্রোএমব্রায়ো কালচারের উদ্দেশ্য হচ্ছে দ্রুত পরিবর্তনশীল ও বর্ধনশীল এই স্তরে কোষবিভাজনের উৎস ও নিয়ন্ত্রণ, বিভিন্ন পুষ্টিগত চাহিদা প্রভৃতি পরিণত ভ্রূণবিকাশে কীভাবে সহায়তা করে, তা জানা যায়।

(৪) **বীজস্থ অবিকশিত (Undifferentiated) ভ্রূণের কালচার ঃ** এ ধরণের কালচার অর্কিডে করা হয়। অর্কিডের ফলের অভ্যন্তরে অসংখ্য ক্ষুদ্রাতিক্ষুদ্র স্পোরের ন্যায় বীজ দেখা যায়। বীজগুলি অপরিপক্ক ও অপরিণত ডিম্বক ছাড়া কিছুই নয়। বীজগুলি ফলের অভ্যন্তরে কোষপুঞ্জের সৃষ্টি করে। বীজগুলি থেকে কোন সুগঠিত ভ্রূণ তৈরি হয় না। কারণ বীজের অভ্যন্তরে ভ্রূণের পুষ্টি সাধনে কোন সঞ্চিত কলা (Storage tissue) না থাকায় ভ্রূণের বিকাশ বাধাগ্রস্থ হয়।

পরাগধানী কালচার (Anther culture)

যে বিশেষ কৌশলের মাধ্যমে পুষ্পমঞ্জরী (Inflorescence) থেকে সংগ্রহকৃত অপ্রস্ফুটিত পুষ্পমুকুলের (Flower bud) অভ্যন্তরস্থ বিকশিত পরাগধানীকে একটি বিশেষ দশায়, কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে ও জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কালচার করা হয় তাকেই পরাগধানী কালচার বলে। সাধারণত পুষ্পমঞ্জরী থেকে অপরিণত পুষ্পমুকুল (যেগুলো সম্পূর্ণ অপ্রস্ফুটিত) সংগ্রহ করে ল্যাবরেটরিতে বিশেষ উপায়ে পরাগধানী আলাদা করে কালচার করা হয়। এই প্রক্রিয়ার শুরুতে সংগ্রহকৃত পুষ্পমুকুল ভালভাবে ডিটারজেন্ট দিয়ে পরিষ্কার ও নির্বীজকরণ (Sterilized) করা হয়। অতঃপর ইনোকুলেশন চেম্বারে ল্যামিনার এয়ার ফ্লো এর সামনে জীবাণুমুক্ত পরিবেশে নির্বীজকৃত যন্ত্রপাতির সাহায্যে পুষ্পমুকুল থেকে অতি সাবধানতার সাথে (যাতে পরাগধানীর কোন ক্ষতি না হয়) পরাগধানী গুলি আলাদা করা হয় এবং উপযুক্ত পরাগধানী নির্বাচন করে নির্ধারিত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে তা কালচার করা হয়। পরাগধানী থেকে ভ্রূণের উৎপাদনের জন্য সাধারণত সম্পূর্ণ পরাগধানী কালচার করা হয়। অধিকাংশ ক্ষেত্রে এই নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে নারকেলের পানি, অক্সিন ও সাইটোকাইনিন এককভাবে বা বিভিন্ন মিশ্রণে ব্যবহার করা হয়। এই প্রক্রিয়ায় কালচারকৃত পরাগধানী হতে ক্যালাস বা ভ্রূণ বিকশিত হয়ে হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদের সৃষ্টি হয়।

পরাগরেণু কালচার (Pollen culture)

পরাগধানী থেকে এক নিউক্লিয়াসযুক্ত (Uninucleate) পরাগরেণুগুলি পৃথক করে কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করাকে পরাগরেণু কালচার বলে। কালচারকৃত পরাগরেণু হতে অর্গানোজেনেসিস বা এমব্রায়োজেনেসিস প্রক্রিয়ায় হ্যাপ্লয়েড ভ্রূণ তৈরি হয়। কার্যক্ষম পরাগরেণু (Functional pollen grain) থেকে যে ধারাবাহিক কোষবিভাজন ও বিভক্তিকরণের (Differentiation) মাধ্যমে হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদের বিকাশ ঘটে এই প্রক্রিয়াকে বলে এন্ড্রোজেনেসিস (Androgenesis)। এন্ড্রোজেনেসিস ২ ধরণের হতে পারে।

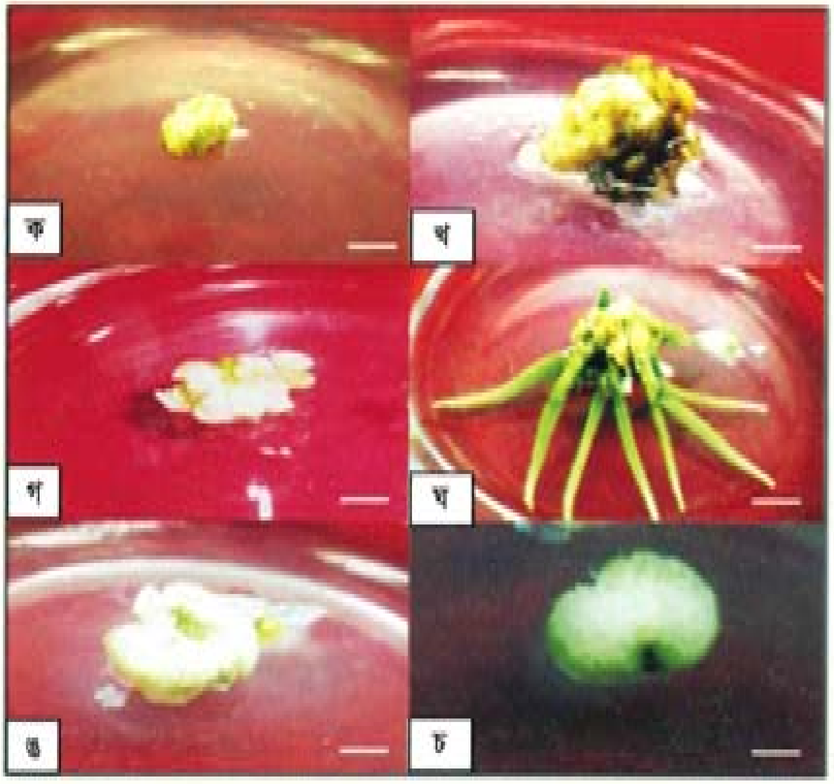
(ক) **প্রত্যক্ষ এন্ড্রোজেনেসিস (Direct androgenesis) ঃ** যেখানে এক নিউক্লিয়াসযুক্ত পরাগরেণু থেকে এমব্রায়োজেনেসিসের মাধ্যমে সরাসরি হ্যাপ্লয়েড ভ্রূণ তৈরি হয়। এখানে পরাগরেণু জাইগোটের ন্যায় আচরণ করে এবং পরিবর্তিত হয়ে ভ্রূণ তৈরি করে।

(খ) **পরোক্ষ এন্ড্রোজেনেসিস (Indirect androgenesis)** ঃ এখানে পরাগরেণু পুনঃ পুনঃ অসমভাবে বিভাজিত হয়ে ক্যালাস গঠন করে, উদ্ভূত ক্যালাস থেকে হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদ তৈরি হতে পারে।

অর্গানোজেনেসিস (Organogenesis)

অঙ্গ উৎপাদনের প্রক্রিয়াকে অর্গানোজেনেসিস বলে। তবে টিস্যু কালচারের ভাষায় সাধারণত কোন কালচারকৃত ক্যালাস টিস্যু থেকে কোন অস্থানিক অঙ্গের (Adventition organ, i.e. shoot and root) উদ্ভব ও বিকাশ হওয়ার পদ্ধতিকে অর্গানোজেনেসিস (Organogenesis) বা অঙ্গবিকাশ বলে।

এই প্রক্রিয়ায় সর্বপ্রথম উদ্ভিদ দেহের কোন সজীব অংশ (যেমন মূল বা কান্ডের খন্ডাংশ, পাতার খন্ডাংশ, পরাগরেণু, ভ্রূণ প্রভৃতি) থেকে ক্যালাস উৎপন্ন করা হয়। অতঃপর ঐ ক্যালাসকে পৃথক পৃথক মিডিয়ামে বিভিন্ন মাত্রার হরমোন যোগে পুনরায় কালচার করা হয়। ক্যালাস থেকে কোন অঙ্গের বিকাশ অনেকাংশে হরমোনের (অক্সিন-সাইটোকাইনিন) সঠিক অনুপাতের উপর নির্ভরশীল। সাধারণত সাইটোকাইনিনের মাত্রা বেশি হলে মুকুল (Shoot bud) এবং অক্সিনের মাত্রা বেশি হলে ক্যালাস থেকে মূল (Root) উৎপন্ন হতে দেখা যায়।



চিত্র ঃ রাবার উদ্ভিদের ক্যালাস টিস্যু থেকে অঙ্গের বিকাশ।

উদ্ভিদ টিস্যু কালচার গবেষণায় অঙ্গবিকাশ-এর এক বিশেষ গুরুত্ব রয়েছে। ক্যালাস আবিষ্টকরণের (Induction) অন্যতম উদ্দেশ্য হলো তার পুনরুৎপাদন (Regeneration) ক্ষমতা যাচাই করা। কেননা ক্যালাস কালচার থেকে অঙ্গজ ভ্রূণের (Vegetative) উৎপত্তি হতে দেখা যায়, যা পরবর্তিতে মূল ও কান্ড সৃষ্টির মাধ্যমে পূর্ণ বিকাশিত হয়ে সম্পূর্ণ উদ্ভিদ গঠন করে।

এমব্রায়োজেনেসিস (Embryogenesis)

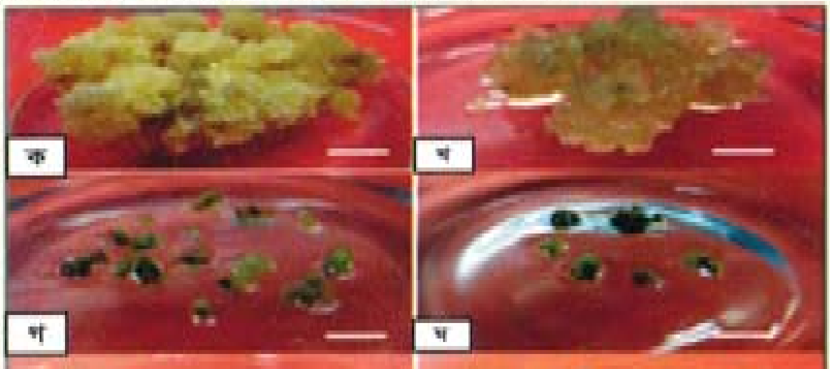
গুপ্তবীজী উদ্ভিদে ডিম্বাশয়ের অভ্যন্তরে ডিম্বকের পরিস্ফুটন ঘটে। আবার ডিম্বকের অন্তর্গত ভ্রূণস্থলীর মধ্যে ভ্রূণ ও ভ্রূণপোষক কলার (Nucellus) পরিস্ফুটন যুগপৎভাবে ঘটে। গুপ্তবীজী উদ্ভিদে নিষেক প্রক্রিয়ায় দুটি হ্যাপ্লয়েড জনন কোষ অর্থাৎ পুংজনন কোষ ও স্ত্রীজনন কোষ মিলিত হয়ে এককোষী জাইগোট (Unicellular zygote) গঠন করে। এই ডিপ্লয়েড জাইগোট মাইটোসিস বিভাজনের মাধ্যমে পরবর্তীতে বহুকোষী ভ্রূণ (Multicellular embryo) গঠন করে। নিষেক প্রক্রিয়ায় সৃষ্ট জাইগোট থেকে ভ্রূণ উৎপন্ন হলে তাকে বলা হয় জাইগোটিক ভ্রূণ (Zygotic embryo) এবং ভ্রূণ উৎপন্ন হবার এই প্রক্রিয়াকে বলা হয় ভ্রূণৎপত্তি বা এমব্রায়োজেনেসিস।

সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস (Somatic embryogenesis)

যে বিশেষ প্রক্রিয়ায় (সাধারণত ক্যালাস কালচারের মাধ্যমে) উদ্ভিদের সক্ষম দৈহিক কোষ বা কলা থেকে স্বাভাবিক ভ্রূণের (Zygotic embryo) ন্যায় অসংখ্য ক্ষুদ্র, সুগঠিত, দ্বিমেরুবিশিষ্ট (Bipolar) ভ্রূণের বিকাশ ঘটে তাকে সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস বলে। ক্যালাস টিস্যু থেকে ভ্রূণ উৎপাদনে সক্ষম দৈহিক কোষগুলির এমব্রায়োজেনিক পটেনশিয়াল (Embryogenic potential) রয়েছে বলেই তারা এমনটি করতে পারে। সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসকে ২ ভাগে ভাগ করা যায়।

১) প্রত্যক্ষ এমব্রায়োজেনেসিস (Direct embryogenesis) ঃ যখন কালচারকৃত উদ্ভিদাংশের (Explant) দৈহিক কোষ বা কলা ক্যালাস উৎপাদন ব্যতিরেকে সরাসরি তার আদিভ্রূণ নির্দেশক কোষগুলি (Proembryo determined) থেকে ভ্রূণের বিকাশ ঘটায় তাকে প্রত্যক্ষ এমব্রায়োজেনেসিস বলে।

২) পরোক্ষ এমব্রায়োজেনেসিস (Indirect embryogenesis) ঃ যখন কালচারকৃত উদ্ভিদাংশে হতে সৃষ্ট ক্যালাসের কোষগুলি থেকে ভ্রূণের বিকাশ ঘটে তাকে পরোক্ষ এমব্রায়োজেনেসিস বলে।



চিত্র ঃ বাবার উদ্ভিদের ক্যালাস টিস্যু থেকে এমব্রায়োজেনেসিস প্রক্রিয়ায় চারা উৎপাদন।

সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসের গুরুত্ব

১। সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিসের মাধ্যমে বহুসংখ্যক এমব্রায়োডের উৎপত্তি ও বিকাশ লাভের দ্বারা একই সময়ে প্রচুর সংখ্যক অনুচারা পাওয়া যায়।

২। ভ্যারিয়েশনযুক্ত উদ্ভিদসমুহ থেকে কাঙ্ক্ষিত চরিত্রযুক্ত উদ্ভিদ নির্বাচন করা যেতে পারে।

৩। এমব্রায়োডগুলি দ্বি-মেরুবিশিষ্ট (Bipolar) হওয়ায় সরাসরি অনুচারা উৎপাদন করতে পারে ফলে কান্ড ও মূল উৎপাদনের জন্য আলাদাভাবে কোন প্রক্রিয়াগত ধাপ অনুসরন করতে হয় না।

৪। সোমাটিক এমব্রায়োডগুলি একক দৈহিক কোষ থেকে উদ্ভূত হওয়ায়, মিউটেশন ঘটিত পরীক্ষা নিরীক্ষায় এগুলির বিশেষ গুরুত্ব আছে।

৫। উদ্ভূত এমব্রায়োডগুলি অধিকাংশ ক্ষেত্রে রোগজীবাণুমুক্ত হয়।

টিস্যু কালচার পদ্ধতি

উদ্ভিদের টিস্যু কালচারের গুরুত্বপূর্ণ পর্যায় ক্রমিক ধাপ সমূহ

টিস্যু কালচার পদ্ধতির প্রধান নিয়ামক

এক্সপ্লান্ট বা উদ্ভিদ সামগ্রী সংগ্রহ (Collection of plant materials)

