अध्याय 2

जैव प्रौद्योगिकी : परिभाषा, संक्षिप्त इतिहास, महत्व एवं ऊतक संवर्धन (Biotechnology : Definition, Brief History, Importance & Tissue Culture)

परिभाषा (Definition) :

जैव प्रौद्योगिकी जिसे अंग्रेजी में Biotechnology कहते हैं, यह शब्द Biology एवं Technology शब्दों को जोड़कर बना है।

जैव प्रौद्योगिकी (Biotechnology) में विज्ञान एवं अभियांत्रिकी के सिद्धान्तों का उपयोग करके जैविक कारकों की सहायता से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों का सृजन किया जाता है।

जैविक कारकों, जैसे सूक्ष्मजीवों, कोशिकाओं और उनके अवयवों के नियंत्रित उपयोग से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों या सेवाओं के उत्पादन को जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं।

पात्रे संवर्धन (*in vitro* Culture) करके पारजीनी (Transgenic) जंतु एवं पादप कोशिकाओं से उत्पाद प्राप्त करने की प्रक्रिया को जैव प्रौद्योगिकी कहा जाता है।

पादप जैव प्रौद्योगिकी (Plant Biotechnology) :

जब जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग पौधों में आनुवांशिक सुधार या उनके निष्पादन में सुधार आदि के लिए किया जाता है तो उसे पादप जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं।

इतिहास (History) :

जैव प्रौद्योगिकी एक प्राचीन विज्ञान है, लेकिन आजकल जैव प्रौद्योगिकी का तेजी से बढ़ता महत्त्व आनुवांशिक अभियांत्रिकी के कारण है। आनुवांशिक अभियांत्रिकी द्वारा वांछित जीन को किसी भी जीव से किसी अन्य जीव में स्थानान्तरित किया जा सकता है, जहाँ वह जीन अपनी अभिव्यक्ति करके उपयोगी उत्पाद उत्पन्न कर सकता है।

जब मनुष्य, सूक्ष्म जीवों एवं उनके उपयोग के बारे में नहीं जानता था, उस समय भी जैव प्रौद्योगिकी की प्रक्रिया होती थी। दही, सिरका, शराब आदि के उत्पादन में सूक्ष्मजीवों का उपयोग होता था। सूक्ष्मजीवों की प्राकृतिक क्षमताओं का उपयोग करके तैयार की गयी तकनीकी को प्राचीन जैव प्रौद्योगिकी के रूप में जाना जाता है।

सूक्ष्म जीवों की प्राकृतिक क्षमताओं का उपयोग करके एसिटोन, ब्यूटेनॉल, सिट्रिक अम्ल, पेनिसिलिन आदि का व्यापारिक उत्पादन प्रथम विश्वयुद्ध के दौरान एवं बाद में भी होता रहा है।

मनुष्य के लगातार प्रयासों से सूक्ष्मजीवों में नई एवं अति उपयोगी क्षमताएँ पैदा की जा सकती हैं। पुनर्योगज (Recombinant) डीएनए तकनीकी द्वारा किसी भी जीव से इच्छित जीन को किसी अन्य जीव में स्थानान्तरित किया जा सकता है। उदाहरणार्थ, मानव में इंसुलिन उत्पादन को कोडित करने वाले जीन को *ई. कोलाई (E. coli)* बैक्टीरिया में स्थानान्तरित करके उत्पादित इंसुलिन का मधुमेह के उपचार में उपयोग हो रहा है।

आनुवांशिक स्तर पर रूपान्तरित तम्बाकू [Genetically Modified Tobacco] में पहली बार 1983 में जीवाणु का एंटीबायोटिक रोधिता का जीन स्थानान्तरित किया गया था।

1983 में ही केरी मुलिस (Karry Mullis) ने [Polymerase Chain Reaction (PCR)] की खोज की जिससे आणविक विज्ञान के क्षेत्र में क्रान्ति आ गयी।

पहला पुनर्योगज डीएनए पॉल बर्ग (Paul Berg) ने 1972 में पात्रे तकनीक के द्वारा बनाया।

स्टानले कोहेन (Stanley Cohen) एवं हरबर्ट बोयर (Herbert Boyer) ने 1973 में पहली बार सफल पुनर्योगज डीएनए जीव बनाया।

विभिन्न जीवों से प्राप्त एन्जाइमों का व्यापारिक उत्पादन में

उपयोग आदि नवीन जैव प्रौद्योगिकी के उदाहरण हैं।

आनुवांशिक अभियांत्रिकी : सामान्य परिचय एवं संसाधन (Genetic Engineering: General Introduction & Resources) :

आनुवांशिक अभियांत्रिकी (Genetic Engineering) :

आनुवांशिक अभियांत्रिकी शब्द का उपयोग पुनर्योगज डीएनए (Recombinant DNA) अणुओं के उत्पादन, उनके ई.कोलाई में प्रवर्धन तथा बाद में उनका किसी जीव में स्थानान्तरण आदि सभी के लिए किया जाता है। किसी भी जीव में लैगिंक प्रजनन के अतिरिक्त सीधे ही जीन के स्थानान्तरण (Transfer) को आनुवांशिक अभियांत्रिकी कहते हैं।

विभिन्न स्रोतों से प्राप्त डीएनए के उपयुक्त खंडो को जोड़कर जो डीएनए अणु बनाया जाता है, उसे पुनर्योगज डीएनए तथा इस डीएनए अणु के निर्माण की प्रक्रिया को पुनर्योगज डीएनए तकनीकी कहते हैं। किसी भी पुनर्योगज डीएनए अणु को सबसे पहले *ई. कोलाई* में प्रवर्धित (Propagate) करते हैं। इस प्रकार पुनर्योगज डीएनए अणु की बहुत प्रतियाँ बन जाती हैं। इस प्रक्रिया को जीन क्लोनन या डीएनए क्लोनन (Gene Cloning or DNA Cloning) कहते हैं। इन प्रतियों को किसी अन्य जीव या पादप में स्थानान्तरित करते हैं।

आनुवांशिक अभियांत्रिकी के साधन (Resources of Genetic Engineering) :

आनुवांशिक अभियांत्रिकी के साधन जैसे प्रतिबंध एन्जाइम, वाहक, लाइगेज, डीएनए पोलिमरेज आदि होते हैं।

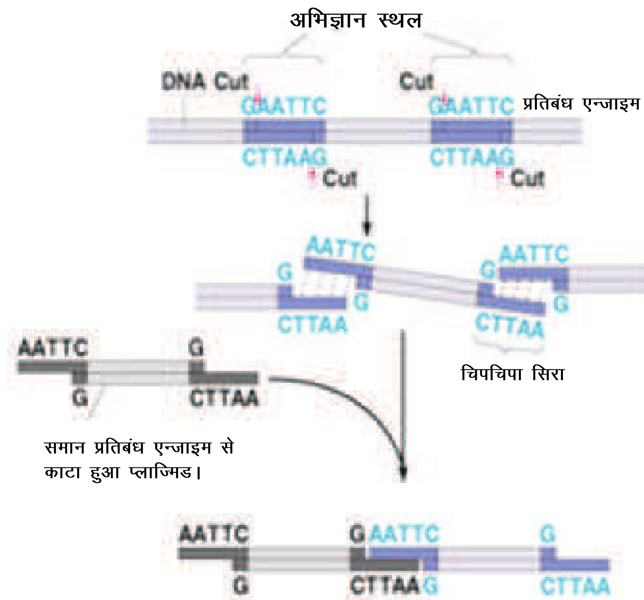
1. प्रतिबंध एन्जाइम (Restriction Nucleases) : प्रतिबन्ध एन्जाइम (Restriction Nucleases) दो प्रकार के होते है। एक्सोन्यूक्लिएज एवं एन्डोन्यूक्लिएज। एक्सोन्यूक्लिएज डीएनए के सिरे (किनारों) से न्यूक्लियोटाइड को अलग करते हैं। जबकि एन्डोन्यूक्लिएज डीएनए अणुओं को बीच में से काटते (Cut)/विदलित करते हैं। अधिकतर एन्डोन्यूक्लिएज डीएनए अणुओं को विशिष्ट (Specific) क्षारक क्रम वाले स्थलों के अन्दर या इन स्थलों के ठीक बाहर दोनों शृंखलाओं को विदलित करते हैं, इन स्थलों को अभिज्ञान स्थल (Palindromic site or Recognition site) कहते हैं (चित्र 2.1)।

प्रत्येक प्रतिबंध एन्डोन्यूक्लिएज, डीएनए में विशिष्ट अभिज्ञान स्थलों को पहचानता है। ये वर्णो के समूह हैं जिन्हें दोनों तरफ से पढ़ने पर एक ही शब्द बनता है जैसे ''मलयालम''! इसी प्रकार डीएनए में 5′–3′ एवं 3′–5′ दिशा में पढ़ने पर एक ही शृंखला बनती है।

जैसे

↓
5′ – G AATTC – 3′
3′ – C TTAA G – 5′
↑

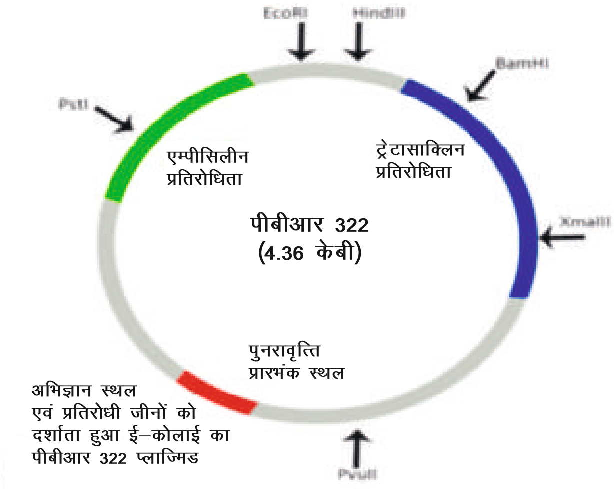
EcoR-I प्रतिबंध एन्जाइम से काटने पर दोनों तरफ से यह G एवं A के बीच से ही डीएनए को विदलित करता है।



चित्र 2.1 अभिज्ञान स्थल

2. वाहक (Vector) : ये जीवाणुओं में पाये जाने वाले अतिरिक्त गुणसूत्र डीएनए (Extra Chromosomal DNA) हैं। ये स्वायत्त रूप से पुनरावृत्त (Self Replicate) होते हैं। ये बैक्टीरियल कोशिका के जीवित रहने तथा वृद्धि के लिए आवश्यक नहीं होते। इन्हें बैक्टीरिया से सरलता से अलग किया जा सकता है। यह वृत्ताकार होते हैं। इन पर विशिष्ट प्रतिबंध स्थल उपस्थित होते हैं, जिन्हे प्रतिबंध एडोंन्यूक्लिऐज द्वारा विदलित करके इनमें वांछित जीन को निवेशित कराया जाता है। (चित्र 2.2)

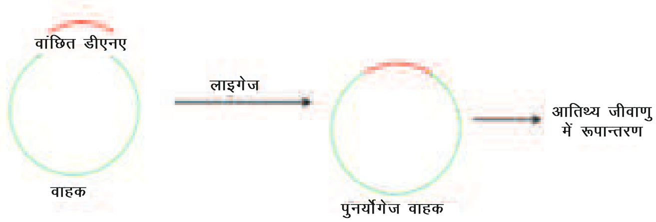
इस डीएनए को पुनर्योगज डीएनए (Recombinant DNA) कहा जाता है। इनमें पुनरावृत्ति प्रारंभक स्थल (Replication Origin Site) उपस्थित होता है, जिसे आतिथेय कोशिका द्वारा पहचाना जाता है। इनमें चिन्हित–स्थल, जैसे – प्रतिजैविक प्रतिरोधी–स्थल (Antibiotic Resistance), विष उत्पादन (Toxin Production) स्थल उपस्थित होते हैं। सामान्यतया निम्नलिखित जीवाणुओं (Bacteria) का उपयोग वाहक के रूप में किया जाता है।



चित्र 2.2 वाहक

- *इश्चेरचिया कोलाई (Escherichia coli)* जीवाणु के प्लाज्मिड, जन्तुओं के लिए।
- *एग्रोबेक्टीरियम ट्यूमेफेसियन्स (Agrobacterium tumefaciens)* जीवाणु का Ti - प्लाज्मिड तथा *ए. राइज़ोजीन्स (A. rhizogenes)* का Ri- प्लाज्मिड, पादपों के लिए।

3. एन्जाइम डीएनए लाइगेज (DNA Ligase) : मार्टिन गेलर्ट (Martin Gellert) ने 1967, में लाइगेज एन्जाइम को खोजा था। एन्जाइम डीएनए लाइगेज एक प्रमुख संसाधन है, क्योंकि यह वाहक डीएनए तथा वांछित डीएनए को आपस में जोड़ने का कार्य करता है (चित्र 2.3)। इस एन्जाइम को *ई. कोलाई* (75kb) व T4 फेज (68kb) से पृथक किया गया है। इनकी क्रियाविधि के लिए क्रमशः सहकारक NAD+ व ATP की आवश्यकता होती है।



