UGBY/ZY-L1

BLOK-1

UGBY/ZY – L1

उत्तर प्रदेश
राजर्षि टण्डन मुक्त विश्वविद्यालय

प्रयोगशाला पाठ्यक्रम - I

परीक्षण तालिका

1. माइक्रोस्कोपी (सूक्ष्मदर्शिकी) 5
2. सूक्ष्ममिति 11
3. कोशिकाओं का अध्ययन 16
4. जन्तु ऊतकों का अध्ययन 22
5. पादप ऊतकों का अध्ययन 34
6. मानव तथा मेंढ़क के रक्त आलेप बनाने की विधि 41
7. स्क्वाश तकनीक द्वारा सूत्रीविभाजन तथा अर्धसूत्री विभाजन का अध्ययन 46
8. ड्रोसोफिला के लार्वो की लार ग्रंथियों से पौलीटिन क्रोमोसोम की निर्मिति बनाने की विधि 53
9. आलेप तकनीक द्वारा स्त्रियों की मुख गुहा की एपिथीलियमी कोशिकाओ में लिंग–क्रोमैटिन देखना 56
10. कोशिकाओं के कार्बनिक रचकों के गुणात्मक जैवरासायनिक परीक्षण 58
11. पदार्थो का कोशिकाओं में संचलन–विसरण तथा परासरण 67
12. एंज़ाइमी अभिक्रियाओं का अध्ययन 77
13. मनकों का उपयोग करके एकसंकर मेंडलीय अनुपात का सत्यापन एवं काई–वर्ग परीक्षण 86
14. मनकों का उपयोग करके द्विसंकर मेंडलीय अनुपात का सत्यापन एवं काई–वर्ग परीक्षण 96
15. मानव के मेंडलीय लक्षणो का अध्ययन 104
16. मानव रक्त समूहों का अध्ययन 110
17. ऐलीलों की तथा जीनोटाइप (जीन प्ररूपों) की बारंवारताओं का निर्धारण 114
18. वंशावली चार्टो से वंशावली विश्लेषण 119

LSE-04 जीव विज्ञान का पहला पाठ्यक्रम है । इस 4 क्रेडिट के पाठ्यक्रम में आपको सरल प्रयोगों से परिचित कराया जाएगा जिनको आप स्वयं कर सकेंगे । ये प्रयोग कोशिका जैविकी, आनुवंशिकी एवं पारिस्थितिकी से संबंधित हैं । हम आशा करते हैं कि इन प्रयोगों से आपकी स्वयं कार्य करने में कुशलता तो होगी ही साथ ही प्रेक्षण, विश्लेषण एवं व्याख्या में भी निपुणता हो सकेगी ।

यह प्रयोगशाला पाठ्यक्रम I काफी सघन पाठ्यक्रम है और आपको इस पाठ्यक्रम को 12 दिनों में पूरा करना है । विद्यार्थी को एक 4 क्रेडिट के प्रयोगशाला पाठ्यक्रम में 120 घंटे का समय लगाना पड़ता है । आपको प्रति दिन 10 घंटे कार्य करना पड़ेगा जिसमें दो 3–3 घंटे के प्रयोगशाला सत्र होंगे । प्रयोगशाला में कुछ सत्र 4 घंटे के भी हो सकते हैं । एक घंटा वीडियो देखने का या परामर्शदाता द्वारा प्रयोग का निरूपण करने के लिए होता है । बाकी के 3 घंटों में आप अपनी रिकार्ड नोट बुक तैयार कर सकेंगे तथा आपके परामर्शदाता मौखिक परीक्षा लेगें ।