গবেষকের চাহিদানুযায়ী কালচার করার জন্য কোন নির্ভরযোগ্য উৎস থেকে সংশ্লিষ্ট উদ্ভিদের সজীব টিস্যু বা অঙ্গ অর্থাৎ এক্সপ্লান্ট (Explant) সংগ্রহ করা হয়। কালচার করার জন্য উদ্ভিদের বিভাজনশীল অংশসমূহকে বিশেষ গুরুত্ব দেয়া হয়। সংগ্রহকৃত উদ্ভিদাংশ বা এক্স-প্লান্ট হতে ব্যবহৃত অংশ রেখে অব্যবহৃত অংশ বাদ দেয়া হয়। ব্যবহৃত এক্সপ্লান্ট গুলির পৃষ্ঠ সংলগ্ন ধুলি-ময়লা বা বিভিন্ন জীবাণু মুক্তকরণের উদ্দেশ্যে সেগুলোকে ফ্লাস্কে নিয়ে প্রথমে ট্যাপ ওয়াটার এবং পরে কয়েক ফোঁটা তরল ডিটারজেন্ট (যেমন Tween-80) দিয়ে ৫-১০ মিনিট পাতিত জলে (Distilled water) ভালভাবে ধুয়ে নিতে হয় যাতে সেখানে কোন ফেনা বা ময়লা জাতীয় পদার্থ না থাকে। পরিষ্কার এক্সপ্লান্ট গুলিকে একটি পরিষ্কার ফ্লাস্কে পরবর্তী কার্যক্রমের উদ্দেশ্যে সংগ্রহ করে রাখা হয়। পরবর্তী কার্যক্রম ইনোকুলেশন চেম্বারে সম্পন্ন করা হয়।

জীবাণুমুক্ত পরিবেশ (Aseptic Environment)

জীবাণুমুক্ত পরিবেশ টিস্যু কালচার কার্যক্রমের পূর্বশর্ত। কালচার করার পূর্বে ব্যবহৃত উদ্ভিদ সামগ্রী (Plant material) সহ ব্যবহৃত সকল যন্ত্রপাতি ও কালচার মিডিয়া জীবাণুমুক্ত থাকা এবং সমগ্র কালচার প্রক্রিয়াটিতে জীবাণুমুক্ত অবস্থা (Aseptic condition) বজায় রাখা একান্ত প্রয়োজন। কালচার পাত্রসহ সকল যন্ত্রপাতি ব্যবহারের পূর্বে ভালভাবে ডিটারজেন্ট (Detergent) দিয়ে পরিষ্কার করে পাতিত জলে (Distilled water) কয়েকবার ধুতে হয়। ল্যাবরেটরিতে সাধারণত প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতিসমূহ ধৌতকরণের পরে (প্রতি বর্গ ইঞ্চিতে ১৫ পাউন্ড চাপে এবং ১২১° সেন্টিগ্রেড তাপমাত্রায় ১৮-২০ মিনিট) অটোক্লেভে (Autoclave) রেখে জীবাণুমুক্ত করা হয়।

নির্বীজিকরনের বিভিন্ন কৌশল

কৌশল	নির্বীজিকৃত দ্রব্য/দ্রব্যসামগ্রী
বাষ্পীয়/অটোক্লেভ	খাদ্য মিডিয়াম, কালচার ভেসেল, গ্লাসওয়ার এবং প্লাস্টিক দ্রব্যাদি।
তাপ (১৬০-১৮০° সেন্টিগ্রেড, ৩ ঘণ্টা)	যন্ত্র (স্কালপেল ব্লেড, ফরসেপ, নিডল, গ্লাসওয়ার, পিপেট টিপ এবং প্লাস্টিক সামগ্রী ইত্যাদি)।
ফ্লেম নির্বীজিকরণ	যন্ত্র (স্কালপেল ব্লেড, ফরসেপ, নিডল, গ্লাসওয়ার, কালচার বোতল মুখ ইত্যাদি)।
ফিল্টার নির্বীজিকরণ	মেমব্রেন ফিল্টার, সেলুলোজ নাইট্রেট অথবা সেলুলোজ এমিনো এসিড, ভিটামিন এবং এনজাইম এসিটেট তৈরি ০.২২-০.৪৫ মাইক্রোমোল ছিদ্র বিশিষ্ট (তাপ অসহিষ্ণু যন্ত্র)।
বহিরাবরন নির্বীজিকরণ	সোডিয়াম হাইপোক্লোরাইট, হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড, মারকিউরিক ক্লোরাইড ইত্যাদি।

কালচার মিডিয়াম (Culture medium) বা আবাদ মাধ্যম

উদ্ভিদের কোষ, কলা বা অঙ্গের যথাযথ বৃদ্ধির জন্য উপযুক্ত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়াম (Suitable nutrient medium) বিশেষ প্রয়োজন। কৃত্রিমভাবে যে নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে, উদ্ভিদের সজীব কোন অংশকে উদ্ভিদ দেহের বাইরে (জীবাণুমুক্ত ও নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে) কালচার করে তার বৃদ্ধি ঘটানো যায় তাকে কালচার মিডিয়াম বলে। এই কালচার মিডিয়াম কৃত্রিমভাবে বিভিন্ন ধরণের অজৈব লবন, ভিটামিন, এমিনো এসিড, সুক্রোজ ও বৃদ্ধি উদ্দীপক বা বিভিন্ন উদ্ভিদ হরমোনের

সমম্বয়ে গঠিত। এখানে ব্যবহৃত অজৈব লবনকে ২ ভাবে ভাগ করা হয়, প্রথমটি ম্যাক্রোসল্ট (Macrosalt) যা উদ্ভিদের স্বাভাবিক বৃদ্ধি ও বিকাশে বেশি মাত্রায় প্রয়োজন হয়, যেমন- নাইট্রোজেন, ফসফরাস, পটাশিয়াম, সালফার, ম্যাগনেশিয়াম প্রভৃতি। অপরটি মাইক্রোসল্ট (Microsalt) যা উদ্ভিদে খুব সামান্য পরিমাণে ব্যবহৃত হয়, যেমন- ম্যাঙ্গানিজ, জিংক, বোরন, কপার ইত্যাদি।

পুষ্টি মাধ্যমের উপাদান সমূহ (Component of culture medium)

টিস্যু আবাদের পুষ্টি মাধ্যম বিভিন্ন প্রকার অজৈব ও জৈব উপাদানের সংমিশ্রণে তৈরি। আবাদের পুষ্টি উপাদান গুলোকে প্রধানত নিম্নোক্তভাবে ভাগ করা যায় ঃ

১) **বৃহৎ পুষ্টি উপাদান ঃ** ক্যালসিয়াম, নাইট্রোজেন, পটাশিয়াম, ম্যাগনেসিয়াম, ফসফসার, সালফার। এ উপাদান গুলো বেশি পরিমানে ব্যবহৃত হয়।

২) **ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান ঃ** বোরন, ক্লোরিন, কোবাল্ট, ম্যাঙ্গানিজ, কপার, মলিবডেনাম, জিংক। এ উপাদান গুলো কম পরিমানে ব্যবহৃত হয়।

৩) **আয়রনের উৎস ঃ** টিস্যু আবাদ মিডিয়ামে ব্যবহৃত আয়রনের যৌগটি হলো $FeSO_4.7H_2O$ বা $FeEDTA.3\ H_2O$ এর সাথে Na_2EDTA অর্থাৎ ফেরাস সালফেটের সাথে ডাই-সোডিয়াম ইথাইলিন-ডাই-অ্যামাইনো-টেট্রা-অ্যাসিটিক এসিড।

৪) **ভিটামিন ও জৈব উপাদান ঃ** এডেনিন (ভিটামিন বি$_৮$), বায়োটিন, সায়ানোকোবালিমিন (ভিটামিন বি$_{১২}$), ফলিক এসিড, ইনোসিটোল (মায়ো-ইনোসিটোল), নিকোটিনিক এসিড (নিয়াসিন), পাইরিডক্সিন (ভিটামিন বি$_৬$), রিবোফ্লাবিন (ভিটামিন বি$_২$), থায়ামিন (ভিটামিন বি$_১$), এসকরবিক এসিড (ভিটামিন সি), টোকোফেরল (ভিটামিন ই)।

৫) **এমিনো এসিড ঃ** প্রটোপ্লাস্ট কালচার এবং সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস খাদ্য মিডিয়ামে এমিনো এসিড কোষের বৃদ্ধিতে গুরুত্বপূর্ণ ভূমিকা রাখে। টিস্যু কালচার গবেষণায় এমিনো এসিড হিসাবে গ্লাইসিন প্রায়সই ব্যবহৃত হয়। তবে গবেষণার প্রকৃতি অনুযায়ী বিভিন্ন ধরনের এমিনো এসিড, যেমন- এসপারটিক এসিড, গ্লুটামিক এসিড, আরজিনিন, প্রোলিন, লাইসিন, এলানিন, ট্রিপ্টোফ্যান প্রভৃতি ব্যবহৃত হয়।

৬) **কমপ্লেক্স অর্গানিক ঃ** ক্ষেত্র বিশেষে খাদ্য মিডিয়ামে কিছু কিছু অনির্দিষ্ট জৈব যোগ করা হয়। যেমন- ক্যাসিন হাইড্রোলাইসেট, কোকোনাট মিল্ক, ইস্ট এক্সট্রাক্ট ইত্যাদি।

৭) **এক্টিভেটেট চারকোল ঃ** টিস্যুকালচার খাদ্য মিডিয়ামে ব্যবহৃত এক্টিভেটেট চারকোল কালচার বৃদ্ধিতে সহায়তা করে তবে কোন কোন ক্ষেত্রে বৃদ্ধি রহিতও করে। যেমন- অর্কিড, ক্যারট, টমেটো ইত্যাদির কালচার বৃদ্ধিতে সহায়তা করে অন্যদিকে সয়াবিন, তামাক ইত্যাদির কালচার রহিত করে। এছাড়া কালচারে নিঃসরিত ফেনোলিক ও বাদামি-কালো পিগমেন্ট শোষণে ভূমিকা রাখে। এটি খাদ্য মিডিয়ামকে কালো অবস্থায় রাখে বিধায় শিকড় গজানো প্রক্রিয়াকে ত্বরান্বিত করে।

৮) **কার্বনের উৎস ঃ** সুক্রোজ, ম্যানিটল, সরবিটল এবং হ্যাক্সিটল।

৯) টিস্যু আবাদের বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক দ্রব্য সমূহ

বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক দ্রব্য সমূহকে হরমোনও বলা হয় যারা উদ্ভিদের বৃদ্ধি ও বিকাশে প্রভাবক হিসেবে ভূমিকা রাখে। বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক দ্রব্য সমূহ একটি নির্দিষ্ট দ্রাবকে দ্রবীভূত হয়। প্রধান প্রধান বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক দ্রব্যগুলো হলো অক্সিন, সাইটোকাইনিন, জিবরালিন, ইথিলিন এবং অ্যাবসিসিক এসিড।

অক্সিন

১৯৩৪ সালে কোগল (Kogl) ও তার সহকর্মীগণ প্রথম অক্সিন পৃথককরণ, ক্যালাসায়িতকরণ এবং রাসায়নিক বিশ্লেষণ করতে সক্ষম হন। তার এই অক্সিনের নাম দেন ইনডোল-৩-অ্যাসিটিক এসিড। পরবর্তীতে বেশ কয়েকটি কৃত্রিম অক্সিন আবিষ্কার করা হয় যা উদ্ভিদের টিস্যু আবাদে ব্যবহার করা হয়। পুষ্টি মাধ্যমে বিভিন্ন মাত্রার ও বিভিন্ন প্রকারের অক্সিন বিভিন্ন ধরণের অঙ্গসংস্থানিক সাড়া দিয়ে থাকে। সাইটোকাইনিনের সাথে অক্সিনের আনুপাতিক প্রয়োগের উপর উদ্ভিদের অঙ্গসংস্থানিক সাড়া নির্ভর করে। মিলার এবং স্কুগ (১৯৫৭) তামাকের মজ্জাটিস্যু আবাদের ক্ষেত্রে দেখেন যে অধিক মাত্রার অক্সিন এবং কম মাত্রার সাইটোকাইনিন মূল সৃষ্টিতে সহায়ক। এর বিপরীত অনুপাত বিটপ উৎপাদনে ভূমিকা রাখে। অধিকাংশ অক্সিন তাপ সহিষ্ণু অর্থাৎ ১১০-১২০° সে. তাপমাত্রায় ৫০-৬০ মিনিট পর্যন্ত নির্বীজন করা হলেও এর কার্যক্ষমতা নষ্ট হয় না। তাই সাধারণত পুষ্টি মাধ্যম নির্বীজন করার পূর্বে এতে অক্সিন যোগ করা হয়। প্রধান প্রধান অক্সিনগুলো হলো-

১. IAA (ইনডোল-৩-অ্যাসিটিক অ্যাসিড)।

২. IBA (ইনডোল-৩-বিউটারিক অ্যাসিড)।

৩. NAA (ন্যাপথালিন অ্যাসিটিক অ্যাসিড)।

৪. 2,4-D (২,৪-ডাইক্লোরো ফেনোক্সি অ্যাসিটিক অ্যাসিড)।

সাইটোকাইনিন

১৯৫৫ সালে মিলার ও তার সহকর্মীগণ হেরিং নামক সামুদ্রিক মাছের শুক্রাণুর ডিএনএ থেকে অ্যাডেনিন যুক্ত উদ্দিপক দ্রব্য ৬-ফিউরাইল অ্যামাইনো পিউরিন পৃথক করেন এবং এর নাম দেন কাইনেটিন। ১৯৬১ সালে মিলার ভুট্টার কচি শাঁসে কাইনেটিনের বৈশিষ্ট্য সম্পন্ন রাসায়নিক উপাদান সনাক্ত করেন যাকে ১৯৬৩ সালে বিজ্ঞানী লেথাম নাম দেন জিয়াটিন। ১৯৭৪ সালে লেথাম নারিকেলের পানিতে রাইবোসিল জিয়াটিন আবিষ্কার করেন। জিয়াটিন হলো প্রাকৃতিক সাইটোকাইনিন এছাড়া রয়েছে কৃত্রিম ভাবে সংশ্লেষিত সাইটোকাইনিন। সাইটোকাইনিনের অন্যতম উদ্দিপক ক্ষমতা হলো আবাদ টিস্যুকে অঙ্গসংস্থানিক দিক নির্দেশনা দেওয়া। প্রধান প্রধান সাইটোকাইনিন গুলো হলো-

১. BAP (৬-বেনজাইল অ্যামাইনো পিউরিন)।

২. BA (বেনজাইল অ্যাডেনিন)।

৩. Kinetin (৬-ফুরফুরাইল অ্যামাইনো পিউরিন)।

৪. Zeatin (জিয়াটিন)।

৫. DMAP (ডাই মিথাইল অ্যামাইনো পিউরিন)।

৬. 2-ip (২-আইসো পেন্টাইল অ্যাডেনিন)।

জিবরালিন

এখন পর্যন্ত ৬০ টি জিবরালিন আবিষ্কার হয়েছে, তবে উদ্ভিদ টিস্যু আবাদে সাধারণত GA_3 ব্যবহার করা হয়। কোষের দীর্ঘায়ন এবং বীজের সুপ্ততা ভাঙনে এর ভূমিকা রয়েছে। যদিও জিবরালিন উদ্ভিদ টিস্যু আবাদে ব্যবহার করা হলেও এটা ক্যালাস বৃদ্ধিতে প্রতিবন্ধকতা সৃষ্টি করতে পারে কিন্তু ভাজক কোষ আবাদে শুট প্রিমর্ডিয়া গঠনের পর আবাদের দৈহিক বৃদ্ধি ও সংখ্যা বৃদ্ধিতে ভূমিকা রাখে।

অ্যাবসিসিক অ্যাসিড

অ্যাবসিসিক অ্যাসিড ভ্রূণ আবাদ এবং সোমাটিক এমব্রায়োজেনেসিস এ বিশেষ উপকারী। অ্যাবসিসিক অ্যাসিড তাপমাত্রায় স্থিতিশীল থাকলেও আলোক সংবেদনশীল। এটি একটি বৃদ্ধি প্রতিবন্ধক হরমোনও, ধীর বৃদ্ধির মাধ্যমে টিস্যু আবাদ দীর্ঘ দিন সংরক্ষণ করতে সাধারণত এটি ব্যবহৃত হয়।