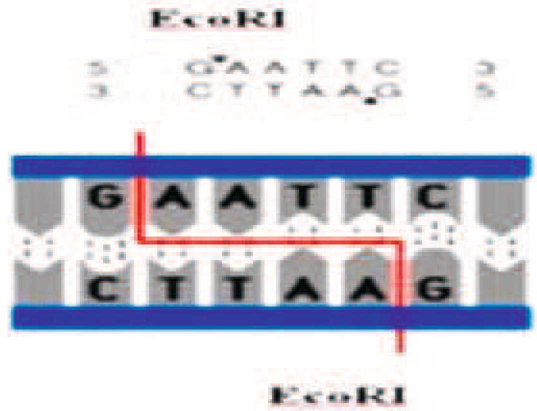
चित्र 2.3 एन्जाइम डीएनए लाइगेज

4. एन्जाइम डीएनए पोलिमरेज (DNA Polymerase): यह एन्जाइम पुनर्योगज डीएनए की प्रतियाँ बनाने के लिए काम आता है।

आनुवांशिक अभियांत्रिकी के चरण (Steps in Genetic Engineering) :

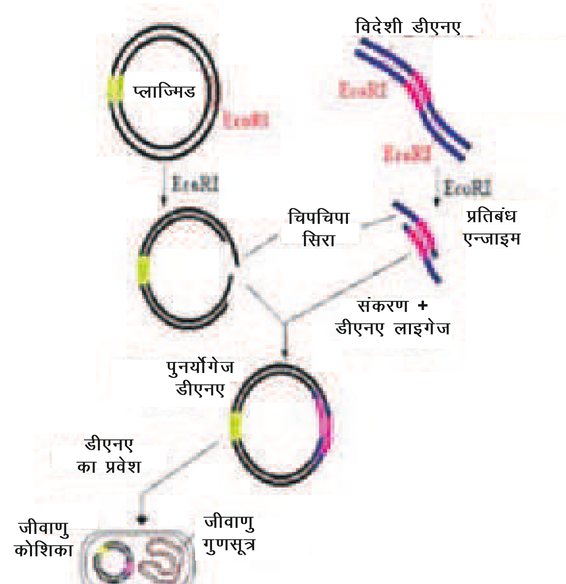
आनुवांशिक अभियांत्रिकी के निम्नलिखित चरण हैंः–

प्रथम चरण : वांछित जीन की प्राप्ति (To obtain desired gene) किसी विशेष लक्षण को नियंत्रित करने वाले जीन (DNA Sequence) को प्रतिबंध एन्डोन्यूक्लिऐज की सहायता से विदलित किया जाता है (चित्र 2.4)। जिस जन्तु से वांछित डीएनए प्राप्त करना है उसकी कोशिकाओं को अपघटित (Lysis) कर पूरे डीएनए को प्रतिबंध एण्डोन्यूक्लिऐज द्वारा छोटे–छोटे खण्डों में विभाजित कर लेते हैं। एण्डोन्यूक्लिऐज डीएनए में विशिष्ट पैलिन्ड्रोमिक न्यूक्लियोटाइड़ अनुक्रमों पर ही काटते हैं।



चित्र 2.4 एण्डोन्यूक्लिऐज

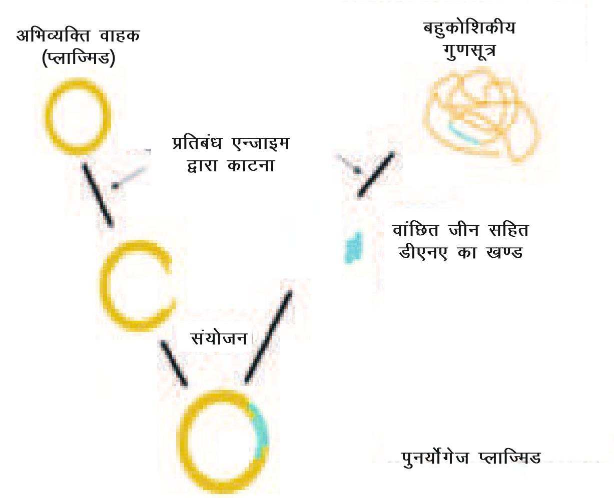
द्वितीय चरण : उपयुक्त वाहक की तैयारी (Preparation of Suitable Vector)- उपर्युक्त चरण में प्राप्त डीएनए के खण्डों को बैक्टीरिया के प्लाज्मिड में समाकलित करने के लिए प्लाज्मिड को भी उसी प्रतिबंध एण्डोन्यूक्लिऐज से विदलित करते हैं, जिससे प्रथम चरण में वांछित डीएनए खण्ड प्राप्त करने के लिये किया था (चित्र 2.5)। प्लाज्मिड में पुनरावृत्ति प्रारम्भिक स्थल (Replication Origin Site) उपस्थित होता है।



चित्र 2.5 पुनर्योगेज डीएनए

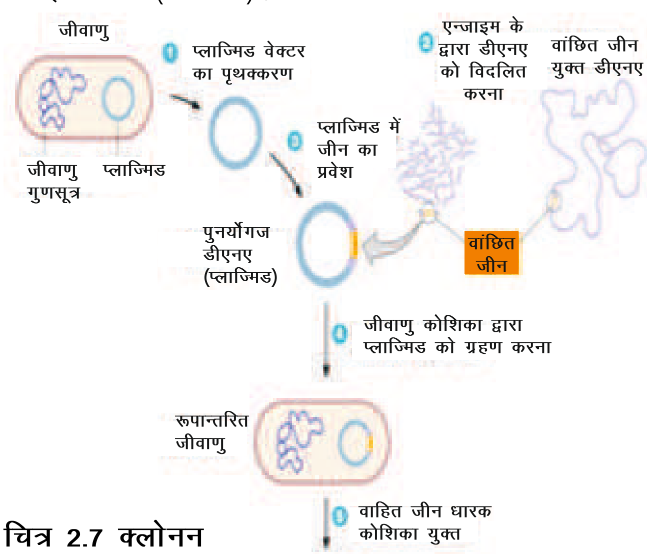
ऐ. ट्यूमेफेसियन्स द्वारा संक्रमण के समय Ti प्लाज्मिड के एक भाग की प्रतिलिपि का पादप कोशिका जीनोम में समाकलन (Integration) होता है, इस डीएनए क्रम को T–डीएनए (स्थानान्तरित डीएनए) कहते हैं। संक्रमण की प्रक्रिया Ti–प्लाज्मिड तथा *एग्रोबेक्टीरियम* के क्रोमोसोम में स्थित जीनों द्वारा नियंत्रित होती है। Ti–प्लाज्मिड का Vir क्षेत्र (virulence region) जीनों की पूर्ण अभिव्यक्ति के लिए आवश्यक होता है।

तृतीय चरण : संयोजन (Ligation) – एक ही प्रतिबंध एण्डोन्यूक्लिऐज द्वारा विदलित वांछित डीएनए एवं बैक्टीरिया के प्लाज्मिड को डीएनए लाइगेज एन्जाइम द्वारा जोड़ दिया जाता है (चित्र 2.6)। इस प्लाज्मिड़ को जिसमें वांछित डीएनए जुड़ा होता है उसको पुनर्योगज डीएनए कहते हैं।



चित्र 2.6 लाइगेशन

चतुर्थ चरण : उपर्युक्त पुनर्योगज डीएनए को पुनः बैक्टीरिया में स्थानान्तरित कराया जाता है। इस डीएनए का बैक्टीरिया की कोशिका में गुणन किया जाता है एवं अनेक प्रतियाँ बनाई जाती हैं (चित्र 2.7)।



चित्र 2.7 क्लोनन

इन प्रतियों को सीधे वांछित जीन के प्रोटीन बनाने के लिए औद्योगिकी स्तर पर उपयोग किया जा सकता है अथवा इनको किसी अन्य जीव/पादप में स्थानान्तरित करके ट्रांसजेनिक जीव/पादप प्राप्त कर सकते हैं।

जेल वैद्युत कण संचलन (Gel Electrophoresis) :

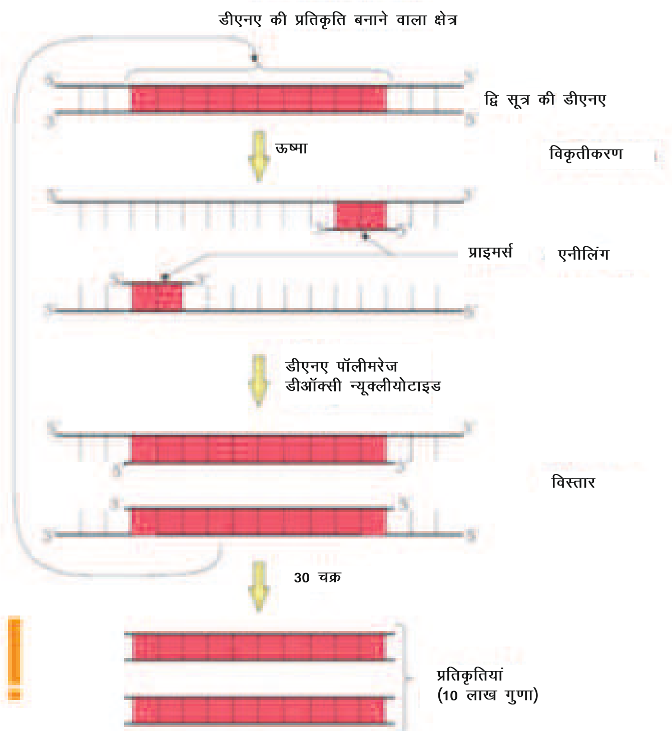
प्रतिबंध एंडोन्यूक्लिएज द्वारा डीएनए को काटने से डीएनए का खंडन हो जाता है। इन खंडों को एक तकनीक द्वारा अलग कर सकते हैं जिसे वैद्युत कण संचलन (Electrophoresis) कहते हैं। डीएनए खंड ऋणात्मक आवेशित (Charged) अणु होते हैं, इसलिए ये विद्युत क्षेत्र में माध्यम द्वारा ऐनोड की तरफ जाते रहते हैं। आजकल बहुत ही सामान्य रूप से उपयोग किया जाने वाला माध्यम, ऐगेरोज (Agarose) है, जो समुद्रीय घास (Sea Weed) से निकाला गया एक प्राकृतिक बहुलक (Polymer) है। डीएनए खंडों को ऐगेरोज जेल के छलनी प्रभाव द्वारा उनके आकार एवं आवेश के अनुसार अलग करते हैं। इस कारण खंड जितने छोटे आकार के होंगे, वह अधिक दूर तक जायेगें (चित्र 2.8)। इन डीएनए खंडों को देखने के लिए डीएनए को इथीडियम ब्रोमाइड नामक यौगिक से अभिरंजित कर पराबैंगनी विकिरणों से अनावृत्त करते हैं। इथीडियम ब्रोमाइड से अभिरंजित (Stained) जेल को पराबैंगनी प्रकाश से अनावृत करने पर डीएनए चमकीली नारंगी रंग की पट्टी के दिखाई पड़ते है। डीएनए की इन पट्टियों को ऐगेरोज जेल से काट कर निकालते हैं और जेल के टुकडों से निष्कर्षित (Extract) कर लेते हैं। इस प्रक्रिया को क्षालन (Elution) कहते हैं। इस तरह से शुद्ध किए गए डीएनए का क्लोनिंग संवाहक से जोड़कर, पुनर्योगज डीएनए निर्माण में उपयोग किया जाता है।

चित्र 2.8 जैल संचलन

पी.सी.आर. (PCR) :

पीसीआर का तात्पर्य पॉलिमरेज श्रृंखला अभिक्रिया (Polymerase Chain Reaction) है। इस अभिक्रिया में उपक्रमों (प्राइमर्स– छोटे रासायनिक संश्लेषित अल्प न्यूक्लियोटाइड जो डीएनए क्षेत्र के पूरक होते हैं) के दो समुच्चयों (Sets) व डीएनए पॉलिमरेज एंजाइम का उपयोग करते हुए पात्रे

(*in vitro*) विधि द्वारा उपयोगी जीन की कई प्रतिकृतियों का संश्लेषण होता है (चित्र 2.9)। यह एंजाइम, जिनोमिक डीएनए को टेम्पलेट के रूप में काम में लेकर; अभिक्रिया से मिलने वाले न्यूक्लियोटाइडों का उपयोग करते हुए उपक्रमकों को विस्तृत कर देता है। डीएनए प्रतिकृतयेन प्रक्रम कई बार दोहराया जाता हैं। यह सतत् प्रवर्धन तापस्थायी (Thermostable) *डीएनए पॉलिमरेज* (*जीवाणु*, *Thermus aquaticus* से पृथक किया गया है) द्वारा किया जाता है। उच्च तापमान द्वारा प्रेरित द्विलड़ीय डीएनए के विकृतीकरण के समय भी यह हमेशा सक्रिय बना रहता है।