इस पाठ्यक्रम के पहले बारह प्रयोग कोशिकाओं एवं ऊतकों के अध्ययन से संबंधित हैं । हम सूक्ष्मदर्शी एवं सूक्ष्मीतीय अध्ययनों से प्रयोगों को प्रारंभ करेंगे । प्राणी एवं पौधों की कोशिकाओं के प्रेक्षण के साथ–साथ आप स्क्वाश तकनीक द्वारा सूत्री तथा अर्धसूत्री विभाजन की विभिन्न अवस्थाओं एवं पौलीटीन क्रोमोसोम की निर्मित्ति बनायेंगे तथा उनका अध्ययन करेंगे । कोशिकाओं की झिल्ली के आर–पार किस प्रकार से, भौतिक परिघटना द्वारा विसरण तथा परासरण का संचलन होता है, इसको भी अनेक प्रयोगों द्वारा समझाया गया है । कोशिकीय रचकों जैसे कि कार्बोहाइड्रेटों, प्रोटीनों एवं वसा की पहचान के लिए सरल जैवरासायनिक प्रयोगों को करेंगे और इसी प्रकार एन्जाइमों की अभिक्रियाओं का परिक्षणों द्वारा अध्ययन कर सकेंगे । प्रयोग 13 से प्रयोग 20 तक आनुवंशिकी से संबधित हैं । आप मेन्डल के वंशागति के नियमों को सत्यापित कर सकेंगे । मनुष्यों में मेन्डलीय अभिलक्षणों का अध्ययन करेंगे और सुलभ प्रयोगों द्वारा मनुष्य में रक्त समूह एलीलों को समझ सकेंगे । कुछ प्रयोग वंशागति चार्टों को बनाने एवं उनके विश्लेषण, एलीलों एवं जीन प्ररूपों की बारंबारताओं का निर्धारण, तथा मनुष्यों के गुणसूत्र प्ररूपों का विश्लेषण करने पर आधारित है । अंतिम आठ प्रयोग पारिस्थितिकी पर आधारित हैं । आप प्रयोगों द्वारा अजीवीय कारकों जैसे कि लवणता, pH तथा पानी के नमूनों में आक्सीजन की मात्रा का अनुमान लगाने को सीखेगें । समुदाय संरचना, और समष्टि आकलन से संबंधित सरल प्रयोग दिये गये हैं । संग्रहित नमूनों और तैयार स्लाइडों की मदद से आप जान सकेंगे कि पौधे एवं जीव जन्तु आवास के अनुसार कैसे अनुकूलित हो जाते हैं । इस प्रकार आप विभिन्न जीव जन्तुओं के आपसी संबंधों और सहवास से भी परिचित हो सकेंगे ।

प्रयोगशाला के दो सप्ताह में ही आपके कार्य का मूल्यांकन भी होगा । आपके परामर्शदाता आपको उचित मार्गनिर्देशन करेंगे और साथ ही साथ आपके कार्य का मूल्यांकन भी करेंगे । इस पाठ्यक्रम के अंतिम दिन आपको परीक्षा देनी होगी । परीक्षा उन्हीं प्रयोगों में से होगी जो आपने दो सप्ताह के अंदर किए हैं । सतत् मूल्यांकन 70 प्रतिशत होगा जो मार्गदर्शित प्रयोगों पर आधारित रहेगा और अंतिम दिन पर दिए गए परीक्षा का मूल्यांकन 30 प्रतिशत रहेगा ।

अध्ययन दर्शिका

1. प्रयोगशाला में जाने से पहले आपको हर प्रयोग सावधानीपूर्वक पढ़ लेना चाहिए । प्रयोग को करने की विधि, तालिकाओं एवं चित्रों को ध्यानपूर्वक पढ़ें ।

2. महत्त्वपूर्ण चरणों को अपनी पुस्तिका में रेखांकित करें ।

3. आप अपने साथ विच्छेदन किट में एक कैंची, सुईयां, चाकू, और चिमटियां प्रयोगशाला में लायें । रासायनिकों एवं उपकरणों के साथ सावधानीपूर्वक कार्य करें ।