১০) টিস্যু আবাদের পুষ্টি মাধ্যমের জমাটকারী পদার্থ (Geling agent)

অ্যাগার পাউডার যা বিশেষ এক প্রকার লোহিত শৈবাল থেকে প্রস্তুত হয়। তাপে গলে যাওয়া, কক্ষ তাপমাত্রায় অর্ধকঠিন পদার্থে রূপান্তরিত হওয়া এবং রাসায়নিক নিষ্ক্রিয়তা এই তিনটি গুণাবলীর জন্য বিশুদ্ধ অ্যাগার পাউডার টিস্যু আবাদ কাজে অবলম্বন হিসেবে ব্যবহৃত হয়ে আসছে। পুষ্টি মাধ্যমের pH এর মাত্রার উপর অ্যাগার ঘনত্বের তারতম্য ঘটে থাকে। মাধ্যমের pH ৪.৫ এর কম হলে অ্যাগার জমতে পারে না। টিস্যু আবাদ গবেষণায় সাধারণত ০.৬-০.৮% অ্যাগার পাউডার ব্যবহার করা হয় যা মিডিয়ামকে সহজেই অর্ধকঠিন অবস্থায় রাখতে পারে। এই মাত্রা উদ্ভিদ টিস্যু এবং মাধ্যমে অবস্থিত পুষ্টি উপাদানের মধ্যে সঠিক সংযোগ স্থাপন করতে পারে এবং খাদ্য উপাদান সহজে টিস্যুতে পৌঁছাতে পারে। মাধ্যমে অ্যাগারের পরিমাণ সঠিক মাত্রার নিচে হলে উদ্ভিদ টিস্যু মাধ্যমের মধ্যে ডুবে যায় ফলে অক্সিজেনের অভাব ঘটে। অপরদিকে এর মাত্রা বেশি (১.০-১.২%) হলে অভিস্রবণের হার বৃদ্ধি পায় এবং টিস্যু বিনষ্ট হয়। জেলরাইট নামক অপর একটি পলিস্যাকারাইড পাউডার বাণিজ্যিক ভাবে পাওয়া যায় যা আবাদ মাধ্যমকে অর্ধকঠিন অবস্থায় রাখতে সক্ষম। জেলরাইট *Pseudomonas* নামক ব্যাকটেরিয়া থেকে প্রস্তুত করা হয়। এছাড়া রয়েছে জিলান, ফাইটাজেল, অ্যাগারজেল (অ্যাগার ও ফাইটাজেলের মিশ্রণে তৈরি)। বাণিজ্যিক ভাবে উৎপাদিত জেলরাইট প্রতি লিটার দ্রবণে ২.৭৫-২.৭৮ গ্রাম পর্যন্ত হতে পারে।

১১) পুষ্টি মাধ্যমের pH

pH দ্বারা পুষ্টি মাধ্যমের অম্লত্ব বা ক্ষারত্ব নির্দেশ করে। হাইড্রোজেন আয়নের ঘনত্বের বিপরীত লগারিদমকে pH বলা হয়। প্রকৃতপক্ষে pH হলো একটি স্কেল যার মাধ্যমে দ্রবণটি কতটা অম্লীয় বা ক্ষারীয় তা নিরূপন করা যায়। pH ৭ কে নিরপেক্ষ হিসেবে ধরা হয়। যদি কোনো দ্রবণের pH ৭ এর নিচে হয় তাহলে দ্রবণটি অম্লীয় এবং বিপরীত হলে ক্ষারীয়। ডেনিস রসায়নবিদ এস পি এল সরেনসেন (S.P.L. Sorensen) ১৯০৯ সালে pH আবিষ্কার করেন। এর পূর্ণরূপ হলো Power of hydrogen অথবা Potential for hydrogen। আবাদ মাধ্যমের pH একটি গুরুত্বপূর্ণ বিষয়। এটি উদ্ভিদের বৃদ্ধির জন্য প্রয়োজন এমন পুষ্টি উপাদানের শোষণকে প্রভাবিত করে। অন্যদিকে pH অতি নিম্ন বা উচ্চ হলে তাপীয় নির্বীজনের সময় অ্যাগার বা জেলরাইটের হাইড্রোলাইসিস ঘটতে পারে। তাই পুষ্টি মাধ্যমের পরিমিত pH রাখা বাঞ্ছনীয়। বিভিন্ন উদ্ভিদে pH এর মান ৪.৮-৬.০ হলে সর্বাধিক আয়নের শোষণ ঘটে। মাধ্যমের pH ৪ এর নিচে অথবা ৮ এর উপরে হলে টিস্যু আবাদ ব্যাহত হয়। উদ্ভিদের টিস্যু আবাদ মাধ্যমের pH এর মান মোটামুটি ৫.৭ ± ০.১ রাখা উচিত।

পুষ্টি মাধ্যমের কার্যরূপ

উদ্ভিদের বিভাজনক্ষম কোষ, টিস্যু বা অঙ্গ হতে টিস্যু আবাদকরণের প্রক্রিয়ায় সাধারণত জীবাণুমুক্ত কৃত্রিম আবাদ মাধ্যম (জমাটবদ্ধ বা তরল) ব্যবহার করা হয়। এককভাবে কোনো মিডিয়ামই সকল কলার বৃদ্ধিতে সমান সহায়ক নয়। উদ্ভিদের বিভিন্ন অংশের আবাদের উপর ভিত্তি করে বিভিন্ন কার্যরূপের মিডিয়াম ব্যবহার করা হয়। যেমন, জমাটবদ্ধ মিডিয়ামে উদ্ভিদ দেহের নানারকম টিস্যু এবং অঙ্গের কালচার করা হয়। আবার তরল মিডিয়ামে সাসপেনশন অবস্থায় কোষ কালচার করা হয়। স্থির তরল মিডিয়ামে কখনও কখনও মূলের কালচারের জন্য ব্যবহার করা হয়। সুনির্দিষ্ট টিস্যু আবাদ মাধ্যম উদ্ভিদ টিস্যু এবং মাধ্যমে অবস্থিত পুষ্টি উপাদানের মধ্যে সঠিক সংযোগ স্থাপন এবং খাদ্য উপাদান যাতে সহজে টিস্যুতে পৌঁছাতে পারে তার নিশ্চয়তা প্রদান করে থাকে।

বিভিন্ন পুষ্টি মাধ্যম

১৮৬৫ সালে জোহান নপ (J. Knop) সর্বপ্রথম কৃত্রিম পুষ্টি মাধ্যম তৈরি করেন। এরপর বিভিন্ন সময়ে বিজ্ঞানীগণ উদ্ভিদ আবাদ মাধ্যম তৈরি করেছেন। টিস্যু আবাদে সচারচর ব্যবহৃত পুষ্টি মাধ্যমগুলোর মধ্যে উল্লেখযোগ্য হলো:

- এমএস (MS) মিডিয়াম (Murashige and Skoog, 1962)।
- হোয়াইটের মিডিয়াম (White, 1963)।
- এল এস (LS) মিডিয়াম (Linsmair and Skoog, 1965)।
- B_5 মিডিয়াম (Gamborg *et al.*, 1968)।
- এন এন্ড এন (N&N) মিডিয়াম (Nitsch and Nitsch, 1969)।
- এম (M) মিডিয়াম (Mitra *et al.*, 1976)।
- সংশোধিত এমএস (Revised MS) মিডিয়াম (Raj Bhansali and Arya, 1978)।
- Woody Plant মিডিয়াম (Llyod and McCown, 1981)।
- Somatic Embryogenesis মিডিয়াম (Raj Bhansali, 1988;1990)।

এমএস (MS) মিডিয়াম এর উপাদান সমূহ

পুষ্টি উপাদান		মিলিগ্রাম/লিটার
বৃহৎ পুষ্টি উপাদান	১. অ্যামোনিয়াম নাইট্রেট (NH_4NO_3)	১৬৫০.০০
	২. পটাশিয়াম নাইট্রেট (KNO_3)	১৯০০.০০
	৩. ক্যালসিয়াম ক্লোরাইড ডাইহাইড্রেট ($CaCl_2.2H_2O$)	৪৪০.০০
	৪. ম্যাগনেশিয়াম সালফেট হেপ্টাহাইড্রেট ($MgSO_4.7H_2O$)	৩৭০.০০
	৫. পটাশিয়াম ডাই হাইড্রোজেন ফসফেট (KH_2PO_4)	১৭০.০০
ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান	১. পটাশিয়াম আয়োডাইড (KI)	০.৮৩
	২. বোরিক এসিড (H_3BO_3)	৬.২০
	৩. ম্যাঙ্গানিজ সালফেট টেট্রাহাইড্রেট ($MnSO_4.4H_2O$)	২২.৩০
	৪. জিংক সালফেট হেপ্টাহাইড্রেট ($ZnSO_4.7H_2O$)	৮.৬০
	৫. সোডিয়াম মোলিবডেট ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	০.২৫
	৬. কিউপ্রিক সালফেট পেন্টাহাইড্রেট ($CuSO_4.5H_2O$)	০.০২৫
	৭. কোবাল্ট ক্লোরাইড হেক্সাহাইড্রেট ($CoCl_2.6H_2O$)	০.০২৫
আয়রনের উৎস	১. সোডিয়াম ইথিলিন ডাই অ্যামিন টেট্রা অ্যাসিটেট	৩৭.২৫
	($Na_2.EDTA.2H_2O$)	২৭.৮০
	২. ফেরিক সালফেট হেপ্টাহাইড্রেট ($FeSO_4.7H_2O$)	
ভিটামিন	১. মায়ো-ইনোসিটল (Myo-Inositol)	১০০.০০
	২. নিকোটিনিক অ্যাসিড (Nicotinic Acid)	০.০৫
	৩. পাইরিডক্সিন হাইড্রোক্লোরাইড (Pyridoxine HCL)	০.০৫
	৪. থায়ামিন হাইড্রোক্লোরাইড (Thiamine HCL)	০.০৫
	৫. গ্লাইসিন (Glycine)	০.২০
সুক্রোজ		৩০.০০ গ্রাম/লি.
pH		৫.৭৫-৫.৮০
জেলরাইট/অ্যাগার		২.৭৫ গ্রাম/লি.

এমএস (Murashige and Skoog 1962) মিডিয়াম তৈরি পদ্ধতি

টিস্যু কালচার খাদ্য মিডিয়ামে সাধারণত ৬ শ্রেণির পুষ্টি উপাদান থাকে। এগুলির স্টক বা সঞ্চিত দ্রবণ তৈরি করে সংরক্ষণ করা হয় এবং পরবর্তীতে মিডিয়াম তৈরির সময় প্রয়োজন মাফিক ব্যবহার করা হয়। পুষ্টি উপাদানগুলি যথাক্রমে-

১) প্রধান/বৃহৎ পুষ্টি উপাদান।

২) ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান।

৩) আয়রন উৎস।

৪) জৈব উপাদান (ভিটামিন)।

৫) কার্বন উৎস।

৬) উদ্ভিদ বৃদ্ধি উদ্দীপক (হরমোন)।

স্টক বা সঞ্চিত দ্রবন তৈরি

কালচার মিডিয়াম প্রস্তুতের প্রথম পর্যায়ে স্টক দ্রবন তৈরি করা হয়। পুষ্টি মাধ্যমে উপাদান সমূহ অল্প পরিমাণে প্রয়োজন বিধায় বার বার পরিমাণ না করে বিভিন্ন ঘনমাত্রার সঞ্চিত দ্রবণ তৈরি করা হয়ে থাকে যা থেকে নির্দিষ্ট পরিমাণ দ্রবণ নিয়ে পুষ্টি মাধ্যম তৈরি করা হয়। বিভিন্ন ঘনমাত্রার মিডিয়াম তৈরিতে পৃথকভাবে প্রধান, ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান, আয়রন (Fe-EDTA) ভিটামিন, এমিনো এসিড ও হরমোন সমুহের স্টক দ্রবন তৈরি করা হয়। সাধারণত মোরাশিগ এবং স্কুগ এর টিস্যু আবাদ মাধ্যমে বিভিন্ন পুষ্টি উপাদান সমূহের ২০-১০০ গুণ শক্তি মাত্রার দ্রবণ তৈরি করা যায়। সঞ্চিত দ্রবণ গুলো ফ্রিজে ৪-৫° সে. তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করা হয়। দীর্ঘ দিন সংরক্ষিত এবং জীবাণু দ্বারা দূষিত সঞ্চিত দ্রবণ ব্যবহার করা উচিত নয়। সঞ্চিত দ্রবণ তৈরির সময় প্রথমে অল্প পরিমাণ পানিতে পরিমিত পুষ্টি উপাদান একের পর এক দ্রবীভূত করা হয়। ম্যাগনেটিক স্টাইরার ব্যবহার করলে দ্রুত এবং উত্তমরূপে পুষ্টি দ্রব্য সমূহ দ্রবীভূত হয়। অনেক সময় পুষ্টি উপাদান পৃথক ভাবে দ্রবীভূত করে পরে একত্র করে সঞ্চিত দ্রবন তৈরি করা হয়। এতে অনাকাঙ্ক্ষিত পাতন/অধঃক্ষেপ পড়ে না।

স্টক দ্রবন (ক)ঃ বৃহৎ পুষ্টি উপাদান

স্টক দ্রবনটি ১০০ শক্তি মাত্রার ১০০০/৫০০ মিলিলিটার আয়তনের তৈরি করা হয়। এক্ষেত্রে নির্দিষ্ট পরিমান পুষ্টি উপাদান ওজন করে ৭৫০ মিলিলিটার ডিস্টিল ওয়াটারে দ্রবীভূত করা হয় এবং পরে দ্রবনের মোট আয়তন ১০০০ মিলিলিটার বা ৫০০ মিলিলিটার করা হয়। দ্রবনটি ৪° সে. তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করতে হবে। প্রতিটি বৃহৎ পুষ্টি উপাদান পৃথক পৃথক বোতলে সংরক্ষণ করতে হবে।

স্টক দ্রবন (খ)ঃ ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান

বৃহৎ পুষ্টি উপদানের ন্যায় একইভাবে ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদানে স্টক দ্রবন প্রস্তুত করা হয়। তবে ক্ষুদ্র উপাদানে স্টক দ্রবন একটি বোতলে করা যাবে। অতঃপর দ্রবনের মোট আয়তন ১০০০ মিলিলিটার বা ৫০০ মিলিলিটার করে ৪° সে. তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করতে হবে।

স্টক দ্রবন (গ)ঃ আয়রন (Fe-EDTA উপাদান)

১০০ শক্তি মাত্রার ১০০০ মিলিলিটার বা ৫০০ মিলিলিটার দ্রবন তৈরিতে ২টি উপাদান যথাক্রমে ফেরাস সালফেট এবং সোডিয়াম ইডিটিএ (Na_2EDTA) পৃথকভাবে দ্রবীভূত করে ২৪ ঘন্টা ৫৮° সে. তাপমাত্রায় ইনকিউবেটরে রাখা হয়। অতঃপর ২টি উপাদান একত্রিত করে দ্রবনের আয়তন ১ লিটার বা ৫০০ মিলিলিটার করা হয়। অথবা নির্দিষ্ট ওজনের ($Fe\text{-}EDTA.3H_2O$) ডিস্টিল ওয়াটারে দ্রবীভূত করে মোট আয়তন ১ লিটার করা হয়।

স্টক দ্রবন (ঘ)ঃ ভিটামিন ও এমিনো এসিড

নিম্নোক্ত ভিটামিন এবং এমিনো এসিড, পাইরিডক্সিন, হাইড্রোক্লোরিক এসিড, থাইয়ামিন হাইড্রোক্লোরিক এসিড, নিকোটিনিক এসিড, গ্লাইসিন এবং মায়োইনোসিটল খাদ্য মিডিয়ামে ব্যবহৃত হয়। প্রতিটি উপাদানের ১০০ শক্তিমাত্রা পরিমান আলাদাভাবে ডিস্টিল ওয়াটারে দ্রবীভূত করে একত্রে মিশানো হয় এবং মূল আয়তন ১ লিটার/৫০০ মিলিলিটার করা হয়।