चित्र 2.9 पॉलिमरेज श्रृंखला अभिक्रिया

ट्रांसजेनिक जीव (पादप व जन्तु) उत्पादन एवं महत्त्वपूर्ण उदाहरण [Transgenic Organisms (Plants and Animals) Production and Important Examples]

जिन पादपों में वांछित लक्षण के लिए बाहरी DNA उपस्थित होता है, वह ट्रांसजेनिक पादप कहलाते हैं।

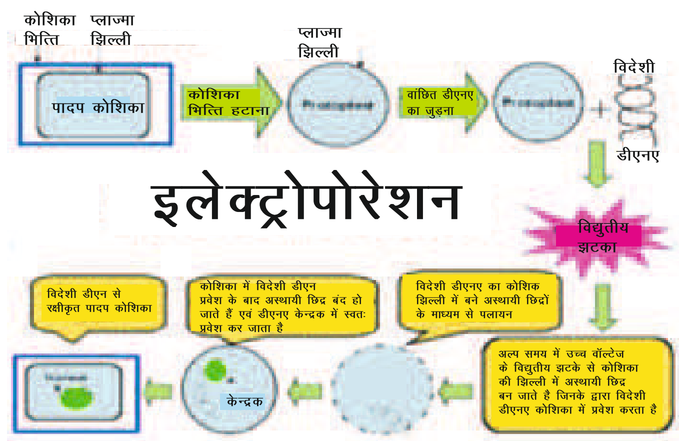
पादपों में वांछित लक्षण उत्पन्न करने के लिए विभिन्न जीनों (जन्तु या पादप) को निवेशित करने के पश्चात् निवेशित जीन द्वारा उत्पन्न लक्षणों तथा उनकी अभिव्यक्ति का अवलोकन करते हैं।

जीन स्थानान्तरण की विधियाँ (Methods of Gene transfer) : पादप कोशिका में जीन स्थानान्तरण की विधियों को मुख्यतः दो भागों में बाँटा गया है:

1. वाहक अणु रहित या प्रत्यक्ष रूपान्तरण (Vector less or Direct Transformation).
2. वाहक अणु मध्यस्थ या अप्रत्यक्ष रूपान्तरण (Vector mediated or Indirect Transformation).

1. वाहक अणु रहित या प्रत्यक्ष रूपान्तरण : किसी जैविक वाहक/कारक की सहायता के बिना डीएनए (DNA) को पादप कोशिकाओं में प्रवेश कराने तथा स्थायी रूपान्तरण प्राप्त करने की क्रिया को सीधा जीन स्थानांतरण कहते हैं। प्रत्यक्ष रूपान्तरण की निम्नालिखित विधियाँ हैं–

(i) इलेक्ट्रोपोरेशन (Electroporation) : इस विधि में पादप कोशिका निलंबन (Plant cell suspension) को विद्युत क्षेत्र में रखा जाता है, जिसके परिणामस्वरूप धनायन कैथोड़ की ओर व ऋणायन एनोड की ओर गति करते हैं, जिससे ध्रुवित कोशिका भित्ति (Polarized Cell Wall), अध्रुवित (Depolarized) हो जाती है। अध्रुवित कोशिका भित्ति पुर्नर्योगज डीएनए (DNA) के प्रवेश के लिए पारगम्य होती है (चित्र 2.10)। इस विधि से मक्का, तम्बाकू, धान, गेहूँ आदि में सफल जीन स्थानान्तरण किए गये हैं। एक व्यवस्थित व आसानी से पुनर्जनित होने वाला ऊतक जैसे अवयस्क मक्का भ्रूण का रूपान्तरण इलेक्ट्रोपोरेशन तंत्र द्वारा किया जा सका है।



चित्र 2.10 इलेक्ट्रोपोरेशन

इलेक्ट्रोपोरेशन की दो विधियाँ हैं : (1) निम्न वोल्टता दीर्घ स्पंद व (2) उच्च वोल्टता लघु स्पंद। निम्न वोल्टता दीर्घ स्पंदों में अस्थायी रूपान्तरणों की दर अधिक होती है, जबकि उच्च वोल्टता लघु स्पंदों में स्थायी रूपान्तरण की दर अधिक होती है।

लाभ : यह सस्ती, तीव्र व न्यूनतम विषाक्तता (Toxicity) वाली विधि है।

हानि : इस विधि की मुख्य हानि प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) की आवश्यकता है इसलिये ये सभी पादप तंत्र पर लागू नहीं होती। यह विधि केवल उन पादप तंत्रों पर ही लागू होती हैं जिनमें प्रोटोप्लास्ट पुनर्जनन क्षमता (Protoplast Regeneration Ability) अधिक होती है।

(ii) शॉटगन या बॉयोलिस्टिक विधि (Shotgun or Biolistic Method) : इस विधि में वांछित DNA को टंगस्टन या सोने के कणों से लिपटाकर गन की सहायता से पादप कोशिका में प्रवेश करवाया जाता है। (चित्र 2.11) इन कणों को माइक्रोप्रोजेक्टाइल्स (Microprojectiles) कहते हैं। इस गन के निम्न भाग होते हैं:

अ. गैस त्वरण नली (Gas Accelaration Tube)।

ब. प्लास्टिक झिल्ली या स्थूल वाहक, जिस पर माइक्रोप्रोजेक्ट्राइल्स चिपके रहते हैं।

स. अवरोधक स्क्रीन (Stopper Disc)।

द. लक्ष्य (Target)।

इस विधि में 1μm व्यास के सूक्ष्मकणों पर डीएनए का लेप करने के लिए इन्हें डीएनए के घोल में ($CaCl_2$, 0.25–2.5M व स्पर्मिडीन 0.1 के घोल) मिलाकर तीव्र गति से हिलाते हैं। अब माइक्रोप्रोजेक्टाइल्स डीएनए को अवक्षेपण के बाद सूखने देते हैं।

चित्र 2.11 शॉटगन

इसके बाद गन में स्थूलवाहक को सही स्थान पर फिट कर आंशिक निर्वात उत्पन्न किया जाता है, जिससे संविदारण डिस्क (Rupture-Disc) फट जाए। संविदारण डिस्क फटने से प्रघाती तरंग (Shock Wave) उत्पन्न होती हैं, जिससे स्थूलवाहक (Macro-Carrier) का त्वरण होता है। जब स्थूल वाहक अवरोधक स्क्रीन से टकराता है तो इससे चिपके सूक्ष्मकण स्क्रीन में से गुजर कर नीचे रखी कोशिकाओं तथा उनके केन्द्रकों में प्रवेश कर जाते हैं। इस विधि द्वारा सोयाबीन, गन्ना, तम्बाकू, गेहूँ, पपीता आदि में जीन स्थानान्तरण किया गया है।

लाभ : 1. यह एक सुरक्षित व साफ सुथरी विधि है।

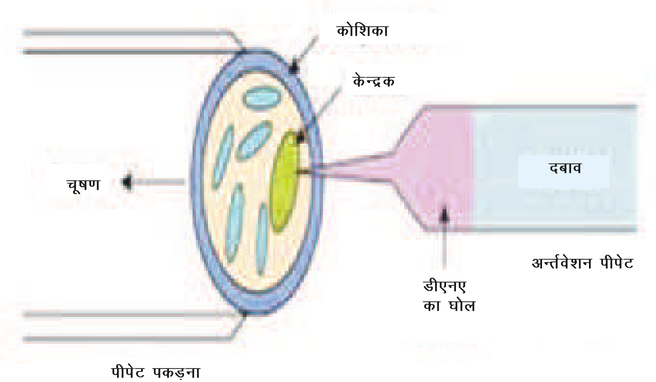
2. यह व्यवस्थित व प्रभावी पुनर्जनित ऊतक बनाने की विधि है जो कि जीन को सर्वोत्तम जर्मप्लाज्म में प्रवेश करने की स्वीकृति प्रदान करती है।

3. ऐसी जातियाँ जो सरलता से रूपान्तरित नहीं होती (Recalcitrant), उन जातियों का रूपान्तरण इस विधि द्वारा कर अनेक ट्रांसजेनिक पादप तैयार किये जा सकते हैं।

हानियाँ : 1. इस विधि से काइमैरिक पादपों (Chimeric Plants) का उद्‌गम होता है।

2. प्रक्षेपण (Bombardment) की गति पर नियन्त्रण नहीं होता जिससे लक्ष्य कोशिका (Target cell) को भारी मात्रा में नुकसान पहुँच सकता है।

(iii) माइक्रोइन्जेक्शन (Micro-injection) : माइक्रोइन्जेक्शन एक भौतिक तकनीक है जो जैविक व अन्य बाधाओं का निवारण करती है। मूल रूप से इसे जन्तु कोशिका के रूपान्तरण हेतु विकसित किया गया है, परन्तु आजकल इसे पादप कोशिका के रूपान्तरण हेतु भी उपयोग में लाया जाता है (चित्र 2.12)।



चित्र सं. 2.12 माइक्रोइन्जेक्शन

इस विधि में वांछित डीएनए को तीक्ष्ण सिरे वाली माइक्रोप्रोजेक्टाइल सूई (Fine Tipped Microprojectile Needle) की सहायता से पादप कोशिका के केन्द्रक में इस प्रकार से प्रवेश करवाया जाता है कि जिससे पादप कोशिका नष्ट न हो।

इस विधि द्वारा सामान्यतः प्रोटोप्लास्टों में जीन स्थानांतरण करवाया जाता है क्योंकि कोशिका भित्ति बाधा पहुँचाती है। प्रायः यह विधि सघन कोशिकाद्रव्य वाली कोशिकाओं के लिए अधिक उपयोगी होती है। इस विधि से तरुण भ्रूणों (जैसे कायिक भ्रूण, पराग भ्रूण एवं जाइगोटी भ्रूण) की कोशिकाओं का रूपान्तरण बहुत सरलता से करवाया जा सकता है।

लाभ : 1. इस विधि में डीएनए की निष्कासित मात्रा प्रति कोशिका सीमित नहीं है यद्यपि इसे सीमित बनाया जा सकता है।

2. इसमें अन्तर्ग्रहित रूपान्तरण (Integrated Transformation) के अवसर बढ़ जाते हैं।

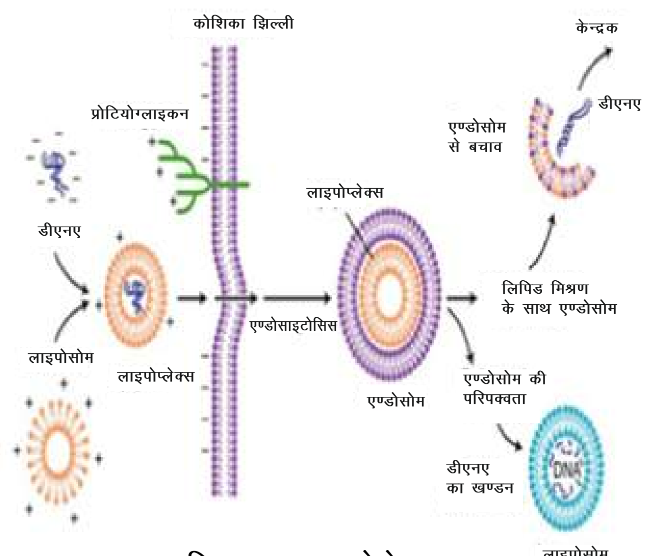
3. डीएनए प्रवेश की क्रिया निश्चित होती है।

हानियाँ : 1. एक इन्जेक्शन से केवल एक कोशिका में ही डीएनए प्रवेश करता है।

2. विशिष्ट उपकरण व कौशल के प्रयोग की आवश्यकता होती है।

3. ऐसी तकनीक की आवश्यकता होती है, जो एकल, द्विपराग में और बहुस्तरीय (Multi layered) भित्ति में से डीएनए को गुजरने दे।

(iv) लाइपोफेक्शन (Lipofection) : लाइपोसोम्स विशेष प्रकार की झिल्ली तंत्र (Lamellar Phase) है, जिनमें द्विआण्विक वसा परत के अध्रुवीय स्थलों पर जल पाया जाता है (चित्र 2.13)। यह न्यूक्लिऐज (Nuclease) की क्रियाओं से डीएनए को बचाते हैं।



चित्र 2.13 लाइपोफेक्शन

लाइपोफेक्शन विधि का विश्लेषण बोंगेहम (Bongham) ने 1965 में किया। डीएनए या आरएनए युक्त लाइपोसोम्स को प्रत्यक्ष संयोजन या एण्डोसाइटोसिस द्वारा पादप कोशिका में प्रवेश करवाया जा सकता है। पादप रूपान्तरण में इस विधि का अधिक उपयोग नहीं किया जाता, किन्तु जन्तु कोशिका एवं अंडकों के रूपान्तरण की यह बहुत ही सफल विधि है।

लाभ : 1. यह न्यूक्लिएज के क्रियाकलापों से न्यूक्लिक अम्ल की सुरक्षा करता है।

2. प्लाज्मोडेस्मेटा (Plasmodesmata) के द्वारा प्रोटोप्लास्ट में प्रवेश के अलावा विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं में डीएनए प्रवेश सम्भव होता है।