4. अपनी प्रेक्षण पुस्तिका साथ रखें एवं सारे प्रेक्षणों के परिणामों को उसमें लिखें । आप हमेशा प्रेक्षणों को और परिणामों को विस्तारपूर्वक लिखें इससे आपको कार्य में सहायता मिलेगी ।

5. प्रेक्षण पुस्तिका के साथ-साथ आपको रिकार्ड नोट बुक भी बनानी पड़ेगी जो आप परामर्शदाता को मूल्यांकन के लिए परीक्षा के समय दे देंगे । आप अपने प्रेक्षण एवं परिणामों को लिखें और हर प्रयोग की विवेचना भी कीजिए । जहां कहीं भी जरूरी हो, वहाँ चित्र बनाइये । इसके लिये आप ऐसी नोटबुक खरीदें जिसमें 200 पन्ने हो और जो एक तरफ रूलदार हों और एक तरफ सादा हो । प्रेक्षण आदि को लिखने का काम आप निर्धारित समय में करें । यदि संभव न हो, तो घर जाकर उस दिन के शेष कार्य को लिख ले ।

6. दो सप्ताह में अपने परामर्शदाता से भली प्रकार विचार-विमर्श करें । अपने परामर्शदाता के समय का उपयोग यथोचित ढंग से करें । अपने सभी समय का ठीक प्रकार से उपयोग करें जिससे इस पाठ्यक्रम में व्यतीत होने वाला समय उपयोगी और अर्थपूर्ण सिद्ध हो सके ।

प्रयोग 1 माइक्रोस्कोपी (सूक्ष्मदर्शिकी)

रूपरेखा

1.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
1.2 आवश्यक सामग्री
1.3 संयुक्त माइक्रोस्कोप के भाग
1.4 माइक्रोस्कोप में प्रकाश का पथ
1.5 माइक्रोस्कोप की विभेदन क्षमता
1.6 आवर्धन
1.7 संयुक्त माइक्रोस्कोप की कार्यविधि
1.8 सावधानियाँ
1.9 विच्छेदन माइक्रोस्कोप
1.10 बोध प्रश्न

1.1 प्रस्तावना

इस प्रयोगशाला पाठ्यक्रम–1 का प्रारंभ संयुक्त माइक्रोस्कोप (compound microscope) तथा विच्छेदन माइक्रोस्कोप (dissection microscope) को इस्तेमाल करने के तरीके से संबंधित अभ्यासों से करेंगे । अब तक आप प्रकाश माइक्रोस्कोप (light microscope) के कार्य करने में निहित सिद्धांत से परिचित हो चुके होगें । आप LSE-01 (कोशिका जैविकी) की इकाई 2 का संदर्भ देख सकते हैं जिसमें प्रकाश माइक्रोस्कोप (प्रकाश सूक्ष्मदर्शिकी) का विस्तार से विवेचन किया गया है । आप में से कुछ तो अपने उच्चतर माध्यमिक पाठ्यक्रम में संयुक्त माइक्रोस्कोप से कार्य कर चुके होंगे । कुछ अध्ययनों के लिए तो अधिक जटिल तथा शक्तिशाली इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोप (electron microscope) की आवश्यकता होती है जिसमे 500,000 तक का आवर्धन प्राप्त किया जा सकता है । मगर कोशिकाओं तथा ऊतकों के अध्ययन के लिए प्रकाश माइक्रोस्कोप पर्याप्त है ।