স্টক দ্রবন (ঙ)ঃ উদ্ভিদ বৃদ্ধি উদ্দীপক (হরমোন)

মোরাশিগ এবং স্কুগ এর টিস্যু আবাদ মাধ্যম তৈরির জন্য উল্লেখিত ছকে বিভিন্ন সঞ্চিত দ্রবণের ঘনত্ব এবং প্রতি লিটার মিডিয়াম তৈরিতে প্রয়োজনীয় পরিমাণ পুষ্টি উপাদান অল্প পরিমাণ পানিতে একের পর এক দ্রবীভূত করা হয়।

বিভিন্ন হরমোনের স্টক দ্রবণ তৈরির তালিকা

হরমোন	ওজন (মিগ্রা.)	দ্রাবক	দ্রাবকের পরিমাণ (মিগ্রা./মিলি.)	ডিস্টিল পানির পরিমাণ (মিলি.)	চূড়ান্ত ঘনত্ব (মিগ্রা./মিলি.)
BA	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
Kinetin	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
2-ip	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
Zeatin	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
IAA	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
IBA	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
NAA	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
2,4-D	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০
GA_3	১০	১ N NaOH	১	৯৯	০.১ বা ১/১০

গবেষণাগারে ব্যবহৃত হরমোনের স্টক দ্রবণের চূড়ান্ত ঘনত্ব ০.১ মিগ্রা./মিলি. বা ১ মিগ্রা./১০ মিলি. করা হয়েছে। প্রয়োজনে পানির পরিমাণ কমিয়ে এর মাত্রার পরিবর্তন করা যায়। যেমন ০.৫ মিগ্রা./মিলি., ১.০ মিগ্রা./মিলি. বা ১ মিগ্রা./১ মিলি. প্রভৃতি। তবে টিস্যু আবাদে ব্যবহারের জন্য হরমোনের ঘনত্ব হ্রাসকৃত অবস্থায় রাখা কার্যতঃ সুবিধাজনক।

টিস্যু আবাদের বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক সমূহের দ্রাবক

বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক	নাম	দ্রাবক
অক্সিন	IAA (ইনডোল-৩-অ্যাসিটিক অ্যাসিড)	1N NaOH
	IBA (ইনডোল-৩-বিউটারিক অ্যাসিড)	1N NaOH
	NAA (ন্যাপথালিন অ্যাসিটিক অ্যাসিড)	1N NaOH
	2,4-D (২,৪-ডাইক্লোরো ফেনোক্সি অ্যাসিটিক অ্যাসিড)	৭০% ইথানল
সাইটোকাইনিন	BAP (৬-বেনজাইল অ্যামাইনো পিউরিন) অথবা BA (বেনজাইল অ্যাডেনিন)	1N NaOH
	Kinetin (৬-ফুরফুরাইল অ্যামাইনো পিউরিন)	1N NaOH
	Zeatin (জিয়াটিন)	1N HCL
	DMAP (ডাই মিথাইল অ্যামাইনো পিউরিন)	ইথানল
	2-ip (২-আইসো পেন্টাইল অ্যাডেনিন)	ইথানল
জিবরালিন	GA_3	1N NaOH
অ্যাবসিসিক অ্যাসিড	Abscisic Acid (অ্যাবসিসিক অ্যাসিড)	ইথানল
ইথিলিন	Ethephon (ইথেফোন)	নারিকেল তেল
পলি অ্যামাইন	Putrecine (পিউট্রিসিন)	ইথানল
	Spermidine (স্পারমিডিন)	ইথানল

১ লিটার এমএস মিডিয়াম তৈরি পদ্ধতি

এক লিটার মোরাশিগ এবং স্কুগ এর টিস্যু আবাদ মাধ্যম তৈরির জন্য উল্লেখিত এমএস মিডিয়ামের পুষ্টি উপাদানের ছক অনুযায়ী পূর্বেই তৈরীকৃত এবং রেফ্রিজারেটরে (৪-৫° সে. তাপমাত্রায়) সংরক্ষিত সঞ্চিত দ্রবণ থেকে পরিমিত পরিমাণের দ্রবণ নেয়া হয়। সাধারণত মোরাশিগ এবং স্কুগ এর টিস্যু আবাদ মাধ্যমে বিভিন্ন পুষ্টি উপাদান সমূহের ২০-১০০ গুণ শক্তি মাত্রার দ্রবণ তৈরি করা যায়। সঞ্চিত দ্রবণের আয়তন, ঘনমাত্রা এবং পুষ্টি দ্রব্যের পরিমাণ নিম্নলিখিত উপায়ে পরিমাপ করা যায়। যেমন- NH_4NO_3 এর প্রতি লিটার এমএস মিডিয়াম তৈরি করতে ১৬৫০ মিলিগ্রাম পরিমাণ প্রয়োজন। এখন এর ১০০গুণ ঘনমাত্রার সঞ্চিত দ্রবণ তৈরিতে প্রয়োজন হবে ১৬৫০ X ১০০ = ১৬৫০০০ মিগ্রা.। অর্থাৎ ১ লিটার সঞ্চিত দ্রবণে যদি ১৬৫০০০ মিগ্রা. NH_4NO_3 দ্রবীভূত থাকে তবে তাকে ১০০X দ্রবণ বলে। এই সঞ্চিত দ্রবণ থেকে কি পরিমাণ দ্রবণ নিলে প্রতি লিটার মিডিয়ামে কাঙ্ক্ষিত পরিমাণ পুষ্টি উপাদান থাকবে তা সূত্রের সাহায্যে নিরূপন করা যায়:

সূত্র:

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

বা, $V_2 = \frac{N_1V_1}{N_2}$

বা, $V_2 = \frac{১৬৫০ \times ১০০০}{১৬৫০০০}$

বা, $V_2 =$ ১০ মি.লি.

এখানে,

N_1 = প্রতি লিটার মিডিয়ামে প্রয়োজনীয় পুষ্টি উপাদানের পরিমাণ।

V_1 = সঞ্চিত দ্রবণের আয়তন।

N_2 = সঞ্চিত দ্রবণে দ্রবীভূত পুষ্টির পরিমাণ।

V_2 = কাঙ্ক্ষিত পরিমাণ সঞ্চিত দ্রবণ।

অর্থাৎ প্রতি লিটার ১০০X গুণ ঘনত্বের এমএস মিডিয়াম তৈরির জন্য সংরক্ষিত সঞ্চিত দ্রবণ থেকে ১০ মিলি. পরিমাণ পুষ্টি উপাদান পাতিত পানিতে মিশাতে হবে। নিম্নে এমএস মিডিয়াম প্রস্তুতির ধাপ গুলো ধারাবাহিক ভাবে উল্লেখ করা হলো:

১. ১ লিটার আয়তনের মিডিয়াম প্রস্তুতির জন্য মোট আয়তনের ৮০% পাতিত পানি একটি বীকারে ঢালতে হবে।

২. পূর্বে প্রস্তুতকৃত সঞ্চিত দ্রবণের প্রতিটি থেকে ১০ মিলি. পরিমাণ তরল সঞ্চিত দ্রবণ এমএস মিডিয়াম ছকে ক্রমিক অনুযায়ী বীকারের পাতিত পানির সাথে মিশাতে হবে এবং সাথে সাথে ম্যাগনেটিক স্টাইরার দ্বারা দ্রবণকে নাড়তে হবে।

৩. এরপর উদ্ভিদের বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক দ্রব্য সমূহ থেকে ট্রিটমেন্ট অনুযায়ী মিশাতে হবে।

৪. ডিজিটাল নিক্তিতে সুক্রোজের পরিমাণ মেপে দ্রবণে মিশাতে হবে।

৫. ডিজিটাল pH মিটারে pH এর সঠিক মান নির্ধারণ করে দিতে হবে।

৬. ডিজিটাল নিক্তিতে জেলরাইটের পরিমাণ নির্ধারণ করে ধীরে ধীরে দ্রবণে মিশাতে হবে।

৭. ভুলের পরিমাণ কম করে পরিমাণ নির্ধারণে দক্ষতার পরিচয় দিতে হবে।

৮. মিডিয়াম লগ বইতে ট্রিটমেন্ট ও মিশ্রণের সঠিক পরিমাণের রেকর্ড রাখতে হবে।

৯. জেলরাইট যাতে দ্রবণে ভালোভাবে মিশে সেজন্য ওভেন অথবা গ্যাস বার্নারে সম্পূর্ণ দ্রবণটিকে তাপমাত্রায় নাড়তে হবে এবং দ্রবণে বুদবুদ সহকারে জেলরাইট সম্পূর্ন মিশ্রিত হলে দ্রবণটি নামিয়ে আনতে হবে।

১০. আবাদ পাত্র সমূহে দ্রবণটি পরিমাণ অনুযায়ী অল্প অল্প ঢালতে হবে।

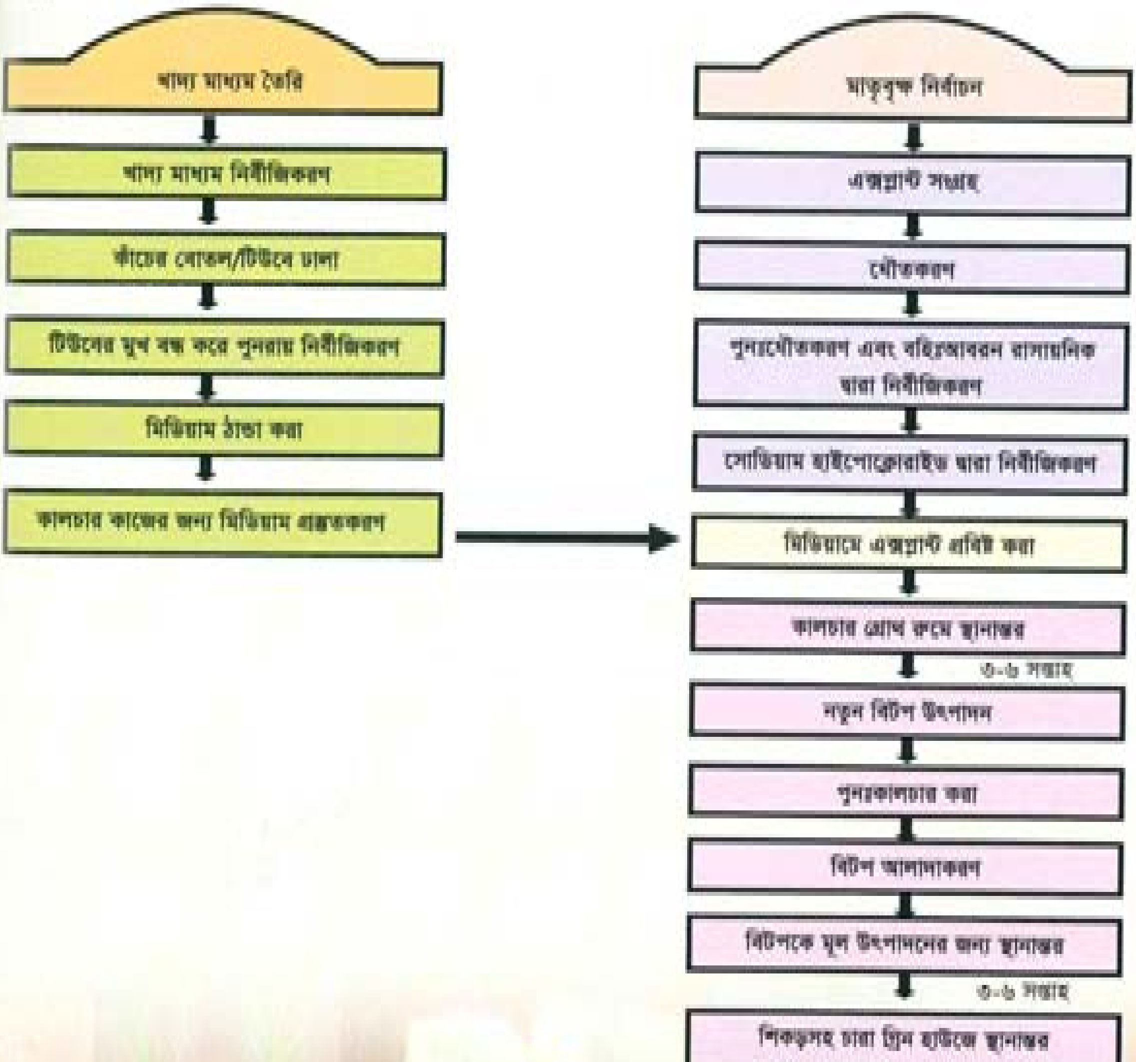
১১. অটোক্লেভ মেশিনে আবাদ মাধ্যম সমূহকে নির্বীজকরণ করতে হবে।

১২. ব্যবহারের অন্তত ২ ঘন্টা পূর্বে মিডিয়াম সমূহকে ঠান্ডা হতে এবং সম্পূর্ণ জমাট বাঁধতে দিতে হবে।

টিস্যু আবাদ মাধ্যমের pH নিয়ন্ত্রণ

আবাদ মাধ্যমের pH একটি গুরুত্বপূর্ণ বিষয়। এটি উদ্ভিদের বৃদ্ধির জন্য প্রয়োজন এমন পুষ্টি উপাদানের শোষণকে প্রভাবিত করে। অন্যদিকে pH অতি নিম্ন বা উচ্চ হলে তাপীয় নির্বীজনের সময় অ্যাগার বা জেলরাইটের হাইড্রোলাইসিস ঘটতে পারে। তাই পুষ্টি মাধ্যমে পরিমিত pH রাখা বাঞ্ছনীয়। উদ্ভিদের টিস্যু আবাদ মাধ্যমের pH এর মান মোটামুটি ৫.৭ ± ০.১ রাখা উচিত। মাধ্যমে pH নিয়ন্ত্রণের জন্য নিম্ন শক্তি মাত্রার অম্লীয় বা ক্ষারীয় দ্রবণ ব্যবহার করা হয়। গবেষণাগারে মাধ্যমের pH নিয়ন্ত্রণ করতে সাধারণত 1N KOH, 1N NaOH অথবা 1N HCL ব্যবহার করা হয়। মাধ্যমের pH নিরূপণের জন্য ডিজিটাল pH মিটার উত্তম।

টিস্যু কালচার প্রক্রিয়া



চিত্র ঃ টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ার ধাপ।

পুষ্টি আবাদ মাধ্যম প্রস্তুত ও নির্বীজিকরণ

সাধারনত টিস্যু কালচার গবেষনায় ৩ পর্যায়ে খাদ্য মিডিয়াম তৈরি করা হয়। পর্যায়গুলি যথাক্রমে প্রাথমিক কালচার সূচনা মিডিয়াম, মাল্টিপল শুট উৎপাদন মিডিয়াম এবং শিকড় উৎপাদন সংক্রান্ত। সকল মিডিয়াম বৃহৎ ও ক্ষুদ্র পুষ্টি উপাদান সহ ভিটামিন, আয়রন, কার্বন উৎস এবং উদ্ভিদ হরমোন যোগে তৈরি করা হয়। প্রয়োজন অনুসারে সলিড মিডিয়াম তৈরি করার জন্য জেলরাইট/অ্যাগার পাউডার নির্দিষ্ট পরিমানে যোগ করা হয়। এ অবস্থায় মিডিয়ামের pH নির্ধারণ করা হয়। অতঃপর তাপ প্রয়োগে মিডিয়াম গলানোর পর টেস্টটিউব বা কালচার বোতলে ২৫-৩০ মিলিলিটার পরিমান মিডিয়াম ঢালা হয় এবং এগুলির মুখ এলোমিনিয়াম ফয়েল দ্বারা বন্ধ করা হয়। মিডিয়াম বন্ধকৃত টেস্টটিউব বা বোতলগুলি নির্বীজি করার লক্ষ্যে অটোক্লেভে ২০ মিনিট উত্তপ্ত করার পর ঠান্ডা করা হয় এবং পরবর্তীতে কালচার সূচনা করার কাজে ব্যবহৃত হয়।