3. इस विधि द्वारा पूर्ण सूक्ष्म कोशिकांगों (Small cell organelles) का प्रवेश सम्भव है।

हानियाँ : 1. इस विधि की मुख्यतः कमी काईमेरा पादप की उत्पत्ति है, जिनमें पादप का केवल कुछ भाग ही रूपान्तरित होता है।

2. यह एक धीमी, महँगी और उच्च कौशल की आवश्यकता वाली विधि है।

2. वाहक अणु मध्यस्थ या अप्रत्यक्ष रूपान्तरण (Vector Mediated or Indirect Transformation) : पौधों में जीन स्थानांतरण के लिए दो प्रकार के वाहकों का उपयोग किया जाता है।

(i) प्लाज्मिड वाहक (*एग्रोबेक्टीरियम* के Ti एवं Ri प्लाज्मिडों से प्राप्त वाहक स्थायी जीन स्थानान्तरण के लिए)

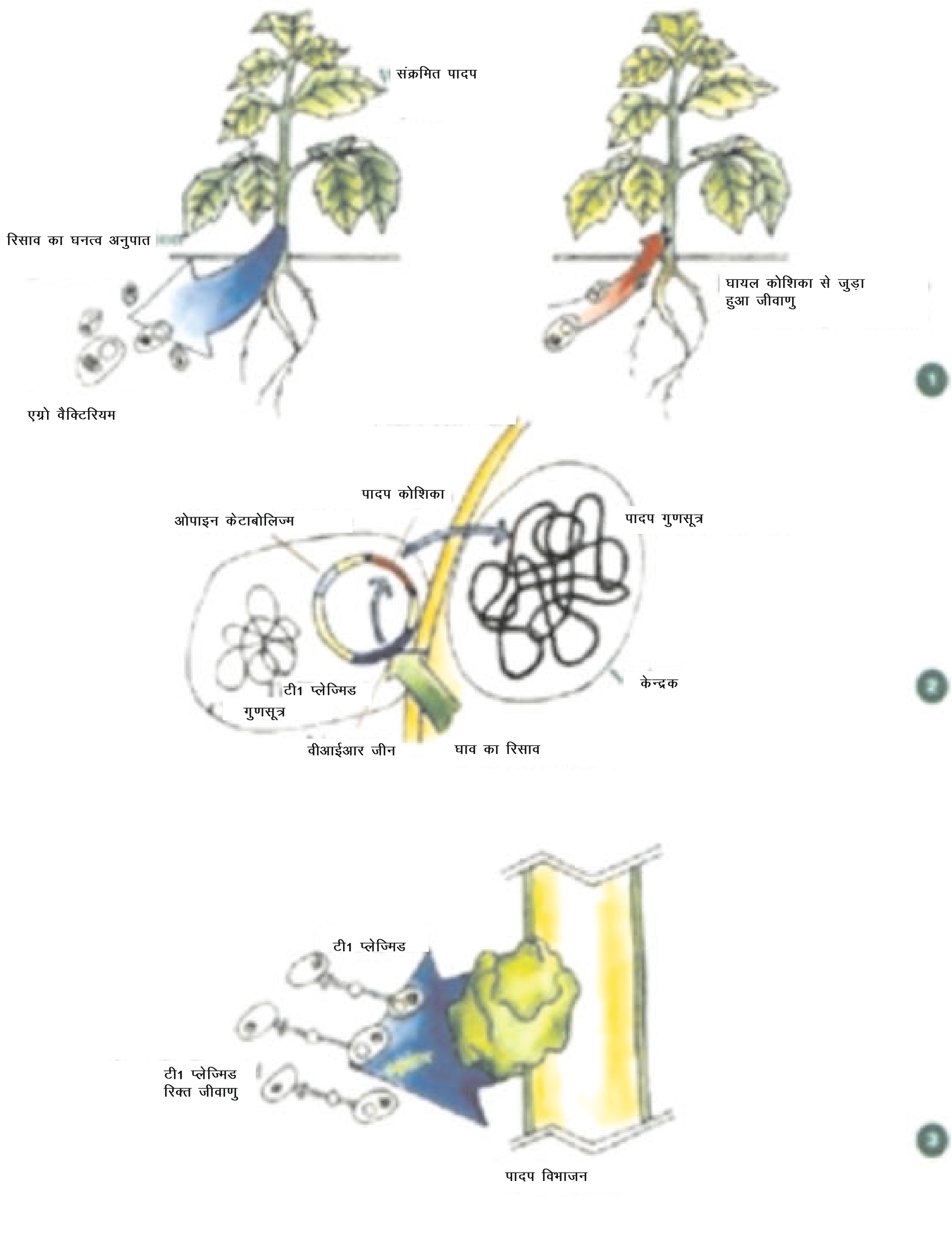
(ii) वाइरस वाहक फूलगोभी मोजेक वाइरस (CaMV), जैमिनी वाइरस (Gemin ivirus), तम्बाकू मोजेक वाइरस (TMV) आदि वाहक है किन्तु इनसे स्थायी जीन स्थानान्तरण नहीं होता हैं।

(i) *एग्रोबेक्टीरियम ट्यूमेफेसिएन्स* के द्वारा जीन स्थानान्तरण (*Agrobacterium Tumefaciens* Mediated Gene Transfer) : 1980 में पहली बार आनुवांशिक पदार्थ को *एग्रोबेक्टीरियम ट्यूमेफेसियन्स* (*Agrobacterium Tumefaciens*) के कोशिका संवर्धन में पुरःस्थापित किया गया। द्वि–बीजपत्री पादपों की कोशिका रूपान्तरण में प्लाज्मिड वाहक सामान्यतः *ऐ. ट्यूमेफेसिएन्स* के Ti (Tumour Inducing) व *ए. राइज़ोजीन्स* के Ri (Root Inducing) प्लाज्मिड के द्वारा होते हैं। इन दोनों प्लाज्मिड में समान लक्षण पाये जाते हैं तथा यह दोनों जातियों के मध्य परस्पर परिवर्तनीय होते हैं। इन दोनों प्लाज्मिड में Ti क्षेत्र (23kb) होता है जो कि ओपाइन मेटाबालिज्म (Opine Metabolism) व पादप हार्मोन्स (Phyto Hormones) के संश्लेषण के लिए उत्तरदायी होता है। यह क्षेत्र पादप कोशिका में

स्थानान्तरित कर दिया जाता है एवं यह क्षेत्र जीनोम द्वारा अन्तर्ग्रहित कर लिया जाता है, फलस्वरूप पादप कोशिका रूपान्तरित हो जाती है।

अर्बुद निर्माण (Tumour Formation) :

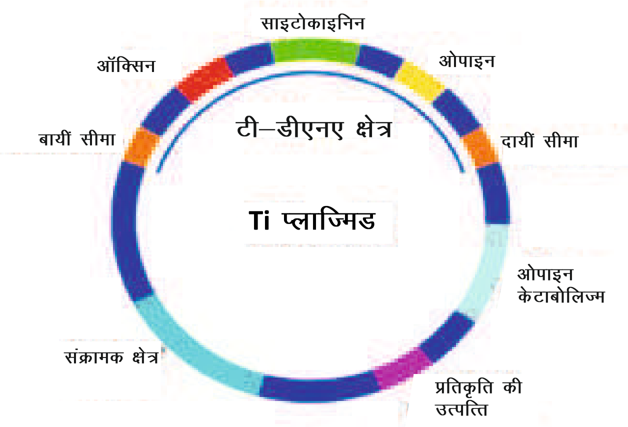
ऐ. ट्यूमेफेसियन्स T_i प्लाज्मिड के छोटे से भाग के स्थानान्तरण से पादप में अर्बुद (Tumour) प्रेरित करता है (चित्र 2.14)। डीएनए का ये क्रम T–डीएनए (Transfer DNA) कहलाता है। संक्रमण का कार्य *ए. ट्यूमेफेसिएन्स* के गुणसूत्रीय व प्लाज्मिड जनित जीनों के नियन्त्रण से होता है तो यह संक्रमण प्रारम्भ हो जाता है।



चित्र 2.14 अर्बुद निर्माण

Ti प्लाज्मिड (Ti Plasmid) :

Ti प्लाज्मिड एक द्विलड़ीय डीएनए होता है, इसमें 150–250 Kb (औसतन 200 Kb) का कॉंजुगनशील (Conjugative) प्लाज्मिड होता है (चित्र 2.15)। *ऐग्रोबैक्टीरियम* को 28°C से अधिक तापमान पर संवर्धित करने पर Ti प्लाज्मिड का लोप हो जाता है। बैक्टीरिया की किरीट पिटिका (Crown Gall) एवं रोमिल मूल उत्पादन करने की क्षमता क्रमशः Ti एवं Ri प्लाज्मिडों के कारण होती है।



चित्र 2.15 Ti प्लाज्मिड

स्थानांतरण डीएनए (T-DNA) :

इसमें उपस्थित नियामक क्रम पादप कोशिकाओं में प्रकार्य करते हैं अर्थात् ये केवल पादप कोशिकाओं में ही अभिव्यक्त होते हैं। T- डीएनए लगभग 23 kb माप का होता है। इसमें दोनों सिरों पर एक–एक 24 bp का अनुलोम पुनरावृत्त क्रम (Direct Repeat Sequence) होती है, जो कि इसके स्थानान्तरण के लिये आवश्यक होती है। स्थानांतरित डीएनए के पुनरावृत्त क्रम के बीच से अर्बुद निर्माण करने वाले जीनों को हटाकार वहाँ पर वांछित डीएनए को जोड़ दिया जाता है।

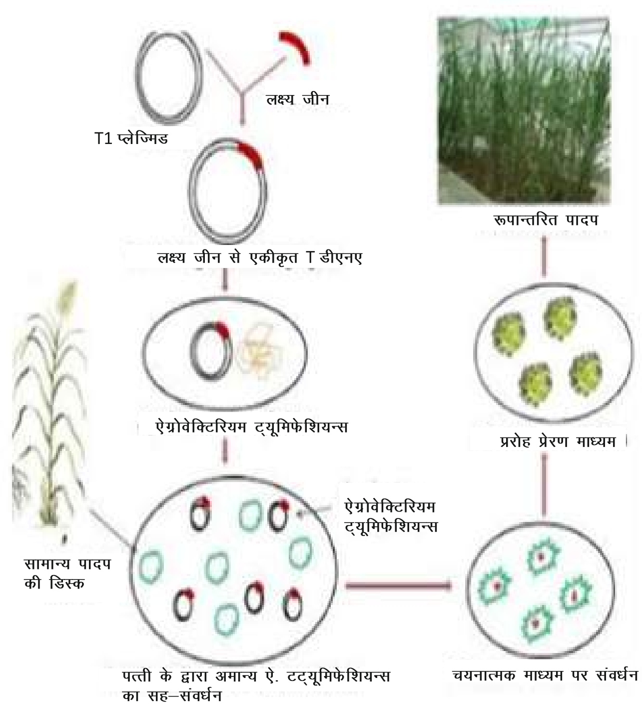
पादप जिनोम में T-डीएनए का समाकलन (Integration):

T-डीएनए के पादप केन्द्रक में प्रवेश करने के बाद प्रतिकृति होती है, जिससे यह द्विरज्जुक अवस्था (Double Strand Stage) में आ जाता है। यह पादप जिनोम में यादृच्छिक स्थलों (Random site) पर समाकलित होता है। फलस्वरूप इसके सिरों के बीच स्थित वांछित डीएनए भी पादप जिनोम में समाकलित हो जाता है। प्रत्येक कोशिका में T- डीएनए की एक से लेकर अधिकतर 12 प्रतियाँ उपस्थित हो सकती हैं। तत्पश्चात् समाकलित वांछित जीन का अवलोकन किया जाता है। उदाहरणतः यदि किसी पादप में N_2 स्थिरीकरण के लिए वांछित जीन निवेशित करवाया जाता है, तब उस पादप में N_2 स्थिरीकरण होने लगता है। यदि किसी पादप में रोगप्रतिरोधक क्षमता उत्पन्न करने के लिए किसी रोगप्रतिरोधक जीन को निवेशित करवाया जाता है, तब वह पादप उस विशिष्ट रोग के प्रति प्रतिरोधी हो जायेगा।

ऐग्रोबैक्टीरियम द्वारा अन्य पादपों में जीन स्थानांतरण (Gene Transfer by *Agrobacterium* in other Plants) :

ऐग्रोबैक्टीरियम वाहक द्वारा जीन स्थानांतरण के लिये चुने गये डीएनए को निरस्त्रीकृत Ti प्लाज्मिड (Disarmed Ti plasmid) के T-DNA में निवेशित करते हैं। इसके लिये सामान्यतः Ti प्लाज्मिड के सहसमाकलित (Cointegrate) अथवा द्विवाहक (Binary vector) प्रारूप का प्रयोग करते हैं। उपयुक्त पुनर्योगज Ti वाहक को *ऐग्रोबैक्टीरियम* में प्रविष्ट कराते हैं। इसके बाद पादप कोशिकाओं का रूपान्तरण निम्न दो विधियों से करते हैं– (1) ऊतक कर्तोतकों के साथ सह–संवर्धन एवं (2) पादपे रूपान्तरण।