उद्देश्य

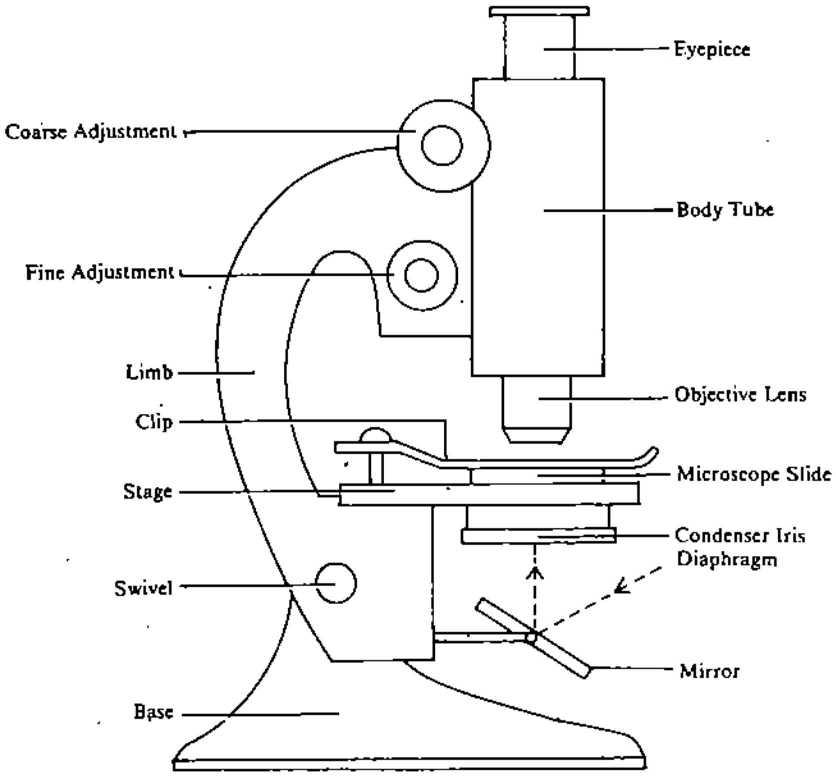
इस प्रयोगशाला अभ्यास से आपः

- एक संयुक्त माइक्रोस्कोप को खूब अच्छी तरह और सावधानीपूर्वक इस्तेमाल कर सकेंगे,
- माइक्रोस्कोप के विभिन्न भागों से परिचित हो सकेंगे,
- माइक्रोस्कोप के विभेदन अथवा विभेदन क्षमता का वर्णन कर सकेंगे,
- विविध लेंस प्रणालियों में से गुजरते हुए प्रकाश के पथों का आरेख बना सकेंगे, और
- छोटे स्पेसिमेनों के अध्ययन में विच्छेदन माइक्रोस्कोप की उपयोगिता को समझ सकेंगे, हालांकि इसके द्वारा आवर्धन थोड़ा ही होता है ।

1.2 आवश्यक सामग्री

- एक संयुक्त माइक्रोस्कोप, जिसमें निम्न तथा उच्च क्षमता वाले ऑब्जेक्टिव लेंस हों
- विच्छेदन माइक्रोस्कोप
- *पैरामीशियम* की तैयार हुई स्लाइडें
- कुछ छोटे कीट

