

## ഹാർഡനിങ്

ലാബിലെ നിയന്ത്രിത സാഹചര്യങ്ങളിൽ വളരുന്ന ടിഷ്യൂകൾചർ സസ്യങ്ങളെ നേരിട്ട് സാധാരണ സൂര്യപ്രകാശത്തിൽ നടാൽ അവ വേഗത്തിൽ വാടിക്കരിഞ്ഞു പോകും. അതുകൊണ്ട് അവയെ കൃഷിഭൂമിയിലേക്ക് കൊണ്ടുപോകുന്നതിന് മുമ്പ് ഒരു ശ്രീൻ ഹൗസിൽ വച്ച് പകുതി ലാബ് സാഹചര്യവും പകുതി ബാഹ്യ സാഹചര്യവും ഒരുക്കി പൊരുത്തപ്പെടുത്തി എടുക്കേണ്ടതുണ്ട്. ഇതിനെ ഹാർഡനിങ് (Hardening) എന്ന് വിളിക്കുന്നു. അതിനുശേഷം അവയെ കൃഷിഭൂമിയിൽ എത്തിക്കാം.



പ്രകാശവും താപവുമൊക്കെ ക്രമീകരിച്ചിരിക്കുന്ന ടിഷ്യൂ കൾചർ ലാബിലെ തട്ടുകൾ

## അണുവിമുക്ത സാഹചര്യം

കൾചറിന് ഉപയോഗിക്കുന്ന മാധ്യമവും എക്സ്‌പ്ലാന്റും അണുവിമുക്തമാകണം. അല്ലെങ്കിൽ മാധ്യമത്തിൽ വയ്ക്കുന്ന സസ്യഭാഗം വളരുന്നത് തടഞ്ഞുകൊണ്ട് പൂപ്പലും ബാക്ടീരിയകളും കൾചർ പാത്രത്തിൽ വളർന്ന് നിറയും. ഓട്ടോക്ലേവ് സംവിധാനം ഉപയോഗിച്ചാണ് പാത്രങ്ങളും മറ്റു ഘടകങ്ങളുമൊക്കെ അണുവിമുക്തമാക്കുന്നത്. നമ്മുടെ പ്രഷർക്കുക്കറിന്റെ വലിയ രൂപമാണ് ഓട്ടോക്ലേവ്. ഉന്നത മർദ്ദത്തിൽ നീരാവി നിറയുന്ന ഈ ഉപകരണത്തിനുള്ളിൽ എല്ലാ സൂക്ഷ്മാണുക്കളും സ്പോറുകളും നശിച്ചുപോകും. കൾചറിന് തിരഞ്ഞെടുക്കുന്ന എക്സ്‌പ്ലാന്റിന്റെ ഉപരിതലത്തിലും സൂക്ഷ്മാണുക്കൾ കണ്ടേക്കാം. ഈമെൽ ആൾക്കഹോൾ, മെർക്കുറിക്ലോറൈഡ് തുടങ്ങിയവയിലൊന്നുപയോഗിച്ച് അണുവിമുക്തമാക്കിയ ശേഷമാണ് സസ്യഭാഗത്തെ മാധ്യമത്തിലിടുന്നത്.

എക്സ്‌പ്ലാന്റ് മാധ്യമത്തിലേക്ക് ഇടുന്ന സമയത്ത് അന്തരീക്ഷത്തിൽ നിന്ന് അണുക്കളോ സ്പോറുകളോ കൾചർ മാധ്യമം നിറച്ച പാത്രത്തിൽ കടന്നേ



ലാമിനാർ ഫ്ലോ ഹൂഡ്

ക്കാം. ഇതൊഴിവാക്കാൻ സസ്യഭാഗം പാത്രത്തിലിടുന്ന പ്രക്രിയ (Inoculation) അണുവിമുക്ത അന്തരീക്ഷം പ്രദാനം ചെയ്യുന്ന ലാമിനാർ ഫ്ലോ ഹൂഡിൽ (Laminar flow hood) വച്ചാണ് ചെയ്യുന്നത്. ഇതിനുള്ളിലെ വായുപ്രവാഹം ബാക്ടീരിയ പോലുള്ള സൂക്ഷ്മാണുക്കളെ തടഞ്ഞു നിർത്തുന്നു. കൂടാതെ അതിലെ അൾട്രാവയലറ്റ് ലൈറ്റ് അണു നശീകരണം ഉറപ്പാക്കുന്നു.