(1) ऊतक कर्तोतक के साथ सह–संवर्धन (Co-culture with tissue explants) : *ऐग्रोबैक्टीरियम* को कोशिका संवर्धको अथवा कर्तोतकों के साथ सह–संवर्धन करते हैं (चित्र 2.16)। टमाटर, तम्बाकू, पिट्यूनिया आदि की पत्तियों के डिस्कों (Discs) का व्यापक सह–संवर्धन करते हैं, जिनके द्वारा उत्पादित एसिटोसिरिगोन vir ओपेरोन्स को सक्रिय करता है

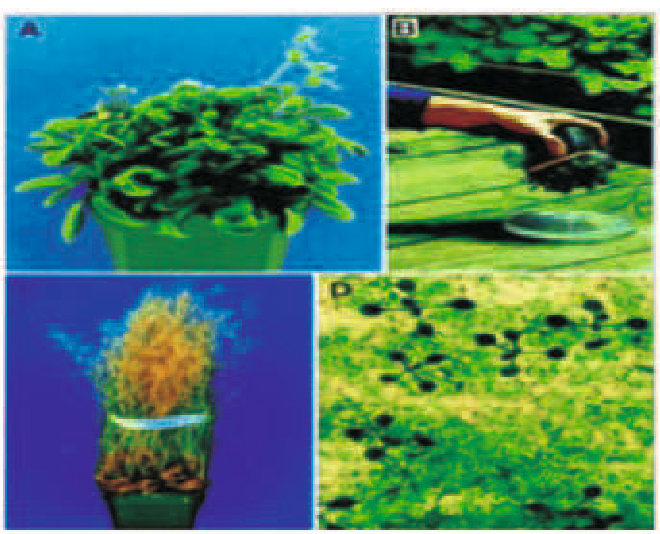


चित्र 2.16 सह–संर्वधन

जिससे पारजीन सहित T- डीएनए बहुत–सी कोशिकाओं में प्रवेश करके पादप जिनोम में समाकलित होता है। दो दिन बाद रूपांतरित पादप कोशिकाओं को उपयुक्त पोषपदार्थ पर सवंर्धित करके वरण करते हैं। इस पोषपदार्थ में कार्बेनिसिलिन (Carbenicilin) मिला देते हैं जिसके कारण *ऐग्रोबैक्टीरियम* की कोशिकाएँ मर जाती हैं और केवल इस पोषपदार्थ में रूपांतरित पादप कोशिकाएँ ही विभाजित हो पाती हैं जो कि प्ररोह पुनर्जनन (Shoot Regeneration) करती हैं। इन प्ररोहों को विलग करके इनमें जड़ उत्पादित करके दृढ़ीकरण के पश्चात् मिट्टी में रोपकर रूपांतरित पौधे प्राप्त करते हैं।

ऐस्पेरागस, प्याज आदि एकबीजपत्रियों में भी *ऐग्रोबैक्टीरियम* संक्रमण करता हैं। किन्तु एकबीजपत्री कोशिकाओं के दक्ष रूपांतरण के लिये *ऐग्रोबैक्टीरियम* के साथ इनके सहकल्चर के समय एसिटोसिरिंगोन को भी पोषपदार्थ में मिलाते हैं। मक्का आदि कुछ पौधों की कोशिकाएँ ऐसा पदार्थ उत्पादित करती हैं जो *ऐग्रोबैक्टीरियम* द्वारा रूपान्तरण घटाते हैं। इस समस्या को दूर करने के लिये पोष पदार्थ में अतिरिक्त एसिटोसिरिंगोन मिला सकते हैं।

(2) पादपे रूपान्तरण (*In Planta* Transformation) : *अरैबिडासिस* (*Arabidopsis*) के बीजों को *ऐग्रोबैक्टीरियम* के ताजे कल्चर में डुबाने पर इन बीजों से प्राप्त पौधों की कुछ संततियों में स्थायी रूपान्तरण प्राप्त होते हैं। इसके अतिरिक्त *अरैबिडासिस* पौधों को फूल आने से पहले *ऐग्रोबैक्टीरियम* के ताजा कल्चर में डुबाने पर भी यह परिणाम प्राप्त होते हैं (चित्र 2.17)।



चित्र 2.17 पादपे रूपान्तरण

ऐसी धारणा है कि बीजों के अंकुरण के समय *ऐग्रोबैक्टीरियम* कोशिकाएँ पौधों में प्रवेश करती हैं। आंशिक निर्वात भी *ऐग्रोबैक्टीरियम* कोशिकाओं के पौधों में प्रवेश में सहायक होता हैं, जो बाद में फूलों में बनने वाले युग्मनजों का रूपान्तरण करती है।

(ii) पादप वाइरस वाहक (Plant Virus Vectors): वाइरसों में निम्नलिखित अच्छे वाहक के गुण होने के कारण उपयोग किया जाता हैः–

अ. यह वयस्क पौधों की कोशिकाओं को संक्रमित करते हैं।

ब. प्रत्येक कोशिका में इनकी बहुत प्रतियाँ उत्पन्न होती हैं जिससे डीएनए निवेश्य द्वारा कोडित प्रोटीन की अधिक मात्रा में प्राप्ति हो सकती है।

स. कुछ वाइरस सर्वांगी (Systemic) होने के कारण पूरे पौधे में फैल जाते हैं जिससे इनका उपयोग पौधों के लक्षण प्रारूप (Phenotype) में सुधार अथवा पुनर्योगज (Recombinant) प्रोटीनों के उत्पादन के लिये किया जाता है। साधारणतः पादप वाइरसों में आनुवांशिक पदार्थ का कार्य आरएनए (RNA) करता है, अतः इस समूह के दो वाइरस (तंबाकू मोजेक वाइरस, TMV एवं ब्रोम मोजेक वाइरस, BMV) काफी उपयोगी हैं। किन्तु सबसे अधिक डीएनए जिनोम वाले दो वाइरस समूहों (कॉलिमोवाइरस एवं जेमिनी वाइरस) का उपयोग किया जा रहा है।

(i) फूलगोभी मोजेक वाइरस (Cauliflower Mosaic Virus) : यह कॉलिमोवाइरस समूह का वाइरस है। इस पर सबसे अधिक प्रयोग किये गये हैं। फूलगोभी मोजेक वाइरस (CaMV) द्विबीजपत्री पौधों के सबसे बड़े समूह को संक्रमित करता है। किन्तु इसके जिनोम में एक सीमित लम्बाई के डीएनए निवेश्य ही क्लोन किये जा सकते हैं। अतः एक वाहक के रूप में इसका (CaMV) का उपयोग बहुत सीमित है।

(ii) जेमिनीवाइरस (Gemini virus) : जेमिनीवाइरस बहुत–से द्विबीजपत्री व एक बीजपत्री पौधों को संक्रमित करते हैं। यह वाइरस कीटों द्वारा संचरित होते हैं। इनका डीएनए एक लड़ीय होता है। गेहूँ का बौना वाइरस (Wheat Dwarf Virus, WDV) एवं मक्का का रेखा वाइरस (Maize Line Virus, MLV) दोनों का क्रमशः गेहूँ एवं मक्का के पौधों में ऐग्रोसंक्रमण के लिये सफलतापूर्वक उपयोग किया जा रहा है।

(iii) टोबेको मोजेक वाइरस (Tobacco Mosaic Virus, TMV) : TMV में एक RNA जीनोम होता है जो mRNA की तरह व्यवहार करता है। RNA वाइरस का उपयोग वाहक की तरह निम्न दो प्रकार से होता है–

(1) वाइरस जिनोम की cDNA प्रति का उपयोग *ई. कोलाई* में क्लोनिंग के लिये।

(2) संक्रमित RNA की प्रतियों को पुनर्योगज वाइरस के जीनोम में cDNA के पात्रे (*in vitro*) अनुलेखन द्वारा पादप संक्रमण में उपयोग के लिये उत्पादित करना।

(iv) ब्रोम मोजेक वाइरस (Brome Mosaic Virus, BMV) : ब्रोम मोजेक वाइरस (BMV) ग्रैमिनी कुल की जौ सहित कुछ प्रजातियों में ही संक्रमण करता है। इसके जीनोम के तीन खंड 1, 2 एवं 3 होते हैं। इनमें सफल संक्रमण के लिये तीनो खंडों द्वारा संक्रमण अनिवार्य होता है। इस जिनोम के खंड तीन में CP जीन होता है। यह डीएनए निवेश्य के समाकलन का एक मात्र स्थल है। CP जीन में CAT जीन को समाकलित करके जौ के प्रोटोप्लास्टों का संक्रमण करने पर उनमें CAT जीन की उच्च अभिव्यक्ति होती है।

कृत्रिम गुणसूत्र (Artificial Chromosome) :

प्रारूपीय वाहक सामान्यतः बडे डीएनए खंडो को सफलतापूर्वक नहीं ले जा सकते हैं। इस समस्या के निवारण के लिये कृत्रिम क्रोमोसोम का विकास किया गया एवं इनको यह नाम इसलिए दिया गया है, क्योंकि अतिथ्य कोशिका में प्रवेश के पश्चात् ये अतिथि कोशिका में पूर्णरूप से गुणसूत्र की तरह व्यवहार करते हैं। उदाहरणार्थ जीवाणु कृत्रिम गुणसूत्र (BAC), यीस्ट कृत्रिम गुणसूत्र (YAC)।

ऐग्रोसंक्रमण (Agroinfection) :

ऐग्रोसंक्रमण विधि उन वाइरस वाहकों के लिये अपनायी जाती हैं, जिनका संचरण उनका प्राकृतिक कीट वाहक करता हैं; जैसे–जेमिनी वाइरस। इन वाइरस वाहकों में डीएनए निवेश्य का समाकलन करने के बाद वाहक को Ti प्लाज्मिड के T-डीएनए खंड में समाकलित करते हैं। इस Ti प्लाज्मिड को *ऐग्रोबैक्टीरियम* में प्रविष्ट करके इस *ऐग्रोबैक्टीरियम* को पादप कोशिकाओं के साथ सह–संवर्धन करते हैं। इस विधि से कम से कम दो जेमिनी वाइरसों, MSV एवं WDV का स्थानान्तरण किया गया है।

द्विबीजपत्री ट्रांसजेनिक पादप (Dicot Transgenic Plants) :

तम्बाकू (*Nicotiana tabaccum*), पिट्यूनिया (*Petunia hybrida*), टमाटर (*Lycopersicon esculentum*), आलू (*Solanum tuberosum*), बैंगन (*Solanum melongena*), सूरजमुखी (*Helianthus annuus*), तोरिया (*Brassica napus*), गोभी की जातियाँ (*Brassica oleracea spp.*), कपास (*Gossypium spp.*), सोयाबीन (*Glycine max*), गाजर (*Daucus carrota*) आदि।

एकबीजपत्री ट्रांसजैनिक पादप (Monocot Transgenic Plants) :

चावल (*Oryza sativa*), राईं (*Secale Cereale*), गेहूँ (*Triticum aestivum*), मक्का (*Zea mays*), जई (*Avena sativa*)।

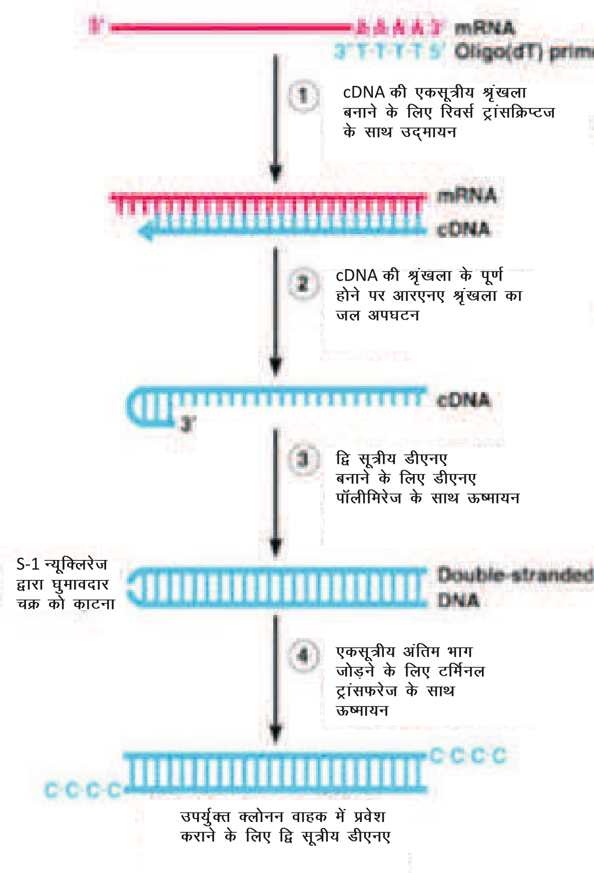
ट्रांसजैनिक जन्तु :