1.3 संयुक्त माइक्रोस्कोप के भाग

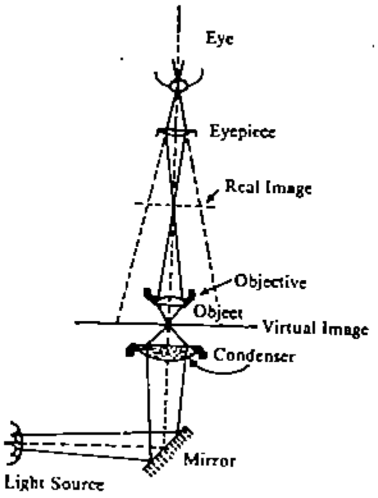


चित्र 1.1 : संयुक्त माइक्रोस्कोप

संयुक्त माइक्रोस्कोप के विभिन्न भाग चित्र 1.1 में दर्शाए गए हैं । माइक्रोस्कोप में एक नलिकाकार बॉडी (tubular body) होती है जिसके ऊपरी सिरे में एक लेंस प्रणाली लगी होती है जिसे ऑक्युलर लेंस (ocular lens) कहते हैं । नली के दूसरे सिरे पर जो कि नमूने (स्पेसिमेन; specimen) के निकट होता है एक अन्य लेंस प्रणाली होती है जिसे ऑब्जेक्टिव लेंस (objective lens) कहते हैं । प्रत्येक लेंस प्रणाली में लेंसों की एक—एक श्रृंखला होती है । इसमें ऑब्जेक्टिव लेंस में प्रायः 8 से 10 तथा ऑक्युलर में प्रायः 2 से 3 लेंस होते हैं । निकतम् रूप से रखे हुये ऑब्जेक्टिव तथा ऑक्युलर दोनों ही लेंस अकेले लेंस के रूप में कार्य करते हैं तथा प्रतिबिम्व में हो सकने वाले किसी भी विपथ (aberration) को ठीक कर लेते हैं । ऑब्जेक्टिव एक घूम सकने वाले "नोज़ पीस" (nose piece) में लगे होते हैं । नोज़ पीस में 2 या 3 ऑब्जेक्टिव लेंसों को लगाए रखने का प्रवधान होता है जिनमें से प्रत्येक की आवर्धन क्षमता (magnifying power) अलग होती है । सामान्यतः 10x तथा 45x के ऑब्जेक्टिव हुए करते हैं । आप देखेंगे कि बॉडी नली के पीछे दो प्रकार की समंजनकारी घुंडिया (adjustment knobs) होती हैं । इनमें से एक घुंडी बड़ी होती है जिसे स्थूल नियंत्रक (coarse control) कहते हैं जिससे लेंस नली को ऊपर नीचे चलाया जा सकता है (कुछ सूक्ष्मदर्शियों में अतिरिक्त घुंडियों से स्पेसिमेन स्टेज (specimen stage) की गति को नियंत्रित किया जाता है ।) इसके अतिरिक्त दूसरी घुंडी सूक्ष्म-नियंत्रक (fine control) होती है जिसके द्वारा स्पेसिमेन के प्रतिबिंब को सही फ़ोकस में लाया जा सकता है । ये दोनों समंजन माइक्रोस्कोप की भुजा पर स्थित होते हैं । स्पेसिमे स्टेज माइक्रोस्कोप की भुजा के निचले भाग में लगा होता है और ऑब्जेक्टिव के नीचे होता है । स्पेसिमेन स्टेज के तुरंत नीचे एक कन्डेंसर लेन्स (condenser lens) लगा होता है जिसका काम किसी भी प्रकाश स्रोत से आने वाले प्रकाश को स्पेसिमेन पर फोकस करना होता है । कन्डेंसर लेंस भी अनेक लेन्सों से बना होता है । कन्डेंसर लेंस में प्रवेश होने वा

प्रकाश की मात्रा को नीचे लगे एक आइरिस डायाफ्राम (iris diaphragm) द्वारा नियंत्रित किया जा सकता है। माइक्रोस्कोप के आधार से लगा हुआ एक दर्पण (mirror) होता है जिसे प्रकाश को ऊपर को परावर्तित करने के लिए समंजित किया जा सकता है। दर्पण एक तरफ से अवतल (concave) होता है तथा दूसरी तरफ से समतल (plain) होता है।

1.4 प्रकाश का पथ



चित्र 1.2 : संयुक्त माइक्रोस्कोप में प्रकाश का पथ

कन्डेंसर से ऑब्जेक्टिव में प्रकाश का पथ चित्र 1.2 में दर्शाया गया है। कन्डेंसर लेंस को इस प्रकार ठीक स्थिति में लाया जा सकता है कि इससे गुजरने वाला प्रकाश स्पेसिमेन के ऊपर समाभिरूप (converge) होकर निकलने पर प्रकाश का एक शंकु (cone of light) बना ले जो ऑब्जेक्टिव को पूरी तरह भर देता है।

