View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by CMFRI Digital Repository

सीप गठन की प्रेरणा के लिए समुद्री द्विकपाटी मोलस्क के मैन्टिल ऊतक के पात्रेन संवर्धन का प्रयोग

विद्या जयशंकर 1, श्रीनिवास राघवन वी.1,, सी. पी. सुजा 2और इंदिरा दिविपाला2
1. भा कृ अनु प - केन्द्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान का मद्रास अनुसंधान केन्द्र, चेन्नई
2. भा कृ अनु प - केन्द्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान का टूटिकोरिन अनुसंधान केन्द्र, टूटिकोरिन
लेखक से संपर्क : vidyajay@hotmail.com

मोती पालन दुनिया भर में व्यापक एक महत्वपूर्ण उद्योग है. मोती गठन की प्रक्रिया, चाहे प्राकृतिक तरीके से हो या मानव हस्तक्षेप के माध्यम से, मैन्टिल (Mantle) ऊतक में चोट पहूंचाने की प्रतिक्रिया होती है. मोती पालन के सामान्य तकनीक में, प्राप्तकर्ता द्विकपाटी सीप के जननद में, उसी प्रजाति के दाता के लिए गए मैन्टिल के टुकडे के साथ साथ एक अकार्बनिक केन्द्रक का शल्यरोपण किया जाता है. मैन्टिल ऊतक के बाहरी मैन्टिल एपिथीलियल कोशिकाओं के प्रचुरोद्भवन से केन्द्रक के चारों ओर एक पर्ल सैक विकसित होती है. जैसे सीपी बढ़ती है, केन्द्रक को ढ़ाकने के लिए पर्ल सैक प्रगतिशील रूप से मुक्ताभ गठन के यौगिकों और मुक्ताभ लैमेल्ले स्रवित करती है. मैन्टिल एपिथीलियल कोशिकाओं द्वारा गठित नेकर मुख्य रूप से अरगोनाइट, जो कि काल्शियम कार्बोनेट($CaCO_3$)का एक रूप है, और कार्बनिक पदार्थों से बनी हुई है. इसके अत्यधिक संगठित आंतरिक संरचना, रासायनिक जटिलता, यांत्रिक गुण और ऑप्टिकल प्रभाव एक खूबसूरत चमक पैदा करती है, जो मोती और द्विकपाटी सीप की आंतरिक परत की विशेषता है.

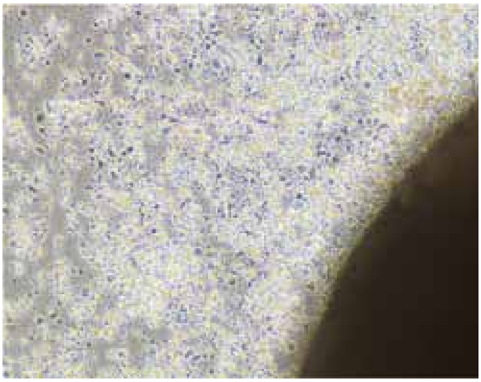
इन विवो (in vivo) मोती पालन तरीकों के अधीन प्राप्तकर्ता द्विकपाटी सीपों का उत्तर - जीवन हालांकि प्राकृतिक पर्यावरण की अनियमितता पर अत्यधिक निर्भर है. इसके कारण मोती उत्पादन के लिए पात्रे संवर्धन तकनीकों को विकसित करना आवश्यक है, जिससे संवर्धन की परिस्थितियों को नियंत्रित किया जा सकता है और सेलुलर और आण्विक स्तर पर पर्ल सैक और मोती गठन के तंत्र का अध्ययन आसानी से किया जा सकता है. इस आधारभूत अध्ययन को पूरा करने के लिए एक नवीन आदर्श संवर्धन प्रणाली की आवश्यकता, और मोती पालन के इस तकनीक की क्षमता मूल्य ने, अब दुनिया भर में मैन्टिल ऊतक संवर्धन को मोलस्कन अनुसंधान के प्रमुख क्षेत्रों में से एक बना दिया है.