मानव परखनली शिशु (Test-Tube Babies), पात्रे निषेचन (*in vitro* fertilization) एवं भ्रूण प्रतिरोपण (Embryo Transplantation) द्वारा।

उत्कृष्ट नस्ल के बहुत से पशु उत्पन्न करना अति अंडोत्सर्ग (Super-ovulation), पात्रे निषेचन (*in vitro* Fertilization), भ्रूण खंडन, (Embryo Splitting) एवं भ्रूण प्रतिरोपण (Embryo Transplantation) द्वारा।

cDNA लाइब्रेरी (cDNA Library) :

cDNA लाइब्रेरी (Complementary DNA Library) में रूपान्तरित (Transformed) जीवाणुभोजी (Bacteriophage), बैक्टीरिया (Bacteria), लयनों (Lysates) की समष्टि होती है, जिसमें किसी जीव से प्राप्त सभी दूत आरएनए (mRNA), cDNA निवेश्यों (cDNA inserts) के रूप में उपस्थित होते हैं। ये cDNA निवेशित प्लाज्मिडों या फेज वाहकों (Phage Vectors) में होते हैं (चित्र 2.18)।



चित्र 2.18 cDNA लाइब्रेरी

जिन ऊतकों में प्रोटीन का सक्रिय रूप से संश्लेषण होता रहता है ऐसे ऊतक पौधों में जड़, पत्तियाँ और तने के अग्र भाग में होते हैं, इनसे mRNAs को पृथक करके cDNA लाइब्रेरियाँ भी बनाई जा सकती हैं। रिवर्स ट्रान्सक्रिप्टेज (Reverse Transcriptase) एन्जाइम का प्रयोग करके mRNA से cDNA बनाया जा सकता है, जिसको फिर द्विसूत्री (Double Stranded) बनाकर क्लोन करने में प्रयोग करते हैं।

कृषि के क्षेत्र में जैव प्रौद्योगिकी का महत्त्व (Importance of Biotechnology in Agriculture) :

जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग कर उच्चवर्गीय पादपों में अनेक वांछित जीनों को निवेशित करवाकर उनमें वांछित लक्षण उत्पन्न किये गये है, उनमें से कुछ मुख्य निम्नलिखित हैं–

i. बी.टी. कपास (Bt. Cotton) : *बेसीलस थुरिन्जीएन्सिस* (*Bacillus thuringiensis*) जीवाणु से कीटनाशी प्रोटीन (cry protein) बनाने वाले जीन को कपास में स्थानान्तरित कर बी.टी. कपास बनाया गया है। इस कपास को गुलाबी सड़न कीट (Pink boll worm) जैसे ही खाता है, वह मर जाता है एवं उपज ज्यादा होती है।

ii. फ्लेवर सेवर टमाटर (Flavr Savr Tomato) : यह ट्रांसजैनिक टमाटर है। टमाटर को अधिक समय तक संग्रहीत नहीं कर सकते है, क्योंकि अधिक समय तक संग्रहीत करने पर यह खराब हो जाता हैं।

इसका संग्रहण समय (Shelf life) बढ़ाने के लिए कोशिका झिल्ली नष्ट करने वाले एन्जाइम पोलिगेलेक्टयुरोनेज की मात्रा एन्टीसेन्स आरएनए तकनीकी (Antisense RNA Technology) के द्वारा कम कर दी जाती है।

iii. ट्रांसजैनिक मक्का (Transgenic Maize): लाइसीन नामक अमिनों अम्ल की अधिकता वाले प्रोटीन उत्पादक जीन को मक्का में स्थानान्तरित कर ट्रांसजैनिक मक्का तैयार की गई है।

iv. खरपतवारनाशी प्रतिरोधी पादपों का निर्माण (Production of Herbicide Resistant Plants): खरपतवारनाशियों का प्रभाव, खरपतवारों के साथ–साथ फसल पर पड़ता है। अतः फसल को खरपतवारनाशकों के विरूद्ध प्रतिरोधी बनाना लाभकारी होता है। जैसेः– ग्लाइफोसेट प्रतिरोधिकता (तम्बाकू एवं टमाटर), फास्फोथ्राइसिन (Phosphothricin) प्रतिरोधकता (तम्बाकू), सल्फोनायल यूरिया व इमिडेजोलिन्स प्रतिरोधकता (टमाटर, चुकंदर, सरसों), ट्राईएजीन्स (Triazine) प्रतिरोधकता (शलगम, गोभी) आदि।

v. नर बंध्य पौधों की प्राप्ति (To get Male Sterile Plants) : एक जीवाणु *बेसिलस अमाइलोलिक्वीफेसियन्स* (*Bacillus amyloliquefaciens*) के बार्नेज जीन को तम्बाकू एवं तोरिया के पौधों में निवेशित करवाकर इनमें नर बंध्यता उत्पन्न की गई। इसी जीवाणु (बैक्टीरिया) में एक अन्य जीन, बारस्टार एक प्रोटीन कोडित करता है। इस जीन के प्रयोग से नर उर्वर पौधे प्राप्त किये जा सकते है। संकर बीज उत्पादन के लिए बार्नेज नर बन्धय पौधों का संकरण बार स्टार से करते हैं। इस प्रकार प्राप्त संकर पौधों में बार्नेज आरनेज (R Nase) को बारस्टार प्रोटीन निरोधित कर देता है, अतः ये पौधे नर उर्वर होते है।

vi. पौधों में नाइट्रोजन स्थिरीकरण को बढ़ाना (To Enhance Nitrogen Fixation in Plants): *राइजोबियम मेलीलोटी* (*Rhizobium meliloti*) के nif जीन (N_2 स्थिरीकरण के लिए उत्तरदायी) को *एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमेफेसिएन्स* वाहक के उपयोग द्वारा गेहूँ, चावल इत्यादि में स्थानांतरित करवाकर इनमें N_2 स्थिरीकरण की क्षमता विकसित की गई है।

पादप ऊतक संवर्धन : परिभाषा, शब्दावली एवं विधियाँ (Plant Tissue Culture : Definition, Vocabulary and Methods) :

परिभाषा (Definition) : पादप ऊतक संवर्धन (Plant Tissue Culture) का तात्पर्य पादप कोशिकाओं, ऊतकों तथा अंगों के कृत्रिम पोषक पदार्थ (Artificial Medium) पर पात्रे (*in vitro*) संवर्धन से है।

शब्दावली :– पादप ऊतक संवर्धन की प्रक्रिया के तहत प्रयोग किये जाने वाले शब्द निम्नलिखित हैं–

कर्तोतक (Ex-plant) : संवर्धन आरम्भ करने के लिए उपयोग में लाए जाने वाले पौधों से लिए गये ऊतक या अंग के काटे हुए टुकड़े।

कैलस (Callus) : पोष माध्यम पर कर्तोतक से प्राप्त असंगठित एवं अविभेदित, ध्रुवता रहित कोशिकाओं के समूह को कैलस कहते है।

जीव द्रव्यक (Protoplast): कोशिका झिल्ली युक्त परन्तु कोशिका भित्ति रहित पादप कोशिकाओं को प्रोटोप्लास्ट कहते हैं।

उपसंवर्धन (Sub culture): कुछ अवधि के बाद संवर्धो का पुराने पोष माध्यम से नये पोष माध्यम पर स्थानान्तरण करना आवश्यक हो जाता है। इसके लिए पुराने संवर्ध (Culture) के एक अंश को नये पोष माध्यम पर स्थानान्तरित किया जाता है, इसे उपसंवर्धन कहते हैं।

भ्रूण संवर्धन (Embryo Culture): पादप के

अर्धविकसित अथवा पूर्णविकसित भ्रूण का संवर्धन, भ्रूण संवर्धन (Embryo Culture) कहलाता है। भ्रूण संवर्धन के तहत् परिवर्धित हो रहे बीजों से भी तरूण भ्रूण को निकालकर पोष माध्यम पर सवंर्धित कर पौधों की प्राप्ति करने को भ्रूण संवर्धन कहते हैं। तरूण भ्रूणों का निलबंक (Suspensor) क्षतिग्रस्त नहीं होना चाहिए, क्योंकि यह भ्रूण को जिबरेलिनों की आपूर्ति करता है। सर्वप्रथम हेनिंग ने रेफेन्स व काकलेरिया (क्रुसीफेरी) पर कार्य करते हुये भ्रूण का पात्रे संवर्धन किया।

पराग संवर्धन (Pollen Culture): किसी भी पादप के परागकणों को पोष माध्यम पर सवंर्धित करके अगुणित पादपों का निर्माण करने की क्रिया को पराग संवर्धन कहते हैं।

विभज्योत्तक संवर्धन (Meristem Culture): शीर्षस्थ या कक्षस्थ विभज्योत्तक विशेषकर प्ररोहाग्र विभज्योत्तक (Shoot Apices) के संवर्धन को मेरिस्टेम संवर्धन कहते हैं। चूँकि सामान्यतया प्ररोहाग्र विभज्योत्तक का संवर्धन किया जाता है। अतः इसे प्ररोहाग्र संवर्धन (Shoot Tip Culture) भी कहते हैं।

पूर्णशक्तता (Totipotency): किसी भी पादप कोशिका के संवर्धन से नये पादप बनाने की क्षमता को पूर्णशक्तता कहते है।

पोषक पदार्थ (Nutrient Medium): जिस पदार्थ पर पादप अंगों, ऊतकों तथा कोशिकाओं को सवंर्धित करते हैं उसे पोषक पदार्थ या संवर्धन पदार्थ (Culture medium) कहते है। पोष पदार्थ को जर्महीन (Aseptic) करने के लिए उसे 15 p.s.i. (पौंड प्रतिवर्ग इंच) दाब 121° ताप पर आटोक्लेव करते है। साधारणतया, ऑटोक्लेव करने के पहले पोष पदार्थ (Medium) को फ्लास्कों या संवर्ध नलियों (Culture Tubes) में वितरित कर दिया जाता है। सतह रोगाणुनाशित कर्तोतकों (Surface Sterilized Explants) को जर्महीन (Aseptic) वातावरण में पोष पदार्थ पर रखा जाता है।

पात्रे तकनीक (*in vitro* techniques): पात्रे तकनीक का अर्थ है पौधों के अंगों, ऊतकों तथा कोशिकाओं को परखनली में कृत्रिम पोषक पदार्थो पर सवंर्धित करना। इस तकनीक का विकास सभी पादप कोशिकाओं की पूर्णशक्तता (Totipotency) प्रमाणित करने के लिए किया गया था।

पात्रे तकनीक की समस्याएँ (Problems in *in vitro* Technique) : पात्रे तकनीक की दो मुख्य समस्याएँ हैं:– (1) पादप कोशिकाओं, ऊतकों आदि को सूक्ष्मजीवियों से मुक्त रखना। (2) कोशिकाओं तथा ऊतकों में वांछित वृद्धि कराना।

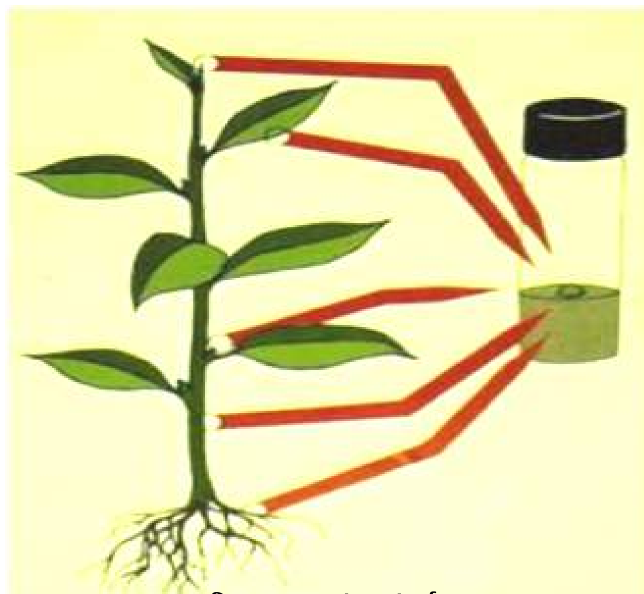
उपर्युक्त समस्याओं के समाधान के लिये निम्न बातों का ध्यान रखना आवश्यक है–

1. सतह रोगाणुनाशन (Surface Sterilization): पौधे के जिस भाग को संवर्धन के लिए पोषक पदार्थ पर रखा जाता है उसे कर्तोतक (Explant) कहते हैं। कर्तोतक की सतह पर अनेक कवकों के बीजाणु तथा बैक्टीरिया उपस्थित हो सकते हैं। उपयुक्त उपचार द्वारा कर्तोतकों की सतह को इन सूक्ष्मजीवों से मुक्त करना सतह रोगाणुनाशन कहते हैं।

2. रोगाणुनाशन (Sterilization): पादप ऊतक कल्चरों को संदूषण (Contamination) से बचाना अनिवार्य होता है। इसके लिए सभी संवर्धन पात्रों, पोषक पदार्थो, उपकरणों आदि को सूक्ष्मजीवों से मुक्त किया जाता है। सूक्ष्म जीवों को निष्क्रिय करने को रोगाणुनाशन या निर्जर्मीकरण कहा जाता है।