মাতৃবৃক্ষ নির্বাচন, এক্সপ্লান্ট সংগ্রহ এবং নির্বীজিকরণ

নির্বাচিত উদ্ভিদ প্রজাতির টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ায় চারা উৎপাদনে লক্ষ্যে একটি রোগমুক্ত সুস্থসবল মাতৃগাছ নির্বাচন জরুরী। নির্বাচিত মাতৃবৃক্ষের ক্ষুদ্র অঙ্গ, যেমন- শীর্ষমুকুল বা কাক্ষিক মুকুল কালচার সূচনা করার জন্য সংগ্রহ করা হয়। গাছের এই ক্ষুদ্র অঙ্গকে যা টিস্যু কালচার গবেষণার সূচনা করার কাজে ব্যবহৃত হয় তাকে এক্সপ্লান্ট বলে। এক্সপ্লান্ট নির্বীজি করার জন্য ট্যাপের পানির স্রোতে ৩০-৪০ মিনিট রাখা হয়। অতঃপর টুইন-২০ এর একফোঁটা যোগ করে ১০ মিনিট ঝাকানোর পর অটোক্লেভকৃত ডিসটিল ওয়াটার দ্বারা ৩-৫ বার ধৌত করা হয়। অতঃপর ল্যামিনার এয়ার ফ্লোতে কালচারের উদ্দেশ্যে নেয়া হয়।

আবাদ মাধ্যমে এক্সপ্লান্ট ইনোকুলেশন (Inoculation) বা টিস্যু প্রবিষ্টকরণের কৌশল

ইনোকুলেশন চেম্বারে এক্সপ্লান্টগুলো জীবাণুমুক্তকরণ ও কালচার উপযোগী এক্সপ্লান্টগুলোর ইনোকুলেশন সম্পন্ন হয়। চেম্বারে রক্ষিত ল্যামিনার এয়ার ফ্লো ক্যাবিনেটের সামনে এই প্রক্রিয়াগুলো সম্পন্ন হয়। ইনোকুলেশন এর কমপক্ষে আধাঘন্টা পূর্বে ল্যামিনার এয়ার ফ্লো চালু করা হয়। অতঃপর মিডিয়ামসহ ব্যবহৃত নির্বীজকৃত সকল দ্রব্যাদি ইনোকুলেশন চেম্বারে ল্যামিনার এয়ার ফ্লো সংলগ্ন একটি বিশেষ ট্রলিতে রাখা হয়। অতঃপর পরিষ্কার এপ্রোন ও মাস্ক পরে ল্যামিনার এয়ার ফ্লো ক্যাবিনেটের সামনে উঁচু চেয়ারে বসে প্রথমে অ্যালকোহল দিয়ে দু'হাত এবং ল্যামিনার এয়ার ফ্লো ক্যাবিনেটের টেবিল সহ চারপাশ ভালভাবে অ্যালকোহল সিক্ত তুলা দিয়ে মুছে নিতে হবে। ইনোকুলেশনের জন্য ব্যবহৃত সকল যন্ত্রপাতি (যেমন- ফরসেপ, নিডল, স্কালপেল প্রভৃতি) অ্যালকোহল সিক্ত তুলা দিয়ে মুছে অতঃপর স্পিরিট ল্যাম্পে পুড়িয়ে ঠান্ডা করে ব্যবহার করতে হবে। এরপর জীবাণুমুক্ত পরিবেশে ল্যামিনার এয়ার ফ্লোর সামনে পরিষ্কারকৃত এক্সপ্লান্টগুলি জীবাণুমুক্তকরণের উদ্দেশ্যে পূর্বেই অটোক্লেভ করা ফ্লাস্কে ০.১% মারকিউরিক ক্লোরাইড ($HgCl_2$) বা সোডিয়াম হাইপো ক্লোরাইড ($NaClO$) দ্রবণযোগে কিছু সময় (এই সময়সীমা এক্সপ্লান্টের প্রকৃতির উপর নির্ভরশীল) ফ্লাস্কটিকে পুনঃপুনঃ

ঝাকানো হয়। এই সকল নির্বীজক রাসায়নিকের সংস্পর্শে এক্সপ্লান্টগুলো জীবাণুমুক্ত হয়। অবশ্যই এ সময়ে সতর্ক দৃষ্টি রাখতে হবে যেনো বিষাক্ত এই সকল রাসায়নিক দ্রবণ যেন সজীব টিস্যু বা কলার কোনো ক্ষতি না করে। তাই টিস্যু ভেদে নির্দিষ্ট সময়সীমা উত্তীর্ণ হবার সাথে সাথে এক্সপ্লান্টগুলো স্টেরাইলকৃত পাতিত জলে বেশ কয়েক বার ধুয়ে ফেলতে হবে, যাতে সেখানে কোনো রাসায়নিক বিষাক্ত পদার্থ লেগে না থাকে। এভাবে জীবাণুমুক্তকরণের পর এক্সপ্লান্টগুলো কালচার করার উপযোগী হয়। অতঃপর অত্যন্ত সাবধানতার সাথে স্পিরিট ল্যাম্পের সামনে কালচার পাত্রের (টেস্টটিউব, কনিক্যাল ফ্লাস্ক প্রভৃতি) ঢাকনা খুলে নির্বীজকৃত ফরসেপ দ্বারা উপযুক্ত টিস্যু বা এক্সপ্লান্টটি কালচার পাত্রে রক্ষিত কালচার মিডিয়ামে দ্রুত প্রবিষ্ট (Inoculation) করানো হয়। উল্লেখ্য যে, ইনোকুলেশন করার সময় কালচার বোতল, ফ্লাস্ক বা টিউবের মুখ আগুনের শিখায় খানিকটা ধরে খুব দ্রুত এর মুখ খুলে টিস্যুটি সাবধানতার সাথে কালচার মাধ্যমে প্রতিস্থাপন করা হয় এবং মুখটি শক্ত করে কটন প্লাগ (Non absorbent তুলা ও পাতলা জালি কাপড়ে আবৃত) দিয়ে ভালভাবে বন্ধ করতে হবে। যে সকল টিস্যু তরল মিডিয়ামে কালচার করা হয় সেগুলো যাতে ঐ তরলে ডুবে না যায় সেজন্য ফিল্টার কাগজের সেতু (Filter paper bridge) ব্যবহার করা হয়। এই প্রক্রিয়ায় মিডিয়ামের তরলের উপর ভাসমান ফিল্টার কাগজের উপর টিস্যুটিকে প্রতিস্থাপন করা হয়।

চিত্র ঃ আবাদ মাধ্যমে টিস্যু ইনোকুলেশন বা প্রবিষ্টকরণ।

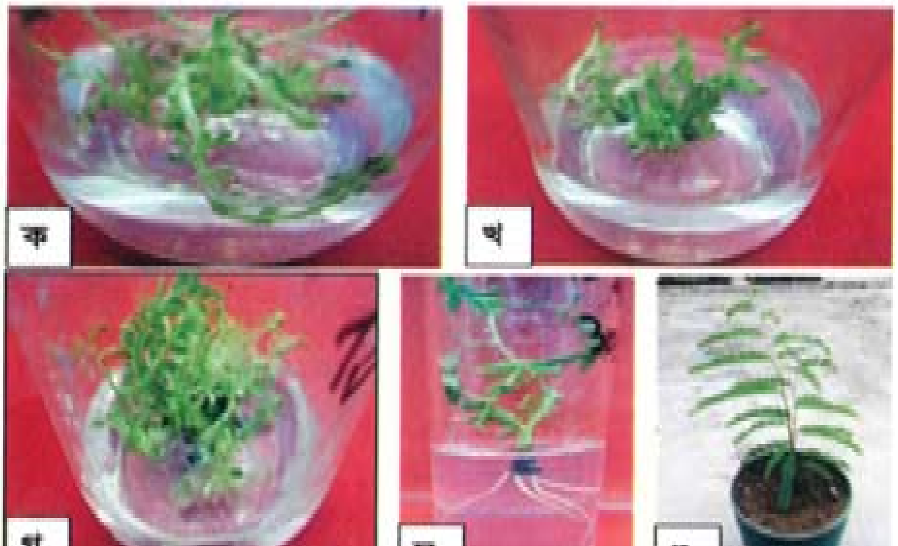
ইনকিউবেশন (Incubation) বা টিস্যু লালনের কৌশল

ইনোকুলেশন সম্পন্ন করার পর আবাদকৃত পাত্র সমূহ ইনকিউবেশন চেম্বার বা বৃদ্ধি কক্ষে স্থানান্তর করা হয়। ইনকিউবেশন চেম্বারে তাপমাত্রা, আপেক্ষিক আর্দ্রতা, আলোক তীব্রতা, আলোক কাল প্রভৃতি নিয়ন্ত্রণে রাখা হয়। তাপমাত্রা ও আর্দ্রতা নিয়ন্ত্রণের জন্য এয়ার কন্ডিশনার, তাপমাত্রা ও আর্দ্রতা নির্দেশক ডিজিটাল যন্ত্র, স্বয়ংক্রিয় টাইমার এবং নিরবিচ্ছিন্ন বিদ্যুৎ সরবরাহের জন্য পাওয়ার জেনারেটর প্রয়োজন। কালচার পাত্র সমূহ চেম্বারে রক্ষিত কালচার র‍্যাকে সাজিয়ে রাখা হয়। কালচার র‍্যাকের প্রতিটি শেলফে নির্দিষ্ট অবস্থানে সাদা টিউব লাইট (৪০ ওয়াট, ২০০০-৪০০০ লাক্স) দিয়ে আলোকিত করে রাখা হয়। ইনকিউবেশন চেম্বারের তাপমাত্রা ২৫±২° সে. আলোক কাল ১৬ ঃ ৮ (আলো ঃ অন্ধকার) ঘণ্টা, আর্দ্রতা ৫০% এর উপরে এবং আলোক তীব্রতা ৫০-৬০ μmol $m^{-2}s^{-1}$ / (PPFD- Photosynthetic photon flux density) বজায় রাখা হয়। রোটারি শেকারে ১০০-২৫০ এমএল ফ্লাস্কের ক্ষেত্রে ঘূর্ণন ৮০-২২০ আরপিএম এবং আলোক তীব্রতা ২০০০-৪০০০ লাক্স বজায় রাখা হয়। লাক্স মিটারের সাহায্যে ইনকিউবেটর চেম্বার ও রোটারি শেকারের আলোক তীব্রতা মাপা হয়। এই নিয়ন্ত্রিত ইনকিউবেশন চেম্বারে নির্দিষ্ট সময় পরপর আবাদের বৃদ্ধি ও বিকাশ পর্যবেক্ষণ করে বিভিন্ন তথ্য লিপিবদ্ধ করা হয়।

চিত্র ঃ কালচার আবাদ কক্ষে টিস্যু লালন।

উপ-আবাদকরণের (Sub culture) মাধ্যমে সংখ্যা বৃদ্ধিকরণ

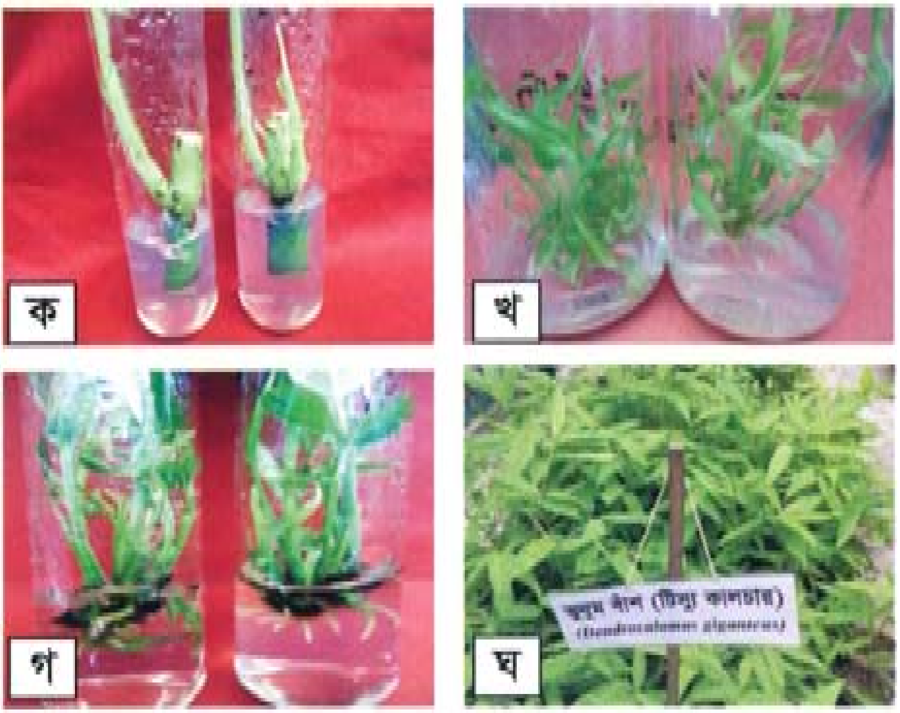
নিয়ন্ত্রিত ইনকিউবেশন চেম্বারে নির্দিষ্ট সময় পরপর আবাদের বৃদ্ধি ও বিকাশ পর্যবেক্ষণ করে বিভিন্ন তথ্য লিপিবদ্ধ করা হয়। যখন আবাদ মাধ্যমে প্রবিষ্ট করা টিস্যু বা এক্সপ্লান্ট এর কাণ্ডকুড়ি সৃষ্টি হয় অথবা কাণ্ডকুড়িতে মূল সৃষ্টি হয় এবং এদের সংখ্যা বৃদ্ধি পায় তখন নতুন পুষ্টি মাধ্যম তৈরি করে উপ আবাদের প্রয়োজন হয়। এতে করে নতুন সৃষ্ট কাণ্ডকুড়ি, মূল অথবা ক্যালাসের পুষ্টি উপাদানের ঘাটতি থেকে রক্ষা করা যায় এবং এদের দৈহিক বৃদ্ধিও ঘটতে থাকে। টিস্যু আবাদ প্রক্রিয়ায় নির্দিষ্ট সময় পরপর পুনঃআবাদের প্রয়োজন হয় এজন্য আবাদকৃত ফ্লাস্কের গায়ে সর্বশেষ উপ-আবাদের তারিখ লিপিবদ্ধ করতে হয় যাতে যে কেউ সহজেই বুঝতে পারে যে এক্সপ্লান্টটি সর্বশেষ কবে উপ-আবাদ করা হয়েছে।



চিত্র ঃ উপ-আবাদকরণের মাধ্যমে বিটপ সংখ্যা বৃদ্ধিকরণ।

আবাদ মাধ্যমে মূল সৃষ্টিকরণ

ইনভিট্রো পদ্ধতিতে সৃষ্ট কাণ্ডকুড়ির বহিঃপরিবেশে অভিযোজনের জন্য মূল সৃষ্টি অত্যাবশ্যক। ইনভিট্রো পদ্ধতিতে মূল তৈরিতে আবাদ মাধ্যমে বিভিন্ন ধরনের অক্সিন ব্যবহার করা হয়। কাষ্ঠল উদ্ভিদের ক্ষেত্রে মূল তৈরিতে ইনডোল বিউটারিক অ্যাসিড (IBA) অধিক কার্যকর বলে প্রমাণিত হয়েছে। মূল সৃষ্টিকারী পুষ্টি মাধ্যম সাধারণত নিম্ন মাত্রার আয়ন সমৃদ্ধ হয়, যেমন- ১/২ এমএস অথবা ১/৪ এমএস মিডিয়াম। মিডিয়ামে পুষ্টির ঘনত্ব কম হলে কাণ্ডকুড়ি তার অস্তিত্ব টিকিয়ে রাখার তাগিদেই মাধ্যম হতে পুষ্টি শোষণের চেষ্টা করবে এবং মূল উৎপাদন করবে। অক্সিন এক্ষেত্রে উদ্দীপকের ভূমিকা পালন করে। অধিক মাত্রার অক্সিন এবং কম মাত্রার সাইটোকাইনিন মূল সৃষ্টিতে সহায়ক।