मोती सीप की मैन्टिल ऊतक संवर्धन में पहला प्रयास जापानी मोती सीप, पिंक्टाडा फ्यूकेटा (*Pinctada fucata*) का उपयोग वर्ष 1949 में किया गया था. तब से, मैन्टिल ऊतक के संवर्धन तरीकों की उन्नति प्रगतिशील रूप में हुई है. इस क्षेत्र में सबसे अधिक काम जापान और चीन के शोधकर्ताओं द्वारा किया जाता है. मैन्टिल ऊतक संवर्धन के तरीके जापानी मोती सीप, *पी. फ्यूकेटा* (*P. fucata*) में विकसित किए गए. पहले के परीक्षणों में पैलियल ज़ोन से ली गई मैन्टिल ऊतक की पट्टियों को संवर्धन मीडियम में संवर्धन किया गया लेकिन सीप गठन से संवर्धित पदार्थ स्रावित या जमा नहीं हो पाया. इसके बाद संवर्धन के मीडियम में सुधार किए गए. गठरपाद मोलस्क, एबालोन हालियोटिस वेरिया (Haliotis varia) में भी अलग अलग संवर्धन मीडिया का उपयोग कर, मैन्टिल ऊतक संवर्धन के तरीके विकसित किए गए. हालांकि मोलस्क में कवच गठन की प्रक्रिया के नियंत्रित तंत्र और मोती गठन के दौरान मुक्ताभ स्तर के बयोमिनेरलाइज़ेशन में केशिकाबाह्य मैट्रिक्स प्रोटीन के कार्यों पर अध्ययन में पिछले दशक में उल्लेखनीय प्रगति हुई है, यह क्षेत्र अब भी प्रारंभिक अवस्था में है. मोती संवर्धन के लिए बाहरी उपकला कोशिका संवर्धन का सफल प्रयोग करने में अब भी निरंतर अनुसंधान की आवश्यकता है.

ऊतक संवर्धन तकनीकों का उपयोग कर के पात्रे मोती उत्पादन में सफलता प्राप्त करने के लिए कोशिकाओं में पारस्परिक क्रिया, संवर्धन मीडियम का सूक्ष्म जीवाणुओं से संदूषण आदि जैसे कई मुद्दों को संबोधित करना बाकी है. द्विकपाटी मोलस्क में मैन्टिल ऊतक समुद्री पर्यावरण के साथ सीधे संपर्क में है, जो कि विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मजीवों और प्रोटोज़ोवन से दूषित है. प्राथमिक संवर्धन स्थापित करने के दौरान सामना करनेवाली बड़ी कठिनाइयों में से एक है ऊतकों की प्रारंभिक परिशोधन करना. प्राथमिक संवर्धन वे हैं जो या तो ऊतक के टुकडों से, या फिर यांत्रिक या एंजाइमी विभाजन द्वारा ऊतकों से पृथक की गयी कोशिकाओं से आरंभ किए गए हैं. एक प्राथमिक सेल संवर्धन की जीवन क्षमता संवर्धन मीडियम पर काफी निर्भर है. विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं की विभिन्न विकास आवश्यकताएं होती है, जिनके कारण हर एक विशेष सेल प्रकार के लिए सबसे उपयुक्त मीडियम तैयार करना आवश्यक बनता है. प्राथमिक संवर्धनों को ऐसी संवर्धन मीडिया में बनाया रखना आवश्यक है जिनके घटक द्विकपाटियों के हीमोलिम्फ की भौतिक विशेषताओं पर आधारित है. अधिकतर व्यावसायिक संवर्धन मीडिया पशु सेल संवर्धन में उपयोग के लिए विकसित की गई है, और इस कारण इन्हें समुद्री पर्यावरण की विशेषताओं से मेल करने के लिए संशोधित करने की आवश्यकता है. इन विशेषताओं को ध्यान में रखने के बाद, पशु कोशिकाओं के संवर्धन में प्रयोग किए जानेवाले कुछ संपूरकों को मीडियम में जोडे जाते है. इन में फीटल काफ सीरम (Fetal Calf Serum), यीस्ट हायड्रोलायसेट (yeast hydrolysate), लिपिड और विटामिन विलयन और विकास कारकों जैसे योजक शामिल हैं. हमारी प्रयोगशाला में दो द्विकपाटी मोलस्क, हरी कौडी, *पेर्ना विरिडिस (Perna viridis)* और काली अधरवाली मोती सीप *पिंक्टाडा मारगरिटिफेरा* (*Pinctada margaritifera*) (चित्र 1) में की गई मैन्टिल सेल संवर्धन के काम से हमें निम्नलिखित विचार मिलते है. प्रयोगात्मक द्विकपाटी को रात भर एंटीबायोटिक और कवक नाशी विलयन युक्त समुद्री पानी में रखना और संवर्धन के पूर्व मैन्टिल स्ट्रिप्स को स्टेरिलाइस करना दूषण को कुछ हद तक कम करने में मदद की. मैन्टिल उपकला कोशिकाओं के विकास और प्रचुरोद्भवन के लिए ऊष्मायन तापमान निर्धारित कारकों में से एक पाया गया, अच्छे प्रचुरोद्भवन के लिए 25 - 27° C सर्वोत्तम ऊष्मायन तापमान पाया गया. संवर्धन आरंभ करने के 24 घंटे के भीतर मैन्टिल के खण्ड के चारों तरफ से कोशिकाओं का प्रचुरोद्भवन और प्रसार शुरू होने लगा