1.5 माइक्रोस्कोप की विभेदन क्षमता

मान लिया कि आपने दो वस्तुओं को माइक्रोस्कोप के स्टेज पर बिल्कुल पास-पास रखा है और आप उनको पृथक वस्तुओं के रुप में देख सकते हैं तब हम कहेंगे कि माइक्रोस्कोप की विभेदन क्षमता उच्च स्तर की है। निम्न विभेदन क्षमता वाले माइक्रोस्कोपों में आप इन दोनों वस्तुओं के प्रतिविम्ब को केवल एक ही वस्तु के रूप में देखेंगे। आइए जल्दी से माइक्रोस्कोप की विभेदन क्षमता के अर्थ की याद फिर से ताजा कर लें।

$$\text{विभेदन क्षमता} = d = \frac{0.61\,\lambda}{n \sin \alpha}$$

जिसमें λ तरंगदैर्घ्य (wave length) होता है, n स्पेसिमेन को घेरे रहने वाले माध्यम का अपवर्तन सूचकांक (refractive index) होता है तथा α उस प्रकाश का आधा कोण half angle of the light) होता है जो स्पेसिमेन में से होकर ऑब्जेक्टिव लेंस में प्रवेश करता है। $n \sin \alpha$ को लेंस का संख्यात्मक द्वारक (numerical aperture) (NA) भी कहा है। विभेदन क्षमता तब सर्वाधिक होती है तब λ छोटा होता है तथा λ का मान अधिक होता है। दूसरे शब्दों में कह सकते हैं कि विभेदन क्षमता तरंगदैर्घ्य के प्रतिलोमतः

अनुपातित होती है । प्रकाश माइक्रोस्कोप में दृश्यमान स्पेक्ट्रम से 0.5 µm (0.5×10^{-6} m) का तरंगदैर्घ्य प्राप्त किया जा सकता है । प्रकाश माइक्रोस्कोप में सर्वोत्तम विभेदन पर 0.2 µm (0.2×10^{-6} m) की दूरी वाले दो बिंदुओ को अलग-अलग देखा जा सकता है जिसकी तुलना में हम कह सकते हैं कि इलेक्ट्रान माइक्रोस्कोप में 1×10^{-10} m वाली परस्पर दूरी के दो बिंदुओ को सरलता से पृथक-पृथक देखा जा सकता है ।

1.6 आवर्धन

हम पहले कह चुके हैं कि ऑब्जेक्टिव लेंस अलग-अलग आवर्धन वाले होते हैं । इसी प्रकार ऑक्युलर लेंस भी अलग-अलग आवर्धन के हो सकते है । ऑक्युलर लेंस प्रायः 5x, 10x तथा 15x के आवर्धन के होते हैं । ऑक्युलर लेंस का आवर्धन जितना अधिक होता जाएगा उतना ही ज्यादा क्षेत्र व्यास (field diameter) भी बढ़ता जाएगा । इस बात के सही होने का प्रमाण आप स्वयं माइक्रोस्कोप में अलग-अलग आवर्धन के ऑक्युलर लेंसो को अदल-बदल कर देख सकते हैं ।

स्पेसिमेन का आवर्धन कितने गुणा हुआ है इसे आप ऑक्युलर लेंस तथा ऑब्जेक्टिव लेंस के आवर्धनों को गुणा करके पता लगा सकते हैं । उदाहरण के लिए 10x आवर्धन के ऑक्युलर लेंस तथा 10x आवर्धन के ऑब्जेक्टिव लेंस के इस्तेमाल से स्पेसिमेन का 100 गुना आवर्धन होगा । माइक्रोस्कोप के नोज़ पीस को घुमा कर आप जिस ऑब्जेक्टिव को चाहे उसे ही प्रकाश के पथ में ला सकते हैं ।

1.7 संयुक्त माइक्रोस्कोप की कार्यविधि

माइक्रोस्कोप के विभिन्न भागों से एक बार परिचित हो जाने के बाद आप इसको इस्तेमाल करना शुरु कर सकते हैं । नीचे दिए गए चरणों से आपको माइक्रोस्कोप के इस्तेमाल में मदद मिलेगी ।