চিত্র ঃ বাঁশের কক্ষির চোখ সহ গিট থেকে পর্যায়ক্রমে চারা উৎপাদন।

আবাদে নতুন অনুচারার পরিবর্তিত পরিবেশে স্থানান্তর বা অভিযোজন

এটি হচ্ছে টিস্যু আবাদের চূড়ান্ত দশা। সাধারণত ইনভিট্রো অবস্থায় জন্মানো উদ্ভিদ সরাসরি বাইরের প্রতিকূল পরিবেশে অভিযোজন করতে পারে না, তাই পর্যায় ক্রমিক অভিযোজন ধাপ অনুসরণ করে নির্বীজন মাটি বা প্রাকৃতিক পরিবেশে স্থানান্তর করা হয়। এক্ষেত্রে সুগঠিত মূলযুক্ত অনুচারা পরিবর্তিত পরিবেশে (Hardening chamber) স্থানান্তর করার পূর্বে পাতিত পানি দ্বারা ভালভাবে পরিষ্কার করে মিডিয়াম দূরীভূত করা হয় এবং চেম্বারের উচ্চ আলোক তীব্রতা (৪,০০০-১০,০০০ লাক্স) এবং উচ্চ আর্দ্রতা (৯০-১০০%, Mist house) নিশ্চিত করতে হয়। যেহেতু নতুন অনুচারা গুলো পুষ্টি মাধ্যম থেকে গ্রিন হাউসে স্থানান্তর করা হয় সেহেতু উচ্চ আর্দ্রতা এই অনুচারাগুলোকে পরিবর্তিত পরিবেশে খাপ খাওয়ানো বা টিকে থাকার জন্য সহায়ক ভূমিকা পালন করে। গ্রিনহাউজে ২৫±২° সে. তাপমাত্রায় ১২-১৬ ঘণ্টা আলোককালে নির্বীজন মাটি পূর্ণ পাত্রে কয়েকদিন রেখে পরিমিত পানি সেচ দেওয়া হয়। অতঃপর অভিযোজিত উদ্ভিদগুলো প্রাকৃতিক পরিবেশে রোপন করা হয়।

চিত্র ঃ গ্রিন হাউজ এবং মিস্ট হাউজে টিস্যু কালচার চারা অভিযোজন।

টিস্যু কালচার কৌশল বাণিজ্যিকীকরণ

বিশ্বের অনেক দেশ টিস্যু কালচারের মাধ্যমে বাণিজ্যিকভাবে চারা উৎপাদন করে তাদের চাহিদা পূরণ করছে। বিশেষতঃ পশ্চিম ইউরোপীয় অনেক দেশ আশির দশক থেকে বাণিজ্যিকভাবে টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরির মাধ্যমে মিলিয়ন মিলিয়ন চারা উৎপাদন করে যাচ্ছে। উদাহরণস্বরূপ- হল্যান্ড বর্তমানে নেদারল্যান্ড বাণিজ্যিকভাবে টিস্যু কালচারজাত চারা উৎপাদন শুরু করে ১৯৮০ সালে এবং ১৯৮৮ সালের শেষ দিকে এবং প্রায় ৬০ মিলিয়ন উদ্ভিদের চারা উৎপাদন করে তাদের স্থাপিত ৬৭ টি বাণিজ্যিক টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরির মাধ্যমে। অন্যদিকে আমেরিকা ১৯৬৫ সাল থেকে বাণিজ্যিকভাবে টিস্যু কালচার পদ্ধতিতে চারা উৎপাদন শুরু করে এবং ঐ সময়ে সেখানে ১০০ টি বাণিজ্যিক টিস্যু কালচার ল্যাব প্রতিষ্ঠা করে।

বাংলাদেশের চিত্র

বাংলাদেশে প্রথম টিস্যু কালচার গবেষণা শুরু হয় ঢাকা বিশ্ববিদ্যালয়ের উদ্ভিদ বিজ্ঞান বিভাগে ১৯৭৮ সালে। পরবর্তীতে বেশ কয়েকটি টিস্যু কালচার ল্যাব বিভিন্ন বিশ্ববিদ্যালয় ও গবেষণা প্রতিষ্ঠানে প্রতিষ্ঠিত হয়। বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট এ টিস্যু কালচার ল্যাব প্রতিষ্ঠিত হয় ১৯৯০ সালে এবং ১৯৯১ সাল থেকে উক্ত ল্যাবে টিস্যু কালচার গবেষণা এবং বিভিন্ন প্রজাতির উদ্ভিদের চারা উৎপাদন এবং মাঠ পর্যায়ে সম্প্রসারণ কাজ অব্যাহত রয়েছে। বর্তমানে বাংলাদেশে বিশ্ববিদ্যালয়, গবেষণা প্রতিষ্ঠান এবং বেসরকারি পর্যায়ে মোট ৩৫ টি টিস্যু কালচার ল্যাব রয়েছে। উল্লেখ্য যে, দেশে ল্যাবের সংখ্যা বৃদ্ধি পেলেও বাণিজ্যিকভাবে স্বল্প সংখ্যক ল্যাব কয়েকটি কৃষি ফসলের চারা উৎপাদন করছে। তদুপরি, সম্প্রতি টিস্যু কালচার প্রযুক্তি বাংলাদেশে জনপ্রিয় হয়ে উঠছে। এ লক্ষ্যে বাংলাদেশ বন অধিদপ্তর কর্তৃক বাস্তবায়নাধীন টেকসই বন ও জীবিকা (সুফল) প্রকল্পের আওতায় ৩টি নতুন টিস্যু কালচার ল্যাব প্রতিষ্ঠা করা হচ্ছে, যেখানে বাণিজ্যিকভাবে গুরুত্বপূর্ণ বনজ উদ্ভিদের চারা উৎপাদনের মাধ্যমে ভবিষ্যৎ চাহিদা পূরণ করা সম্ভব হবে।

বাণিজ্যিক উদ্ভিদ টিস্যু কালচার পরীক্ষাগার প্রতিষ্ঠাকরণ

একটি বাণিজ্যিক উদ্ভিদ টিস্যু কালচার ইউনিট নিম্নলিখিত উপাদানগুলির সমন্বয়ে গঠিত-

অংশ-১ম ঃ ওয়াশিং রুম বা ধৌতকরণ কক্ষ (দৈর্ঘ্য ও প্রস্থ) (১৫ ফুট x ২০ ফুট)

ওয়াশিং রুমটি বা ধৌতকরণ কক্ষটি আমাদের রান্নাঘরের মতো। কক্ষটি পানি সরবরাহ সহ ২-৩টি সিঙ্ক, গ্যাস বার্নার, পাতিত পানির প্ল্যান্ট, মাইক্রো ওভেন, গ্লাস শুষ্ককরণ ওভেন, অটোক্লেভ মেশিন, গ্লাসওয়্যার র‍্যাক এবং কালচার বোতল, টেস্ট টিউব ইত্যাদি গ্লাসওয়্যার দিয়ে সজ্জিত করা উচিত।

চিত্র ঃ ওয়াশিং রুম।

গ্লাসওয়্যার ধৌতকরণ কক্ষটি অবশ্যই জীবাণুমুক্ত বা নির্বীজন কক্ষের কাছাকাছি হওয়া উচিত। এই কক্ষটিতে পানি সরবরাহ সহ দুটো সিঙ্ক থাকলে ভালো, তবে অন্তত একটি সিঙ্ক অবশ্যই থাকতে হবে। সিঙ্কের দুপাশে গ্লাসওয়্যার সমূহ পানিতে ভিজিয়ে রাখা এবং পর্যাপ্ত পানি নিষ্কাশন সহ অন্যান্য কাজ করার মতো যথেষ্ট জায়গা থাকতে হবে। গ্লাসওয়্যার সমূহ ভেঙ্গে যাওয়ার হাত থেকে রক্ষা করার জন্য এবং নিরবিচ্ছিন্ন পানি নিষ্কাশনের জন্য সিঙ্কে প্লাস্টিকের নেট ব্যবহার করা যাতে পারে। যেহেতু সিঙ্কে বিভিন্ন ধরনের রাসায়নিক যুক্ত পাত্র ধৌত করা হবে সেহেতু পদার্থ সমূহের অম্লত্ব বা ক্ষারত্বের ক্ষতি প্রতিরোধের জন্য সিঙ্কে পিভিসি পাইপ ব্যবহার করতে হবে। গরম ও ঠান্ডা পানির যথেষ্ট সরবরাহ সহ পাতিত পানির ইউনিটটি কাছাকাছি স্থাপন করতে হবে। নির্দিষ্ট সময় পর পর ধৌতকরণ কক্ষটি পরিষ্কার করতে হবে। জল শুকানো এবং ছোট ছোট বস্তু হারানো রোধ করতে স্থানান্তরযোগ্য শুকানোর র‍্যাকগুলিতে জালিকাপড় ব্যবহার করা হয়। ওভেন বা হট এয়ার ক্যাবিনেটগুলি গ্লাসওয়্যার ধোয়া এবং স্টোরেজ স্থানের কাছাকাছি থাকা উচিত। গ্লাসওয়্যারের সহজ ব্যবহারের জন্য ডাস্ট-প্রুফ ক্যাবিনেট এবং সংরক্ষণ করার কনটেইনার সংযুক্ত করতে হবে। অর্ধস্বচ্ছ আবাদ মাধ্যম জীবানু মুক্ত করার প্রেক্ষিতে অটোক্লেভ করার জন্য আবাদ পাত্রগুলি যখন বৃদ্ধিনিয়ন্ত্রক কক্ষ হতে সরানো হয় তখন খেয়াল রাখতে হবে যেন প্রয়োজনে পাত্রগুলি খুব সহজেই ধৌতকরণ কক্ষে স্থানান্তর করা যায়। পুষ্টি মাধ্যম তৈরি ও সংরক্ষণ ত্বরান্বিত করতে কাঁচের জিনিসপত্রের সংরক্ষণ স্থানটি ধৌতকরণ কক্ষের কাছাকাছি হওয়া উচিত।

অংশ-২য় ঃ রাসায়নিক পদার্থ সমূহের সংরক্ষণ কক্ষ

রাসায়নিক পদার্থ, যন্ত্রপাতি এবং সরঞ্জাম সংরক্ষণের জন্য পৃথক কক্ষ থাকা বাঞ্ছনীয়। যে সকল রাসায়নিক খুব অল্প পরিমাণে প্রয়োজন হয় সেগুলো খুব বেশি পরিমাণে ক্রয় করা উচিত নয়। কারণ এতে রাসায়নিকের কর্মক্ষমতা হ্রাস পায়, আর্দ্রতা যুক্ত হয় এবং দূষিতও হতে পারে। নিয়মিত ভিত্তিতে ছোট লট কিনে এই জাতীয় সমস্যাগুলি কাটিয়ে উঠা যায়।

অংশ-৩য় ঃ পুষ্টি মাধ্যম তৈরি কক্ষ (১৫ ফুট x ২০ ফুট)

এই ঘরটি কেমিক্যাল র‍্যাক, পিএইচ মিটার, ডিজিটাল ব্যালেন্স (৩ এবং ৪ ডিজিট), চৌম্বকীয় স্টিরারার, এয়ার কুলার, রেফ্রিজারেটর, ডিপ ফ্রিজ ইত্যাদি দিয়ে সজ্জিত থাকে।

চিত্র ঃ কালচার মিডিয়া প্রস্তুতকরণ কক্ষ।

মিডিয়া প্রস্তুতি কক্ষটিতে মসৃণ দেয়াল এবং মেঝে থাকা উচিত, যাতে খুব সহজে এবং সর্বোচ্চ মানে পরিষ্কার করা সম্ভব হয়। এই কক্ষটিতে ন্যূনতম সংখ্যক দরজা এবং জানালা থাকতে হবে তবে তা দমকল সুরক্ষা বিধিমালার মধ্যে। মিডিয়া প্রস্তুতি কক্ষটিতে ট্যাপের পানি এবং বিশুদ্ধ পানি উভয়ের ব্যবস্থা থাকতে হবে। পানি পরিশোধনের জন্য উপযুক্ত ব্যবস্থা অবশ্যই ব্যয় এবং গুণগতমান বিবেচনা করে বাছাই করার পর সংযুক্ত করতে হবে। মিডিয়া প্রস্তুতির জন্য প্রচুর বৈদ্যুতিক যন্ত্রপাতি ব্যবহারের প্রয়োজন হয়, সুতরাং মিডিয়া প্রস্তুতি কক্ষে আগুন নেভানোর যন্ত্র, ফায়ার কম্বল এবং প্রাথমিক চিকিৎসার কিটগুলির মতো সুরক্ষা ডিভাইস থাকা অপরিহার্য। পরিমাপ, মিশ্রণ এবং পুষ্টি মাধ্যম সংরক্ষণের জন্য বিভিন্ন ধরণের কাঁচের জিনিসপত্র, প্লাস্টিকের ওয়্যার এবং স্টেইনলেস স্টিলের সরঞ্জাম প্রয়োজন। এগুলি কাজ করার টেবিলের নিচে নির্মিত ক্যাবিনেটগুলিতে সংরক্ষণ করা হয় এবং যখন প্রয়োজন ব্যবহারের জন্য এগুলো বের করা যায়। পানির উৎস এবং গ্লাসওয়্যার স্টোরেজ অঞ্চল মিডিয়া প্রস্তুতি কক্ষের বা তার কাছাকাছি হওয়া উচিত। ওয়ার্কবেঞ্চ গুলোর উপরের অংশ প্লাস্টিকের ল্যামিনেটেড হলে তা ঘন ঘন পরিষ্কার করা সহজ হয়। মিডিয়া স্টোরেজ রুমে কমপক্ষে ৭ দিনের জন্য মিডিয়া সঞ্চয় করার ক্ষমতা থাকা উচিত। মিডিয়া স্টোরেজ রুমের জন্য স্টেরিলিটি ক্লাস ১,০০,০০০ হওয়া আবশ্যক।

অংশ-৪র্থ ঃ ইনোকুলেশন রুম বা টিস্যু প্রবিষ্টকরণ কক্ষ (১৫ ফুট x২০ ফুট)

সর্বাধিক গুরুত্বপূর্ণ কাজের ক্ষেত্রটি ইনোকুলেশন রুম যেখানে মূল কার্যকলাপ সংগঠিত হয়। গ্রোথ চেম্বারের সাথে স্থানান্তরের এই কক্ষটি ন্যূনতম বাতাস চলাচলের ব্যবস্থার পাশাপাশি যতটা সম্ভব পরিষ্কার থাকা দরকার। ইনোকুলেশন রুমের দেয়াল এবং মেঝে অবশ্যই মসৃণ হতে হবে এবং তা ঘনঘন পরিষ্কার করতে হবে। দূষণ রোধ করতে দরজা এবং

জানালাগুলি ন্যূনতম সংখ্যায় হওয়া উচিত, তবে স্থানীয় সুরক্ষা কোডের মধ্যে। ট্রান্সফার রুমে কোনো বিশেষ আলোর প্রয়োজন নেই, ল্যামিনার এয়ার ফ্লো চেম্বারের আলোকসজ্জা কাজের জন্য যথেষ্ট। ইনোকুলেশন রুমে কাজ করার সময় যন্ত্রপাতিগুলি গ্লাস-বিড স্টেরিলাইজার দ্বারা অথবা অ্যালকোহলে ডুবিয়ে জ্বলন্ত বার্নারের শিখায় জীবাণুমুক্ত করা যায়, এক্ষেত্রে সাধারণত ইথানল ব্যবহার করা হয়। আবাদ পাত্রগুলি স্থানান্তর যোগ্য র‍্যাকে (ট্রলি) সাজাতে হবে যাতে সহজেই তা স্টোরেজ রুম থেকে ট্রান্সফার রুমে এবং শেষ পর্যন্ত কালচার কক্ষে স্থানান্তর করা যায়। নিরাপত্তা ব্যবস্থা হিসাবে ট্রান্সফার রুমে অগ্নিনির্বাপক যন্ত্র ও প্রাথমিক চিকিৎসার কিট সরবরাহ করা উচিত। এই কক্ষে বিশেষ পরীক্ষাগার জুতা এবং এপ্রোন পরা উচিত। ঘরকে জীবাণুমুক্ত করার জন্য মাঝে মাঝে আল্ট্রাভায়োলেট (ইউভি) লাইট ইনস্টল করা যায়; সেক্ষেত্রে খেয়াল রাখতে হবে কোনো মানুষ বা যে সকল উদ্ভিদ উপাদান নিয়ে কাজ করা হয় তা যেন ঘরে না থাকে। চাপযুক্ত এয়ার মডিউল বা এয়ার হ্যান্ডলিং ইউনিট স্থাপনের মাধ্যমে ইনোকুলেশন রুমের জন্য আকাঙ্ক্ষিত স্টেরিলিটি ক্লাস ১,০০,০০০ অর্জন করা আবশ্যক।