1. अंग संवर्धन (Organ Culture):

किसी भी पादप के विभिन्न अंगों जैसेः– जड़, तना, पत्ती, अण्डाश्य, परागकोष, भ्रुणकोष आदि को पोष माध्यम पर सवंर्धित करके पादपों का निर्माण करना अंग संवर्धन कहलाता है (चित्र 2.19)।



चित्र 2.19 अंग संवर्धन

2. भ्रूण संवर्धन (Embryo Culture) :

हैनिंग (Hanning) ने 1904 में बीज के परिपक्व भ्रूण को पोष पदार्थ पर सवंर्धित करके पादप भ्रूण संवर्धन की शुरूआत की एवं लेबॅक (Laibach) ने (1925, 1929) भ्रूण संवर्धन का वास्तविक उपयोग दर्शाया। किसी पादप के भ्रूण को पात्रे संवर्धन (*in vitro* Culture) हेतु उपयुक्त होने के पश्चात् बीज को परिपक्व होने में 10–20 दिन लगते हैं। इस अवस्था पर भ्रूण को संवर्धित कर लिया जाये तो उनसे सीधे ही पौधे (Seedlings) प्राप्त कर सकते हैं। इस प्रकार भ्रूण सवंर्धन करके नये पौधे प्राप्त करने में 10–20 दिन तक की बचत की जा सकती है, तथा नई

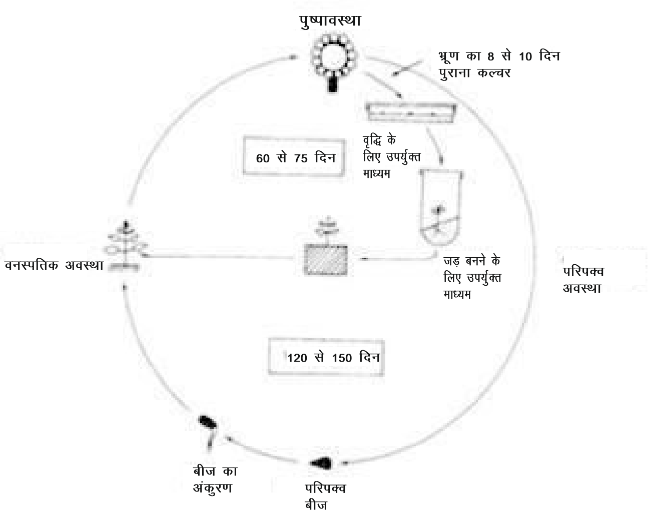
किस्मों के विकास के लिए आवश्यक समय घटाया जा सकता है।

भ्रूण संवर्धन के लिए भ्रूण को दो प्रकार से संवर्धित किया जा सकता है:

1. बीज से भ्रूण प्राप्त करना।
2. विकसित हो रहे भ्रूण को पादप से प्राप्त करना।

भ्रूण को निकालकर निर्जम परिस्थितियों (Aseptic Conditions) में संवर्धन माध्यम पर स्थानान्तरित करते है। पौधों से लिये हुए अपरिपक्व भ्रूण को जब पोष माध्यम पर संवर्धित करते है तो सुषुप्तावस्था के साथ–साथ भ्रूण विकास की अन्य अवस्थाओं में नहीं जाता है बल्कि एक पौधे के रूप में (Seedling) में विकसित हो जाता है (चित्र 2.20)।

भ्रूण संवर्धन के लिए विभिन्न युक्तियां (Different Means for Embryo Culture): सर्वप्रथम प्रयोग में आने वाले उपकरण (चाकू, सूई, चिमटी) आदि को निर्जमीकृत कर लिया जाता है। अब चयनित फल की सतह को सोडियम हाइपोक्लोराइट या एल्कोहल से निर्जमीकृत कर उसे निर्जमीकृत आसुत जल से धो लेते हैं।



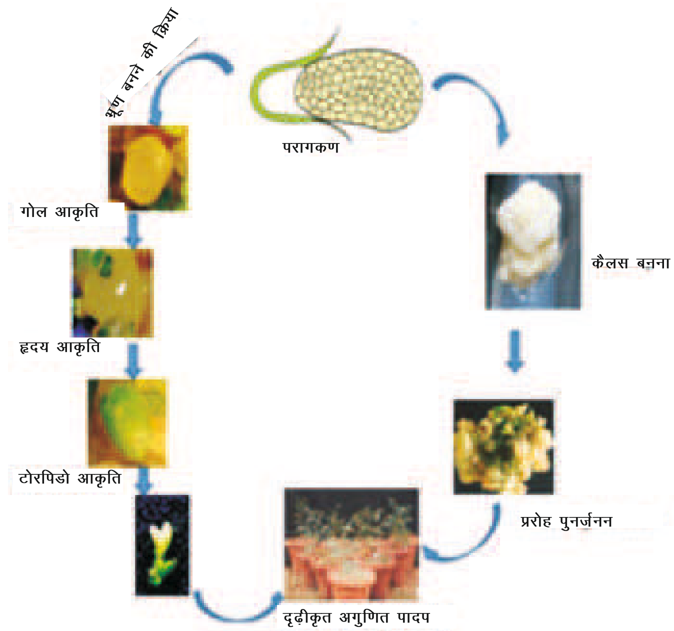
चित्र 2.20 भ्रूण संवर्धन

अब फल को काटकर निर्जमीकृत चिमटी की सहायता से बीजाण्ड या बीज को निर्जम पैट्रीडिश में रख देते हैं। बीजाण्ड को काटकर उसमें से भ्रूण को विलगित कर लेते हैं तथा तरुण भ्रूणों को सीधे ही पोष माध्यम पर सवंर्धित कर देते हैं।

3. पराग संवर्धन की विधि (Procedure of Pollen Culture):

पराग संवर्धन के लिए *धतुरा इनोक्सिया (Datura innoxia)* परागकोषों का पात्रे (*in vitro*) संवर्धन 1964 में सर्वप्रथम शिप्रा गुहा मुखर्जी एवं सतीश चन्द्र महेश्वरी द्वारा किया गया था। उनके प्रयोगों में परागकोषों के अन्दर अनेक भ्रूण (Embryo) सदृश संरचनाएँ उत्पन्न हुई। इन्हें भ्रूणाभ (Embryoids) कहा गया तथा प्रत्येक भ्रूणाभ एक अगुणित पादप (Haploid Plantlet) में विकसित हुआ।

पराग संवर्धन के लिए, परागकोषों से परागकणों को अलग कर लेते हैं (चित्र 2.21)।



चित्र 2.21 पराग संवर्धन

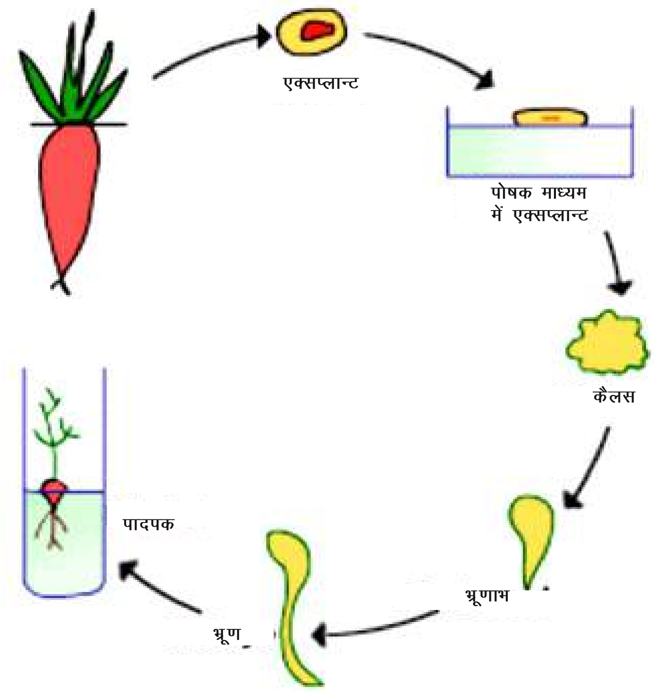
विलगित परागकणों (**Isolated Pollen Grains**) के पात्रे संवर्धन से अगुणित (**Haploid**) पौधों या अगुणित कैलस के उत्पादन को पराग संवर्धन कहते हैं। परागकणों को परागकोषो से अलग करने से पहले, परागकोषों को 4–7 दिन तक उपयुक्त दशाओं में पूर्व संवर्धन (Pre culture) करते हैं। संश्लेषित पोष माध्यम पर परागकणों का सीधे संवर्धन करते हैं। संश्लिष्ट पोष माध्यम के महत्त्वपूर्ण घटक G–ग्लूटेमीन, L–सीरीन एवं इनासिटॉल हैं। सोलेनेसी कुल के पौधों में सर्वाधिक अगुणित पौधों की प्राप्ति हुई।

4. कोशिका संवर्धन (Cell Culture):

पादप कोशिकाओं (Plant cells) को पोष पदार्थ पर असंगठित कैलस या निलंबन संवर्धनों (Suspension culture) के रूप में संवर्धन करने को कोशिका संवर्धन कहते हैं (चित्र 2.22)। विभिन्न प्रकार के पदार्थ जैसे: द्वितीयक उपापचयक, एन्जाइम उत्पाद, एकल कोशिका प्रोटीन आदि उत्पन्न करने के लिए कोशिका संवर्धन का प्रयोग किया जाता है। इन संवर्धनों को निलम्बन संवर्धन भी कहा जाता है। निलम्बन संवर्धनों से एकल कोशिकाओं की प्राप्ति के लिए कोशिका समूहों

को छानकर अलग कर देते हैं, फिर एकल कोशिकाओं को अपकेन्द्रण (Centrifugation) द्वारा प्राप्त करते हैं।

कोशिका संवर्धनों के पोष पदार्थों में लगभग हमेशा ही एक ऑक्जिन (Auxin) साधारणत्या 2,4–D मिलाया जाता है।



चित्र 2.22 कोशिका संवर्धन

कहीं–कहीं एक साइटोकाइनिन (Cytokinin), जैसे काइनेटिन (kinetin) या BAP (Benzyl Amino Purine) भी मिलाते हैं, किन्तु निलंबन संवर्धन में कोई साइटोकाइनिन नहीं मिलाया जाता है।

अधिकतर प्रजातियों के कोशिका संवर्धन में मूलोत्पादन (Root Regeneration) होता है। किन्तु कुछ पौधों में पहले प्ररोह (Shoot) का पूनर्जनन और बाद में उनमें जड़ें निकलती है, जैसे–कॉफी, तंबाकू, धान, गेहूँ, जौ आदि।

पादप ऊतक संवर्धन का कृषि में महत्व

(Importance of Tissue Culture in Agriculture) :

ऊतक संवर्धन तकनीक वास्तव में कोशिका या ऊतक को अलग से निर्जम परिस्थितियों (Aseptic Conditions) में उगाने की विधियों को कहते हैं।

1. कायिक प्रवर्धन (Vegetative Propagation) :

इस विधि से कम समय में एक जैसे गुणवत्ता युक्त पौधे प्राप्त किये जा सकते हैं। कायिक प्रवर्धन के लिए प्ररोहाग्र (Shoot Tip) या कक्षस्थ शाखा (Axillary Branch) का उपयोग करते हैं। कायिक प्रवर्धन का कई फसलों जैसे अदरक, हल्दी में उपयोग किया गया है।

2. वाइरस मुक्त पौधों की पुनः प्राप्ति (Recovery of virus free plant):

प्ररोहाग्र मेरिस्टेम (Shoot Tip Meristem) कई वाइरसों से मुक्त होते हैं। ऐसी दशा में, प्ररोहाग्र मेरिस्टेम संवर्धन द्वारा क्लोनीय एवं अन्य फसलों के वाइरस मुक्त पौधे प्राप्त किये जा सकते हैं।

3. अगुणित पौधे (Haploid Plants) :

पराग कोष (Anther) कल्चर, अनिसेचित अंडाशय (Unfertilized Ovary) संवर्धन एवं अंतरप्रजातियों में संकरण (Inter-specific Hybridization) द्वारा अगुणित पौधों की बड़े पैमाने पर प्राप्ति की जा सकती है। अंतरप्रजातीय संकरण के मुख्य रूप से दो उदाहरण हैं : (1) जौ तथा गेहूँ के अगुणित (Haploid) पौधों की प्राप्ति के लिए इनका *होर्डियम बुल्बोसम* (*Hordeum bulbosum*) से संकरण तथा गेहूँ के अगुणितों के लिए मक्के से संकरण। जौ या गेहूँ का हो. बुल्बोसम से संकरण करने पर परिवर्धित हो रहे भ्रूणों में से *हो. बुल्बोसम* के क्रोमोसोमों का क्रमशः लोप हो जाता है। अतः इन भ्रूणों में केवल जौ या गेहूँ के अगुणित क्रोमोसोम शेष बचते हैं।

4. समयुग्मज लाइनें (Homozygous Lines):