1. यह जरुरी है कि ऑक्युलर लेंस तथा ऑबजेक्टिव लेंस साफ हों । अतः माइक्रोस्कोप को इस्तेमाल करने से पूर्व दोनों लेंसों को लेंस क्लीनिंग पेपर तथा लेंस क्लीनिंग द्रव से सावधानी के साफ कर लीजिए ।

2. अब नोज़ पीस को घुमा कर निम्न क्षमता ऑब्जेक्टिव (10x) को प्रकाश-पथ में ले आइए ।

3. डायाफ्राम को पूरी तरह खोल लीजिए ।

4. माइक्रोस्कोप के ऑक्युलर में से देखते समय, दर्पण अथवा प्रकाश स्रोत को ठीक से बैठा लीजिए ताकि आपको दिखाई पड़ने वाला वृत्ताकार क्षेत्र समान रूप से सर्वाधिक प्रकाश प्राप्त कर सके और वह चमकीला हो ।

5. स्पेसिमेन स्टेज पर कोई भी एक तैयार की गयी स्लाइड रखिए ।

6. स्थूल समंजन घुंडी तब तक घुमाइए जब तक कि वस्तु दृश्य में नहीं आ जाती (स्लाइड से लगभग 0.5 cm ऊपर)

7. यदि आवश्यक हुआ तो सूक्ष्म समंजन नियंत्रण का इस्तेमाल करके प्रतिबिम्ब को ठीक

फ़ोकस में ले आइए। साथ-साथ आप डायाफ़ाम को भी खोलिए और बंद कीजिए जिससे क्षेत्र का चमकीलापन जांच कर प्रतिबिम्ब का विपर्यास (कंट्रास्ट contrast) बेहतर किया जा सके।

8. यदि आपको प्रतिबिम्ब का आवर्धन और अधिक बढ़ाना हो तो नोज़ पीस को घुमा कर उच्च क्षमता ऑब्जेक्टिव को प्रकाश पथ में ले आइए। यदि माइक्रोस्कोप समफ़ोकस तली (parfocal) हुआ तो आपको वस्तु स्पष्ट और आवर्धित दिखायी देगी वरना आप सूक्ष्म समंजन घुंडी को इस्तेमाल करके वस्तु के प्रतिबिम्ब को सही फ़ोकस में ला सकते हैं।

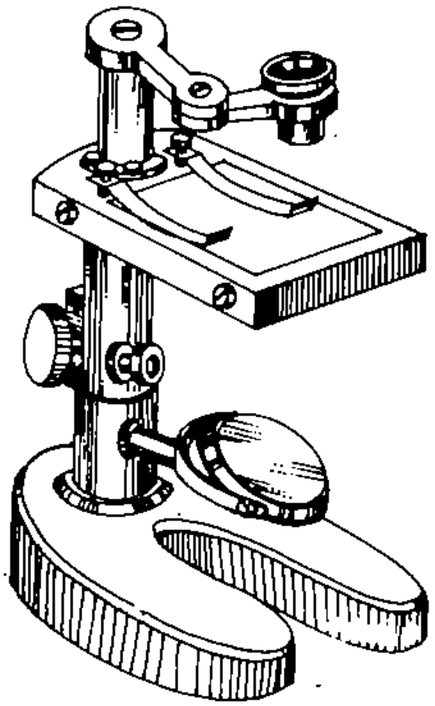
समफ़ोकस तली (parfocal) : जब माइक्रोस्कोप में वस्तु को निम्न क्षमता में सही फ़ोकस में लाया गया होता है, और फिर जब उच्च क्षमता वाले ऑबजेक्टिव लेन्स के नीचे लाने पर भी वह वस्तु फ़ोकस में बनी रहती है तब माइक्रोस्कोप को समफ़ोकस तली कहा जाता है।