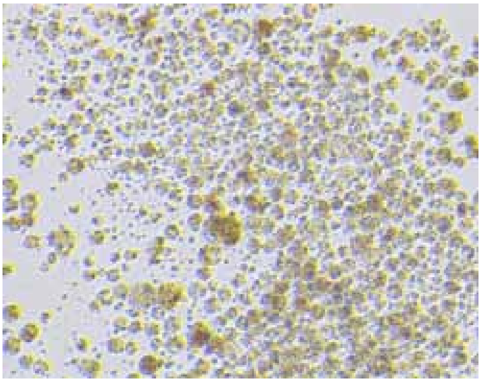
चित्र 1- मैंटिल ऊतक a. हरी कौडी, *पेर्ना विरिडिस* और काली अधरवाली मोती सीप *पिंक्टाडा मारगरिटिफेरा*

(चित्र 2). कोशिकाओं का बड़ी मात्रा में उत्पादन हुआ, जिनमें एपीथीलियम- जैसी कोशिकाएं और गोलाकार हयालिनोसाइट (hyalinocyte) भी शामिल थे, संवर्धन में कणिकी एपीथीलियल कोशिकाएं सबसे अधिक थी.



चित्र 2 मैंटिल संवर्धन के 24 घंटे के बाद मैंटिल के कोशिकाओं का प्रचुरोद्भवन , M: मैंटिल एक्सप्लांट

फाइब्रोब्लास्ट जैसी कोशिकाएं भी दिखाई हुई. संपूरक जोडा हुआ रोगाणु मुक्त समुद्री पानी, संवर्धन में लेबोविट्स - 15 जैसे व्यावसायिक मीडिया के लिए एक शक्य विकल्प पाया गया. इस मीडियम का प्रयोग करके दीर्घकालिक मैन्टिल ऊतक प्राथमिक संवर्धन स्थापित कर सके. कणिकायुक्त कणिकी एपीथीलियल कोशिकाओं से भरी स्यूडोपीडियल सेल नेटवर्क का गठन लगभग 14 दिनों में हासिल की गई (चित्र 3). परिपक्व कणिकी कोशिकाओं से मुक्त होने के बाद, ये कणिकाएं खनिज जमा करने के स्तर बन गए, और संवर्धन प्लेट के तल पर नेकर क्रिस्टल का उत्पादन प्रेरित किया. उपसंवर्धन के दौरान, नई प्लेटों को बदली गयी कोशिकाएं नई सतह पर सफलतापूर्वक आसंजित हुए, और संवर्धनों को 1- 10 महीनों की कालावधि तक व्यवहार्य अवस्था में बनाए रख सके. स्कैनिंग इलेक्ट्रोन माइक्रोस्कोपी (SEM) के अध्ययन से पुष्टि की गयी मैन्टिल एक्स्प्लांट और सेल वृद्धि के क्षेत्र में खनिज निक्षेप उत्पन्न हुए, जिनमें प्रमुख तत्व कैल्शियम, कार्बन और ऑक्सिजन थे. कैल्शियम नेकर क्रिस्टल का एक घटक है. हमारे प्रयोग यह प्रदर्शित करता है कि जो कार्य विवो में मैंटिल कोशिकाएं खोल गठन करते हैं वही कार्य पात्रे मैंटिल ऊतक संवर्धन कर सकते हैं.



चित्र 3- कणिकायुक्त कणिकी एपीथीलियम कोशिकाएं