চিত্র ঃ ইনোকুলেশন রুম।

অংশ- ৫ম ঃ গ্রোথ রুম (২০ ফুট x ৩০ ফুট, ২০টি র‍্যাক, ১৫০ কালচার বোতল/র‍্যাক)

গ্রোথ রুমটি ২টি এয়ার কুলার, ২০টি কালচার র‍্যাক (প্রতি র‍্যাকে ৩-৪টি শেল্ফ), ১টি অরবিটাল শেকার (ঐচ্ছিক), ১টি ডিজিটাল হাইগ্রোমিটার, ১টি লাক্স মিটার, টিউব লাইট এবং অন্যান্য বৈদ্যুতিক যন্ত্রপাতি দিয়ে সজ্জিত করতে হবে। কালচার কক্ষটি একটি সমান গুরুত্বপূর্ণ অঞ্চল যেখানে উদ্ভিদ কালচার সমূহ একটি নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে সর্বোত্তম বৃদ্ধি অর্জন করার জন্য সংরক্ষণ করা হয়। বিভিন্ন গাছের প্রজাতির আলো এবং তাপমাত্রার চাহিদার তারতম্যের প্রেক্ষিতে ইন-ভিট্রো কালচারের ক্ষেত্রে একাধিক গ্রোথ রুম থাকার পরামর্শ দেওয়া হয়। এছাড়াও, এক ঘরে ঠান্ডা বা আলো সরবরাহ সমস্যার সম্মুখীন হলে উদ্ভিদ কালচারগুলিকে অন্য ঘরে সরানো যেতে পারে এতে করে কালচার সমূহকে অবাঞ্ছিত ক্ষতির হাত থেকে রক্ষা করা যায়। বৃদ্ধি নিয়ন্ত্রক কক্ষে, জীবাণুর দূষণ রোধ করতে ন্যূনতম সংখ্যক দরজা হওয়া বাঞ্ছনীয়। কালচার পাত্রগুলিকে স্থির বা চলমান শেল্ফে রাখা হয়। চলমান শেল্ফগুলির ক্ষেত্রে উভয় দিক থেকে কালচার সমূহ রাখা বা সরানোর সময় সুবিধা পাওয়া যায়। র‍্যাকগুলির উচ্চতা ২ মিটারের বেশি হওয়া উচিত নয়। গ্রোথ রুমে আলোকসজ্জার প্রাথমিক উৎস সাধারণত তাকে লাগানো লাইট সমূহ। ওভারহেড আলোর উৎসগুলি যত কম হয় তত ভালো, কারণ শুধুমাত্র অন্ধকারচক্রের সময় কাজ করার সুবিধার্থে সেগুলি ব্যবহৃত হয়। উদ্ভিদ কালচারের ক্ষেত্রে প্রচলিত সংযুক্ত আলোকসজ্জা থেকে অভিন্ন আলো পায় না। তাছাড়া র‍্যাকগুলিতে লাগানো লাইটগুলি সরাসরি অসম তাপের সৃষ্টি করে। সেক্ষেত্রে পার্শ্ববর্তী আলোকসজ্জা একটি বিকল্প উৎস হতে পারে, যেখানে কম সংখ্যক লাইট প্রয়োজন হয় এবং সুষম আলো পাওয়া

যায়। কিন্তু কালচারগুলিকে তাকের বাইরে নিয়ে যাওয়ার সময় লাইটগুলি যাতে না ভেঙ্গে যায় সেদিকে যত্ন নিতে হবে। বৃদ্ধি কক্ষের জন্য স্টেরিলিটি ক্লাস ১,০০,০০০ হওয়া আবশ্যক।

চিত্র ঃ কালচার গ্রোয়িং এরিয়া।

স্থায়ি সম্পদ সমূহ

১. ল্যাব বিল্ডিং (৪০০০ বর্গফুট)।

২. মিস্ট বা শেড ঘর এবং নার্সারি।

৩. ইউটিলিটি।

৪. বিবিধ।

মিস্টিং সিস্টেম, পানি সরবরাহ এবং আলো ব্যবস্থা সহ একটি গ্রিন হাউজ এবং শেড ঘরের ব্যবস্থা থাকতে হবে।

চিত্র ঃ গ্রিন হাউজ এবং মিস্ট হাউজ।

উপসংহার

উদ্ভিদের দ্রুত বংশ বিস্তার, উন্নয়ন এবং সংরক্ষণে টিস্যু কালচার প্রযুক্তি বিগত কয়েক দশক বিজ্ঞানের আধুনিক ও বিস্ময়কর সংযোজন হিসাবে আত্মপ্রকাশ করেছে। বিশ্বের ক্রমবর্ধমান জনসংখ্যার সাথে বৃদ্ধি পাচ্ছে খাদ্য সহ মৌলিক চাহিদাগুলি। প্রচলিত উদ্ভিদ প্রজনন পদ্ধতির মাধ্যমে উৎপাদন বৃদ্ধি ও চাহিদা পূরণ সম্ভব হচ্ছে না। উদ্ভূত এ সমস্যা সমাধানের লক্ষ্যে উদ্ভিদ জৈব প্রযুক্তি এবং প্লান্ট টিস্যু কালচার একটি বিকল্প পদ্ধতি হিসাবে দীর্ঘদিন ধরে স্বীকৃতি পেয়ে আসছে। ফলে সৃষ্টি হয়েছে এ প্রযুক্তির ব্যাপক বাণিজ্যিক সম্ভাবনা। উদ্ভিদের কৌলিক, প্রজনন এবং বনায়নে এ প্রযুক্তি গুরুত্বপূর্ণ ভূমিকা পালন করছে। রোগমুক্ত উন্নত গুণাগুণ সম্পন্ন উদ্ভিদের চারা উৎপাদনে টিস্যু কালচার অত্যন্ত কার্যকর। তদুপরি, টিস্যু কালচারজাত চারা বছরের যে কোন সময় রোপন করা যায় ফলে কৃষকের কাছে ঋতুর প্রভাব দূরীভূত হয়। বর্তমানে টিস্যু কালচার প্রক্রিয়াটি শিল্পের আকার নিচ্ছে কারণ অনেক কৃষক টিস্যু কালচারের মাধ্যমে উৎপাদিত চারা রোপন, বিতরণ এবং বিক্রি করছে। টিস্যু কালচার প্রযুক্তি বর্তমানে নতুন এবং বিলুপ্তপ্রায় উদ্ভিদের বংশ বিস্তারের ক্ষেত্রে জনপ্রিয় কৌশল হিসাবে দ্রুত বিস্তার লাভ করছে। কিছু সীমাবদ্ধতা বিশেষ করে আর্থিক ও বিপনন থেকে পরীক্ষাগার গুলিকে মুক্ত করা গেলে এ প্রযুক্তির বাণিজ্যিক ব্যবহারে বিশাল ব্যবসায়িক সম্ভাবনা রয়েছে। বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট, চট্টগ্রাম এর সিলভিকালচার জেনেটিক্স বিভাগের টিস্যু কালচার ল্যাবরেটরিতে সার্বক্ষণিক উদ্ভিদের টিস্যু কালচার গবেষণা চলমান আছে এবং বাঁশ সহ গুরুত্বপূর্ণ উদ্ভিদ প্রজাতির টিস্যু কালচার কৌশল ইতোমধ্যে উদ্ভাবিত হয়েছে। তাই বিশ্বায়নের এ যুগে আমরা টিস্যু কালচার প্রযুক্তির প্রয়োজনীয়তা অনুভব করছি এবং জাতীয় চাহিদা পূরণে এই প্রযুক্তির উন্নয়নে আমাদের প্রচেষ্টা অব্যাহত আছে।

শব্দকোষ

Acclimatization ঃ এক পরিবেশ থেকে ভিন্নতর কোন পরিবেশে উদ্ভিদের খাপ খাওয়ানোকে বলে acclimatization ।

Adventitious bud ঃ জাইগোটীয় উৎস থেকে উদ্ভূত না হয়ে উদ্ভিদের অন্য কোন উৎস হতে (bud) উৎপন্ন হওয়াকে বুঝায়।

Adventive embryo ঃ কোন অযৌন উপায়ে (asexual process) সৃষ্ট ও বিকাশিত ভ্রূণকে adventive embryo বলে।

Adventitious root ঃ জাইগোটীয় উৎস অর্থাৎ বীজের ভ্রূণমূল (radicle) ব্যতিরেকে উদ্ভিদের অন্য যে কোন অংশ হতে মূলের উদ্ভব হলে তাকে adventitious root বলে।

Adventitious shoot proliferation ঃ বীজের ভ্রূণমুকুল (Plumule), পাতার কক্ষ (Axillary bud) ও কান্ডের শীর্ষ (Apical bud) ব্যতীত উদ্ভিদ দেহের ভিন্ন কোন স্থান হতে যেমন পর্বমধ্য, মূল, পাতা ক্যালাস কালচার ইত্যাদি) কোন মুকুল (Bud) তথা কান্ড উৎপন্ন হলে তাকে Adventitious shoot proliferation বলে।

Amino acid ঃ এক ধরণের জৈব যৌগ (Organic compound) যা এমিনো ($-NH_2$) গ্রুপ এবং কার্বক্সিল ($-COOH$) গ্রুপ বহন করে। এমিনো এসিডগুলো পরপর চেইন আকারে যুক্ত হয়ে প্রোটিন অনু গঠন করে। টিস্যু কালচার গবেষণায় সাধারণত ব্যবহৃত এমিনো এসিড হল গ্লাইসিন (Glycine), সিসটিন (Cysteine) প্রভৃতি।

Androgenesis ঃ কোন কর্মক্ষম পুংরেণু (functional poller grain) থেকে হ্যাপ্লয়েড উদ্ভিদ উৎপন্ন হওয়ার বিশেষ পদ্ধতিকে androgenesis বলে।

Anther culture ঃ যে বিশেষ কৌশলের মাধ্যমে পুষ্পমঞ্জরী থেকে সংগ্রহকৃত অপ্রস্ফুটিত পুষ্পমুকুল এর অভ্যন্তরস্থ বিকশিত পরাগধানীকে একটি বিশেষ দশায়, কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কালচার করা হয় তাকেই anther culture বলে।

Antioxidants ঃ এক ধরণের রাসায়নিক পদার্থ যা কালচারকৃত অংশ (explant) থেকে ফেনোল জাতীয় পদার্থের নিঃসরণকে রোধ করে।

Apical meristem ঃ উদ্ভিদ দেহের মূল ও কান্ডের একেবারে শীর্ষস্থ অঞ্চলে বিভাজনক্ষমতা সম্পন্ন এক গুচ্ছ কোষ বা কলাকে apical meristem বলে।

Aseptic technique ঃ বিশেষ পদ্ধতিতে সম্পূর্ণ জীবাণুমুক্ত পরিবেশ বজায় রেখে কোষ, টিস্যু বা অঙ্গ কালচার করা বুঝায়।

Axillary bud ঃ ইহা পাতার অক্ষ (axil) থেকে উৎপন্ন হয় যা পরবর্তীতে axillary bud উৎপন্ন করে।

Axillary shoot proliferation ঃ পাতার কক্ষ (leaf-axil) থেকে কাক্ষিক মুকুল (axillary bud) তথা কান্ডের বৃদ্ধি ও বিকাশ হওয়াকে বুঝায়।

Calliclone ঃ ক্যালাস কালচার থেকে উদ্ভূত উদ্ভিদসমূহকে calliclone বলে।

Callus : অনিয়মিত বৃদ্ধি ও অসম গঠন সম্পন্ন কোষপুঞ্জকে callus বলে।

Cell culture : উদ্ভিদ দেহের কোন অঙ্গ, টিস্যু বা ক্যালাস থেকে আলাদাকৃত কোন একক কোষ বা কোষসমূহ যে ইন ভিট্রো পদ্ধতিতে কালচার করা হয় তাকে cell culture বলে।

Clonal propagation : কোন একক উদ্ভিদ উৎস থেকে অযৌন উপায়ে জীনগত অভিন্ন বৈশিষ্টসম্পন্ন উদ্ভিদসমূহের propagation কে বুঝায়।

Clone : কোন একক উদ্ভিদ থেকে অঙ্গজ জননের (vegetative propagation) মাধ্যমে সৃষ্ট সব উদ্ভিদকে একসাথে clone বলে।

Cotyledon : বীজত্বকের (seed-coat) ভিতরে এন্ডোস্পার্ম (endosperm) ছাড়া ভ্রূণাক্ষের (embryonal axis) উভয়পার্শ্বে (দ্বিবীজপত্রীর ক্ষেত্রে) পাতার ন্যায় যে অংশ থাকে তাকে cotyledon বলে।

Cybrid : দুই বা ততোধিক প্রোটোপ্লাস্ট ফিউসনের ফলে যখন তাদের প্রোটোপ্লাজমসমূহ মিলিত (fusion) হয় (তবে তাদের নিউক্লিয়াস মিলিত হয় তবে পরবর্তীতে তাদের একটি বিলুপ্ত হয়ে যায় অথবা ফিউসনের পূর্বে বিভিন্ন রেডিয়েশনের মাধ্যমে একটির নিউক্লিয়ার জিনম নষ্ট করে দেওয়া হয়) এই অবস্থাকে Cybrid বা cytoplasmic hybrid বলে।

De-differentiation : কোন সুগঠিত উদ্ভিদ অংশ বা অঙ্গ ইন ভিট্রো কালচার করে ক্যালাস আবিষ্টকরণের মাধ্যমে অনিয়মিত বৃদ্ধি এবং অসম গঠন সম্পন্ন অবয়বে রূপান্তর করাকে de-differentiation বলে।

Differentiation : উদ্ভিদ দেহ বিকাশের সুচনালগ্নে কোষ, কলা বা অঙ্গে যে গঠনগত ও কার্যত (structural functional) পরিবর্তন দেখা যায় তাকেই differentiation বলে।

Direct regeneration : কালচারকৃত এক্সপ্লান্ট থেকে সরাসরি কোন অঙ্গ বিকাশ হওয়াকে বুঝায়।

Embryogenic/non-embryogenic callus : ভ্রূণ উৎপাদনে সক্ষম ক্যালাসকে embryogenic আর ভ্রূণ উৎপাদনে অক্ষম ক্যালাসকে non-embryogenic callus বলে।

Embryoid : টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ায় উদ্ভিদের দৈহিক কোষ কলা থেকে সৃষ্ট ভ্রূণকে সোমাটিক এমব্রায়ো বা embryoid বলে।

Enzyme : এনজাইম এক প্রকার জৈব অনুঘটক (bio-catalyst) যা জীবদেহে বিভিন্ন জৈব রাসায়নিক বিক্রিয়াকে ত্বরান্বিত করে। রাসায়নিকভাবে সকল এনজাইম প্রোটিন দ্বারা গঠিত।

Epicotyl : অংকুরিত বীজে ভ্রূণমুকুল (plumule) ও বীজপত্রের (cotyledon) সংযোগস্থলের মধ্যবর্তী অংশকে epicotyl বলে। এটি কটিলেডনের উপরে অবস্থান করে।