किसी समयुग्मज लाईन को प्राप्त करने के लिए परम्परागत विधियों से लगातार स्वनिषेचन (Selfing) अथवा निकट अंतःप्रजनन (Inbreeding) द्वारा कम–से–कम 6 वर्ष लगते हैं। किन्तु काल्चिसीन (Colchicine) द्वारा अगुणित (Haploid) पौधों के क्रोमोसोम दो वर्ष में ही द्विगुणन करने पर (Chromosome Doubling) द्विगुणन–अगुणित (Doubled Haploid, DH) पौधे प्राप्त हो जाते हैं, जो कि पूरी तरह से समयुग्मज होते हैं। इस विधि का प्रजनन कार्यक्रमों में चीन, जापान, कनाडा, यूरोप आदि में उपयोग किया गया है और कई व्यापारिक किस्मों का विकास भी किया गया है।

5. भ्रूण बचाव (Embryo Rescue):

कई अंतरजातीय (Inter-specific) संकरणों में भ्रूणपोष (Endosperm) के अपह्रासन (Degeneration) के कारण संकरित भ्रूण जीवित नहीं बच पाते हैं। ऐसे संकर भ्रूणों को बचाने के लिए उनका तरुण (Young) अवस्था में बीज से निकाल कर पात्रे कल्चर करते हैं। उदाहरणार्थ, ट्रिटिकेल की प्राप्ति ट्रिटिकम (*Triticum*) एवं सीकेल (*Secale*) के संकरणों से होती है। अधिकांश ट्रिटिकम लाइनों में दो प्रभावी जीन, Kr1 एवं Kr2 उपस्थित होते हैं, जो सीकेल (*Secale*) से संकरण करने पर

बीजों के परिवर्धन (Development) में बाधक होते हैं। अतः अधिकांश संकर बीज काफी छोटे, सिकुडे एवं निम्न अंकुरण क्षमता वाले होते हैं। इसके साथ ही, परागण किए गए फूलों में से केवल 5–10 प्रतिशत में बीज बनते हैं। लेकिन परागण के 10–14 दिन बाद भ्रूणों को निकालकर उपयुक्त पोषपदार्थ पर कल्चर करने पर 50–70 प्रतिशत फूलों से संकर पौधे प्राप्त होते हैं। इसी प्रकार, गेहूँ (*ट्रि. एस्टिवम्*) x जौ के भ्रूणपोषों को कल्चर करके संकर पौधे प्राप्त किए गए हैं।

6. कायिक क्लोनीय विविधता (Somaclonal Variations):

कायिक क्लोनीय विविधताएं के उपयोग से शकरकंद की किस्म 'स्कार्लेट' (Scarlet), जिरैनियम की किस्म सिग्मा (Sigma), सरसों की किस्म पूसा जय किसान (Pusa Jai Kisan) आदि का विकास किया गया।

7. साइब्रिड (Cybrids) :

साइब्रिडों का उत्पादन एक प्रजाति के समान्य प्रोटोप्लास्टों का दूसरी प्रजाति के केन्द्रकविहीन (स्वतः या जानबूझ कर उत्पादित) प्रोटोप्लास्टों से संलग्न करके करते हैं। इनके उपयोग से तम्बाकू, पत्तागोभी, धान, आलू, पिटूनिया आदि में कोशिकाद्रव्यी (Cytoplamic) नर बंध्यता एवं ट्राएजीन रोधिता (Triazine Resistance) जैसे लक्षणों का स्थानान्तरण किया गया है।

8. जननद्रव्य संरक्षण (Germplasm Conservation):

पारम्परिक विधि में जननद्रव्य का संरक्षण बीजों के रूप में करते हैं। किन्तु कई प्रजातियाँ अलैंगिक जननिक (Asexually Reproducing) होती हैं अथवा उनके बीज अल्प आयु वाले तथा बहुत कम अंकुरण क्षमता वाले होते हैं। ऐसी प्रजातियों के जननद्रव्य संग्रहों का भंडारण हिमीकृत संरक्षण (Freeze Preservation), मंद–वृद्धि कल्चर (Slow-Growth Culture), शुष्क कायिक भ्रूण (Desiccated Somatic Embryoids), कृत्रिम बीज एवं डीएनए क्लोन के रूप में किया जाता है।

मुख्य बिन्दु
(Important points)

1. जैव प्रौद्योगिकी में विज्ञान एवं अभियांत्रिकी के सिद्वान्तों का उपयोग करके जैविक कारकों की सहायता से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों का सृजन किया जाता है।
2. दही, सिरका, शराब आदि के उत्पादन में सूक्ष्मजीवों का उपयोग किया जाता है।
3. जिन पादपों में वांछित लक्षण के लिए बाहरी डीएनए उपस्थित होता है उसे ट्रांसजेनिक पादप कहते है।
4. आनुवांशिक अभियांत्रिकी के प्रमुख संसाधनों में (1) प्रतिबंध एन्जाइम (2) वाहक (3) एन्जाइम डीएनए लाइगेज एवं (4) एन्जाइम डीएनए पोलिमरेज होते हैं।
5. *ऐ. ट्यूमेफेसियन्स* के अर्बुद निर्माण करने वाले T–डीएनए (स्थानान्तरित डीएनए) के भाग को निकालकर उसकी जगह वांछित डीएनए को जोड़ देते हैं। जिससे वांछित डीएनए का स्थानान्तरण हो जाता है।
6. पुनर्योगज (Recombinant) डीएनए तकनीक द्वारा किसी भी जीव से इच्छित जीन को प्राप्त कर किसी अन्य जीव में स्थानान्तरित किया जा सकता है।
7. बीटी. कपास (Bt. Cotton) को गुलाबी सड़न कीट (Pink Boll Worm) जैसे ही खाता है, वह मर जाता है।
8. लाइसीन नामक अमीनों अम्ल की अधिकता वाली प्रोटीन उत्पादित करने वाली जीन को मक्का में स्थानान्तरित कर ट्रांसजैनिक मक्का तैयार की गई।
9. पादप की किसी भी कोशिका से संपूर्ण पादप विकसित करने की क्षमता को पूर्णशक्तता (Totipotency) कहते हैं।
10. परागकोष (Anther) संवर्धन, अंडाशय (Ovary) संवर्धन एवं अंतर–प्रजातीय संकरण (Interspecific Hybridization) द्वारा अगुणित पौधे प्राप्त किये जा सकते हैं।
11. दूरस्थ संकरण (Distant hybridization) में दो भिन्न–भिन्न वंशों वाले पौधों को संकरण कराने पर किन्ही कारणों से भ्रूण जीवित नही रह पाता है। इसलिए भ्रूण का ह्रास (Degeneration) होने से पहले ही भ्रूण को पोष माध्यम पर सवंर्धित करके बचाया जा सकता है और संकरित पादप प्राप्त किये जा सकते हैं।
12. पौधे के शीर्षस्थ विभज्योतक को संवर्धित करके वाइरस मुक्त पादप प्राप्त किये जा सकते है।
13. प्रारूपीय वाहक सामान्यतः बड़े डीएनए खण्डों को सफलतापूर्वक नहीं ले जा सकते हैं, अतः कृत्रिम गुणसूत्रों की आवश्यकता होती है। उदाहरणार्थ जीवाणु कृत्रिम गुणसूत्र (BAC), यीस्ट कृत्रिम गुणसूत्र (YAC) आदि।
14. पौधों में नाइट्रोजन स्थिरीकरण को बढ़ाने के लिए *राइजोबियम मेलीलोटी* (*Rhizobium meliloti*) के nif जीन (N_2 स्थिरीकरण के लिए उत्तरदायी) को *एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमेफेसिएन्स* वाहक के द्वारा गेहूँ, चावल इत्यादि में स्थानांतरित किया गया है।
15. ब्रोम मोजेक वाइरस के जीनोम के तीन खण्ड होते हैं एवं सफल संक्रमण के लिए तीनों खण्ड की आवश्यकता होती है।

16. कायिक क्लोनीय विविधता के उपयोग से शकरकन्द की किस्म 'स्कार्लेट', सरसों की किस्म 'पुसा जय किसान' विकसित की गयी है।

अभ्यासार्थ प्रश्न

बहुचयनात्मक प्रश्न

1 दही बनाने की प्रक्रिया में किसका योगदान होता है?

(अ) पौधे का रस (ब) प्रतिबंध एन्जाइम

(स) सूक्ष्मजीवों (द) लाईगेज एन्जाइम

2 निम्नलिखित तकनीकी द्वारा किसी एक जीव के जीन को अन्य जीव में स्थानान्तरित किया जा सकता है?

(अ) पुनर्योगेज तकनीकी (ब) कम्प्यूटर तकनीकी

(स) सूचना तकनीकी (द) कृषि तकनीकी

3 मेरिस्टेम संवर्धन के लिए पौधे का कौनसा भाग काम में लेते हैं ?

(अ) जड़ का भाग (ब) तनों का भाग

(स) पत्ती का भाग (द) तने का शीर्षस्थ या कक्षस्थ भाग

4 पादप भ्रूण संवर्धन की शुरूआत किसने की ?

(अ) गुहा एवं माहेश्वरी, 1964 (ब) लेबॅक, 1925

(स) ए.डी. बर्गन्र, 1921 (द) ई. हेनींग, 1904

5 स्थानान्तरित T-डीएनए (T-DNA) का लगभग माप होता हैं ?

(अ) 24 bp (ब) 30 bp

(स) 23 kb (द) 25 kb

अतिलघूत्तरात्मक प्रश्न

1 जैव प्रोद्योगिकी की परिभाषा लिखिये।

2 बी.टी. कपास (Bt. cotton) को किस कीट को मारने के लिए बनाया था ?

3 ट्रांसजेनिक मक्का क्यों बनाई गई?

4 बारनेज एवं बारस्टार जीन किस जीवाणु से लिये गये ?

5 ऊतक संवर्धन की परिभाषा लिखिये।

6 उपसंवर्धन को परिभाषित कीजिये।

7 पूर्णशक्तता (Totipotency) की परिभाषा लिखिये।

8 कैलस किसको कहते हैं ?

9 एक्सप्लान्ट क्या होता है ?

10 पोषक पदार्थ किसे कहते है ?

11 अपरिपक्व भ्रूण को पौधे से निकालकर पात्रे संवर्धन करने से किसकी बचत होती है ?

12 कायिक क्लोनीय विविधता के द्वारा उत्पन्न शकरकंद की किस्म का नाम लिखिये।

13 अगुणित पौधे प्राप्त करने के लिए पौधे के किस भाग का संवर्धन किया जाता है ?

14 पौधे के किस भाग का संवर्धन करके वाइरस मुक्त पौधे प्राप्त किये जा सकते हैं ?

15 कायिक क्लोनीय विविधता से क्या अभिप्राय है ?

लघूत्तरात्मक प्रश्न

1 आनुवांशिकी स्तर पर रूपान्तरित जीव (GMO) किसको कहते हैं ?

2 एन्डोन्यूक्लिऐज एवं एक्सोन्युक्लिऐज में अन्तर लिखिये।

3 अर्बुद निर्माण करने वाले T–डीएनए का महत्त्व बताइये।

4 फूलगोभी मोजेक वाइरस (CaMV) का वाहक के रूप में उपयोग को समझाइयें।

5 ब्रोम मोजेक वाइरस के जीनोम के कितने खण्ड होते हैं एवं सफल संक्रमण के लिए कौन से खण्ड की अधिक आवश्यकता होती है ?

6 कृत्रिम गुणसूत्र से क्या अभिप्राय है।

7 *एग्रोबेक्टीरियम* के सह–संवर्धन द्वारा स्थानांतरण को समझाइये ?

8 भ्रूण संवर्धन को संक्षेप में लिखिये।

9 पात्रे तकनीक (*in vitro* Technique) की समस्याएं लिखिये ?

10 पराग संवर्धन को संक्षिप्त में समझाइये।

11 पराग संवर्धन की क्या आवश्यकता होती है ?

12 साइब्रिड क्या होते हैं ? किन लक्षणों के लिए किस–किस फसल में साइब्रिड बनाये गये ?

13 भ्रूण रक्षा किन परिस्थितियों में की जाती है ?

14 पौधों में नाइट्रोजन स्थिरीकरण को कैसे बढ़ाया जाता है ?

निबन्धात्मक प्रश्न

1 आनुवांशिक अभियांत्रिकी के अन्तर्गत क्या–क्या संसाधनों की आवश्यकता होती है ? समझाइये।

2 आनुवांशिक अभियांत्रिकी का कृषि के क्षेत्र में महत्त्व बताइये?

3 *एग्रोबेक्टीरियम ट्यूमेफेसियन्स* (Agrobacterium tumefacience) द्वारा जीन स्थानान्तरण को विस्तृत रूप से समझाइये ?

4 वाहक अणुरहित या प्रत्यक्ष रूपान्तरण की कौन–कौनसी विधियाँ हैं ? विस्तृत रूप में समझाइये।

5 ऊतक संवर्धन का कृषि में महत्त्व बताइये।

उत्तरमाला : (1) स (2) अ (3) द (4) द (5) स