## കാലസ് (callus)

പ്രകാശം, താപനില, ജലസാന്ദ്രത, വായുസഞ്ചാരം എന്നിവയൊക്കെ ക്രമീകരിച്ച കൾചർ ലാബിലെ തട്ടുകളിലാണ് സസ്യഭാഗം നിക്ഷേപിച്ച കൾചർ പാത്രങ്ങൾ വയ്ക്കുന്നത്. അനുകൂല സാഹചര്യങ്ങളിൽ എക്സ്‌പ്ലാന്റ് കോശങ്ങൾ ദ്രുതഗതിയിൽ വളർന്ന് ഒരു ടിഷ്യൂ പിണ്ഡം (Tissue mass) ഉണ്ടാവുന്നു. ഇതിനെ കാലസ് എന്ന് വിളിക്കുന്നു. ഹോർമോണുകൾ ഉപയോഗിച്ച് കാലസിൽനിന്ന് വേരും, കാമ്പും രൂപപ്പെടുത്തിയെടുക്കാം. എന്നാൽ ഈ ഘട്ടത്തിലേക്കു പോകുന്നതിനു പകരം കാലസിനെ വീണ്ടും ക്ഷണങ്ങളാക്കി മാറ്റി മറ്റനേകം കൾചർ മാധ്യമങ്ങളിലേക്ക് നിക്ഷേപിച്ച് അതിലൊക്കെ കാലസ് രൂപീകരണം നടത്തി നൂറുകണക്കിന് പാത്രങ്ങളിലായി കാലസ് വർധന നടത്താം. പിന്നീട് അവയിലൊക്കെ വേരും തലപ്പും മുളപ്പിച്ച് ആവശ്യത്തിനു ടിഷ്യൂ കൾചർ തൈകളെ ഉണ്ടാക്കിയെടുക്കുകയുമാവാം. അതുകൊണ്ടുതന്നെയാണ് ടിഷ്യൂകൾചർ സൂക്ഷ്മ പ്രജനന (Micro-propagation) മാർഗമാണ് എന്നു പറയുന്നത്. ഒരു കാലസിനെ വീണ്ടും ക്ഷണങ്ങളാക്കി അനേകം കൾചർ പാത്രങ്ങളിലൂടെ വർധിപ്പിക്കുന്നതിനെ സബ്കൾചറിങ് എന്ന് വിളിക്കാം.



എക്സ്‌പ്ലാന്റ് കാലസായി വളരുന്നു

## സാധ്യതകളും പ്രയോജനങ്ങളും

- ചുരുങ്ങിയ സമയംകൊണ്ട് മാതൃ സസ്യത്തിന്റെ അതേ രൂപവും സ്വഭാവമുള്ള ആയിരക്കണക്കിന് തൈകൾ (Clone) ഉണ്ടാക്കിയെടുക്കാം.
- പ്രായമായ സസ്യഭാഗങ്ങളിൽനിന്ന് ശേഖരിക്കുന്ന കോശങ്ങൾ ഉപയോഗിച്ച് രൂപപ്പെടുത്തിയെടുക്കുന്ന സസ്യങ്ങൾ പെട്ടെന്ന് വിളവ് തരും.
- വിത്തുൽപാദിപ്പിക്കാത്ത സസ്യങ്ങളുടെ പ്രജനനത്തിന് ഉപയോഗിക്കാം.

- ജനിതക വ്യതിയാനം വരുത്തിയ കോശങ്ങളിൽനിന്ന് പൂർണ്ണ സസ്യത്തെ പുനഃസൃഷ്ടിക്കാൻ ഉപയോഗിക്കാം.
- പ്രത്യുൽപാദന ശേഷി ഇല്ലാത്ത സങ്കര സസ്യങ്ങളുടെ വംശവർധനവിന്.
- ഓർക്കിഡ് പോലുള്ള സസ്യങ്ങളിൽ ഭ്രൂണത്തിന് പോഷണം കൊടുക്കേണ്ടുന്ന എൻഡോസ്പേം ഇല്ലാത്തതിനാൽ വിത്ത് മുളയ്ക്കാറില്ല. ഇത്തരം വിത്തുകൾ ടിഷ്യൂ കൾചർ ചെയ്ത് മു

- ളപ്പിക്കാം.
- വൈറസ് പോലുള്ള രോഗകാരികൾ ബാധിച്ച സസ്യങ്ങളുടെ വിത്തോ ശരീരഭാഗമോ പ്രജനനത്തിന് ഉപയോഗിച്ചാൽ അടുത്ത തലമുറയിലും രോഗം എത്തും. എന്നാൽ രോഗം ബാധിച്ച സസ്യങ്ങളുടെ അഗ്ര മെറിസ്റ്റോമിക കോശങ്ങൾ ടിഷ്യൂകൾചർ ചെയ്താൽ ഉണ്ടായി വരുന്ന പുതിയ സസ്യത്തിന് രോഗബാധ കാണില്ല.