Explant : টিস্যু কালচার গবেষণায় ব্যবহৃত, সংগ্রহকৃত যে কোন উদ্ভিদ বা উদ্ভিদাংশকে explant বলে।

Fe-EDTA : পুরো অর্থ Ferric-ethylenediamine tetra-acetate সংক্ষেপে Fe-EDTA। ইহা টিস্যু কালচারের নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে আয়রণ উৎস হিসাবে ব্যবহৃত হয়।

Hormone : ইহা এক প্রকার জৈব পদার্থ যা উচ্চশ্রেণীর উদ্ভিদে স্বতঃস্ফূর্তভাবে তৈরি হয় আবার কৃত্রিম উপায়ে রাসায়নিক পদ্ধতিতেও উৎপাদন করা যায়। ইহা উদ্ভিদের বৃদ্ধি ও অন্যান্য বিপাক ক্রিয়া নিয়ন্ত্রণ করে। IAA, IBA, IPA, BA, GA_3, 2,4-D প্রভৃতি এর অর্ন্তভুক্ত।

Hypocotyl : অংকুরীত বীজে ভ্রূণমূল (radicle) ও বীজপত্রের (cotyledon) সংযোগস্থলের মধ্যবর্তী অংশকে hypocotyl বলে। এটি কটিলেডনের নীচে অবস্থান করে।

Gene bank : জার্মপ্লাজমের ভান্ডারকে বুঝায়।

Germplasm : ফসল উন্নয়ন তথা উদ্ভিদ প্রজননে (plant breeding) ব্যবহৃত যে কোন ধরণের জেনেটিক উৎসকে বুঝায়।

Indirect regeneration : কালচারকৃত এক্সপ্ল্যান্ট যখন ক্যালাস আবিষ্টকরণের মাধ্যমে অর্থাৎ ক্যালাস থেকে কোন অঙ্গের (মূল, কান্ড ইত্যাদি) বিকাশ ঘটাকে বুঝায়।

***In vitro* :** এটি একটি ল্যাটিন শব্দ। গবেষণার উদ্দেশ্যে কোন কাঁচের পাত্র বা প্লাস্টিকের পাত্রের (অটোক্লেভ সহনশীল) অভ্যন্তরে জীবাণুমুক্ত অবস্থায় কৃত্রিমভাবে কোন জীব থেকে পৃথককৃত কোষ, কলা বা অঙ্গের কালচার করাকে বুঝায়। আক্ষরিক অর্থে 'in glass'বুঝায়।

***In vivo* :** এটি একটি ল্যাটিন শব্দ। যখন কোষ, টিস্যু বা অঙ্গ জীবের সঙ্গে অবিচ্ছিন্ন বা intact অবস্থায় থাকে। আক্ষরিক অর্থে 'in life'বুঝায়।

***In vitro* propagation :** কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে ও নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে কোন পাত্রের অভ্যন্তরে যখন কোন উদ্ভিদের প্রোপাগেশন ঘটানো হয় তাকে *in vitro* propagation বলে।

Inoculum : কালচার করার জন্য যে সমস্ত কোষ, কলা, অঙ্গ বা যে অংশ ইনকুলেশন করা হয় তাদের এক অর্থে inoculum বলে।

Inter-specific hybridization : একই গণের অর্ন্তভুক্ত দুই বা ততোধিক ভিন্ন ভিন্ন প্রজাতির অর্ন্তভুক্ত উদ্ভিদের মধ্যে সংকরায়নকে বুঝায়। একে intra-genic hybridization ও বলে।

Intra-specific hybridization : একই প্রজাতির অর্ন্তভুক্ত দুই বা ততোধিক জাতের বা ভ্যারাইটির মধ্যে সংকরায়নকে inter-specific hybridization বলে। একে inter-varietal hybridization ও বলে।

Lux : আলোক তীব্রতার একক।

Meristem culture : উদ্ভিদদেহের শীর্ষস্থ অংশে (কান্ড বা মূল) অবস্থিত অধিক বিভাজন ক্ষমতা সম্পন্ন কলা বা টিস্যুকে কৃত্রিমভাবে উদ্ভিদদেহ থেকে আলাদা করে উপযুক্ত নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করাকে meristem culture বলে।

Meritomoid : বিভাজনক্ষম অঞ্চল (meristematic region) কে meritomoid বলে।

Micro-mole : ইহা মোলের এক অতি ক্ষুদ্র ভগ্নাংশ। ইহাকে μM হিসাবে নির্দেশ করা হয়। $1\ \mu M = 10^{-6}\ M$

Molar solution : পানিতে দ্রবীভূত হয় এমন কোন পদার্থের গ্রাম আণবিক ওজন পরিমান পদার্থ যদি পানিতে দ্রবীভূত করে এর আয়তন এক লিটার করা হয় তবে ঐ দ্রবণকে molar solution বলে।

Nodal segment culture : উদ্ভিদদেহের কান্ড বা শাখা প্রশাখায় অবস্থিত পর্ব বহনকারী অংশের কালচার করাকে বুঝায়। পর্বের অক্ষে কাক্ষিক মুকুল (axillary bud) থাকে।

Normal solution : এক লিটার পানিতে এক গ্রাম তুল্য ওজন পরিমান কোন পদার্থ দ্রবীভূত করে যে দ্রবণ তৈরী হয় তাকে normal solution বলে।

Nurse culture : কোন আলাদাকৃত কোষ এককভাবে সরাসরি নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে বৃদ্ধি পেতে পারে না কিন্তু দ্রুত বৃদ্ধি পায়, এমন কোন টিস্যুর উপস্থিতিতে যদি ঐ কোষের বৃদ্ধি ঘটে তবে এই ধরণের সহায়ক ও দ্রুত বৃদ্ধিসম্পন্ন টিস্যুকে বলে nurse tissue। কালচার মিডিয়ামে এই nurse tissue এর উপস্থিতিতে কোন কোষ উদ্দীপিত হয়ে বৃদ্ধিপ্রাপ্ত হওয়ার অবস্থাকে nurse culture বলে।

Nutrient medium : এক ধরণের পুষ্টি উপাদান যেখানে অজৈব ও জৈব লবন, কার্বোহাইড্রেড, আয়রণ, ভিটামিন ও এমিনো এসিডের উৎসসহ প্রয়োজনে বিভিন্ন বৃদ্ধিউদ্দীপক পদার্থ সংমিশ্রিত অবস্থায় থাকে। এটি তরল বা অ্যাগার যোগে অর্ধকঠিন অবস্থায়ও ব্যবহার করা হয়ে থাকে।

Organ culture : উদ্ভিদ দেহের কোন সুগঠিত অংশে যেমন কান্ডাগ্র, মূলাগ্র, কান্ডাংশ, পাতা ইত্যাদি আলাদাভাবে সুনির্দিষ্ট কোন নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে জীবাণুমুক্ত পরিবেশে কালচার করাকে organ culture বলে।

Organogenic/non-organogenic callus : অস্থানিক মুকুল, বিটপ বা মূল উৎপাদন ও বিকাশে সক্ষম ক্যালাসকে organogenic এবং যে সব ক্যালাস এই সকল অঙ্গ উৎপাদন ও বিকাশে অক্ষম তাদের non organogenic ক্যালাস বলে।

Organogenesis : কোন অসম সংগঠনসম্পন্ন (undifferentiated) কোষ বা কলা থেকে টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ায় কোন অস্থানিক অঙ্গের (adventitious organ) যেমন মূল, কান্ড ইত্যাদির উদ্ভব ও বিকাশ হওয়ার পদ্ধতিকে organogenesis বলে।

Plant tissue culture : যে বিশেষ পদ্ধতিতে উদ্ভিদের সজীব কোন ক্ষুদ্র অংশে, যেমন মূল, কান্ড, পাতা বা উদ্ভিদের অন্য কোন অংশের কলা বা টিস্যুকে কৃত্রিম নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে জীবাণুমুক্ত ও নিয়ন্ত্রিত পরিবেশে কালচার করে কোষ বা কলার বৃদ্ধি, বিকাশ তথা অণুচারা উৎপাদন সংক্রান্ত গবেষণা করা হয় তাকে plant tissue culture বলে।

Plantlet : কালচার টিউব বা পাত্রে উৎপাদিত ক্ষুদ্র চারা বা অণুচারা বা অংকুরিত ভ্রূণকে plantlet বলে।

Ploidy/ Genome : কোন প্রজাতির প্রতিটি কোষে তথা প্রতিটি নিউক্লিয়াসে সর্বনিম্ন সংখ্যক ক্রোমোজম মিলে যে একটি সেট গঠন করে তাকে ploidy বা genome বলে। ইহাকে 'X' দ্বারা প্রকাশ করা হয়ে থাকে।

Primary culture : যখন কোন এক্সপ্লান্ট উদ্ভিদদেহ থেকে সংগ্রহ করে সরাসরি কালচার করা হয় তাকে primary culture বলে।

Protoplast fusion ঃ উদ্ভিদকোষ থেকে আলাদাকৃত দুই বা ততোধিক প্রোটোপ্লাস্টের মিলিত অবস্থাকে বুঝায়। Genetically incompatible প্রজাতিসমূহের মধ্যে protoplast fusion একটি ফলপ্রসূ পদ্ধতি।

Protoplast culture ঃ যে বিশেষ ইন ভিট্রো পদ্ধতিতে উদ্ভিদদেহের কোন টিস্যু বা কোষ কালচার থেকে সজীব প্রোটোপ্লাস্ট বিশেষ উপায়ে আলাদা করে কালচার করা হয় তাকে protoplast culture বলে।

p^H ঃ কোন একটি দ্রবণের অম্লত্ব এবং ক্ষারত্ব, উক্ত দ্রবণে হাইড্রোজেন আয়নের ঘনমাত্রা দ্বারা যাচাই করা হয়ে থাকে। সাধারণতঃ কোন দ্রবণের হাইড্রোজেন আয়নের ঘনমাত্রা এর ঋনাত্মক লগারিদমকে দ্বারা নির্দেশ করা হয়। অর্থাৎ p^H log = -[H+] । p^H -এর মান ০ হতে ১৪ পর্যন্ত হতে পারে।

Re-differentiation ঃ যখন কোন অনিয়মিত বৃদ্ধি ও অসম গঠনসম্পন্ন ক্যালাস, নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে ব্যবহৃত সঠিক ও উপযুক্ত মাত্রায় হরমোনের প্রভাবে গঠনগত ও কার্যত পরিবর্তনের মাধ্যমে সুগঠিত অবয়বে পরিণত হয়। এই সুসংগঠন ক্ষমতা অর্জনের ফলে ক্যালাস থেকে অস্থানিক (adventitious) বিটপ বা মূলের উৎপত্তি ও বিকাশ ঘটে। ইহাই re-differentiation।

Regeneration ঃ কালচার মিডিয়ামে যথাযথ মাত্রায় হরমোনের উদ্দীপনায় যখন কোন (পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ থেকে সংগ্রহকৃত) এক্সপ্লান্ট হতে অঙ্গ, ভ্রূণ অথবা পূর্ণাঙ্গ উদ্ভিদ উৎপন্ন হয় তাকে regeneration বলে।

Secondary culture ঃ প্রাইমারি কালচারের উৎস থেকে পরবর্তী পর্যায়ে যে কালচার করা হয় তাহাই secondary culture । ক্যালাস কালচার, সেল সাসপেনসন কালচার এই ধরণের কালচারের অর্ন্তভূক্ত।

Shoot tip/shoot apex/shoot apices culture ঃ কান্ডের শীর্ষস্থ ভাজক কলা অংশের কালচার করা কে বুঝায়।

Somaclone ঃ উদ্ভিদের দৈহিক কোষ বা কলা থেকে টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ায় উদ্ভূত একই বৈশিষ্টসম্পন্ন উদ্ভিদসমূহকে বলে somaclone ।

Somaclonal variation ঃ উদ্ভিদের সজীব দৈহিক কোষ বা কলা থেকে টিস্যু কালচারের মাধ্যমে সৃষ্ট উদ্ভিদসমূহের মধ্যে (জিনগত ভিন্নতার ফলস্বরুপ) যে phenotype গত ভিন্নতা দেখা যায় তাহাই somaclonal variation। এই ভিন্নতা এপিজেনেটিক বা জেনেটিক হতে পারে।

Somatic embryo ঃ টিস্যু কালচার প্রক্রিয়ায় দৈহিক কোষ (somatic cell) থেকে এমব্রায়ো (embryo)-এর উদ্ভব ঘটিলে তাকে somatic embryo বলে।

Somatic embryogenesis ঃ যে বিশেষ প্রক্রিয়ায় (সাধারণত ক্যালাস কালচারের মাধ্যমে) উদ্ভিদের সক্ষম দৈহিক কোষ বা কলা থেকে স্বাভাবিক ভ্রূণের ন্যায় অসংখ্য ক্ষুদ্র, সুগঠিত, দ্বিমেরুবিশিষ্ট (bipolar) ভ্রূণের বিকাশ ঘটে তাকে somatic embryogenesis বলে।

Somatic hybridization ঃ ইন ভিট্রো পদ্ধতিতে জিনগত (genetically) আলাদা দু'টি দৈহিক কোষের ফিউসনকে somatic hybridization বা somatic cell hybrid বলে।

Sub-culture ঃ এটির অর্থ পুনরায় কালচার করা। কালচারকৃত কোষ বা কলাকে একটা নির্দিষ্ট সময় পর পর একই বা ভিন্ন মাত্রার নিউট্রিয়েন্ট মিডিয়ামে কালচার করার পদ্ধতিকে বুঝায়।

Totipotency ঃ জীবন্ত কোষ থেকে পূর্ণাঙ্গ জীব সৃষ্টির সক্ষমতাকেই totipotency বলে। G. Haberlandt (1902) সর্বপ্রথম উদ্ভিদকোষে totipotency-এর গুরুত্ব অনুধাবন করেন।

True-to-type ঃ মাতৃ উদ্ভিদ (mother plant) ও তা থেকে সৃষ্ট উদ্ভিদসমূহের মধ্যে যখন একই রকম চারিত্রিক বৈশিষ্ট্য দেখা যায় এই অবস্থাকে true-to-type বলে। অন্যভাবে বলা যায় যে, পিতা-মাতা ও তার বংশধরদের মধ্যে (ফিনোটাইপগত ও জেনোটাইপগত দিক দিয়ে) একই রকম বৈশিষ্ট্যের সমাবেশকে true-to-type বলে।

Undifferentiated ঃ কালচারে যখন কোন কোষ গঠনগত এবং কার্যত পরিবর্তনের মাধ্যমে সুসংগঠিত অবয়বে পরিণত হতে অক্ষম। অর্থাৎ একটি কোষ ইন ভিভো অবস্থায় যেমন আচরণ করে ইন ভিট্রো পরিবেশে তেমন করতে অক্ষম হলে তাকে undifferentiated অবস্থা বলা হয়।

Vitamin ঃ উদ্ভিদ দেহে উদ্ভূত একধরণের জৈব রাসায়নিক পদার্থ যা কোষ বিপাকে (cell metabolism) অনুঘটক (catalytic) হিসাবে কাজ করে। ভিটামিনের কার্যকারিতা কো-এনজাইমের ন্যায়। টিস্যু কালচারে সচরাচর ব্যবহৃত ভিটামিনগুলো হচ্ছে ইনসিটল, নিকোটিনিক এসিড, পাইরিডক্সিন, থাইমিন প্রভৃতি।

যোগাযোগ : বিভাগীয় কর্মকর্তা, সিলভিকালচার জেনেটিক্স বিভাগ
বাংলাদেশ বন গবেষণা ইনস্টিটিউট
ষোলশহর, চট্টগ্রাম।
টেলিফোন : +৮৮ ০২ ৩৩৪৪৮১৫৭২ ই-মেইল : dosgd@bfri.gov.bd ওয়েবসাইট : www.bfri.gov.bd