9. अंततः माइक्रोस्कोप का इस्तेमाल करने के बाद नोज़ पीस को घुमा कर निम्न क्षमता ऑब्जेक्टिव को स्थान पर ले आइए, स्टेज से स्लाइड हटा लीजिए, आवश्यक हुआ तो लेंस साफ कर दीजिए और माइक्रोस्कोप को वापिस बक्से में रख दीजिए।

1.8 सावधानियाँ

1. माइक्रोस्कोप को हमेशा साफ रखिए तथा धूल से बचाने के लिए उसे ढक कर रखिए।
2. लेंसों को साफ करने के लिए केवल लेंस क्लीनिंग टिशू पेपर का ही इस्तेमाल करें, कभी भी खुरदरे कागज या खुरदरे कपड़े का इस्तेमाल न करें क्योंकि उससे लेंस में खराश पड़ जाएंगे।
3. माइक्रोस्कोप को उठाते समय एक हाथ से उसकी भुजा को पकड़िए तथा दूसरे हाथ से उसके आधार को नीचे से सहारा लगाइए। माइक्रोस्कोप को न तो उलटा कीजिए और न ही कभी उसे हिलाइए-झुलाइए।

1.9 विच्छेदन माइक्रोस्कोप



चित्र 1.3 । विच्छेदन माइक्रोस्कोप

जीवविज्ञानियों के लिए विच्छेदन माइक्रोस्कोप (चित्र 1.3) एक उपयोगी यंत्र है जिसके द्वारा वे संपूर्ण छोटे जीवों का अध्ययन कर सकते है । और तो और किसी बड़े जीवधारी के अलग-अलग अवयवों का भी इस माइक्रोस्कोप के द्वारा विस्तार से अध्ययन किया जा सकता है । इस माइक्रोस्कोप के द्वारा छोटे जीवों के विच्छेदन में भी सहायता मिलती है एवं ऐसे ही अनेक प्रयोग भी किए जा सकते हैं । विच्छेदन माइक्रोस्कोप प्रकाश माइक्रोस्कोप से काफी भिन्न होता है । विच्छेदन माइक्रोस्कोप में आवर्धन बहुत कम होता है और वस्तु के 20 से 60 गुना से ज्यादा नहीं होता । मगर इस निम्न आवर्धन के कुछ मुख्य लाभ हैं । इसके द्वारा फ़ोकस की अधिक गहराई प्राप्त होती है और इसलिए इसके द्वारा एक समय पर छोटे स्पेसिमेनों का अध्ययन हो सकता है । संयुक्त माइक्रोस्कोप के विपरीत विच्छेदन माइक्रोस्कोप में प्रकाश वस्तु में से होकर नहीं गुजर सकता है । संयुक्त माइक्रोस्कोप में ऐसा इसलिए संभव है क्योंकि उसमें अध्ययन की जाने वाली वस्तु इतनी पतली होती है कि उसमें से प्रकाश गुजर सकता है । विच्छेदन माइक्रोस्कोप में प्रकाश को वस्तु पर ऊपर से तथा साथ-साथ पार्श्वों से भी डाला जाता है । संयुक्त माइक्रोस्कोप तथा विच्छेदन माइक्रोस्कोप में एक और अंतर यह है कि विच्छेदन माइक्रोस्कोप में प्रतिबिम्ब उलटा नहीं बनता । विच्छेदन माइक्रोस्कोप में वस्तु वैसी ही दिखायी पड़ती है जैसी वह स्टेज पर रखी होती है ।

ऊपर बताए गए कारणों के आधार पर जैसा कि आप चित्र 1.3 में देख सकते हैं विच्छेदन माइक्रोस्कोप में कन्डेंसर नहीं दिया गया होता । इसके ऑब्जेक्टिव लेंसों की आवर्धन क्षमता 2x तथा 4x होती है तथा इसका ऑक्यूलर लेंस या तो 10x का या 15x का होता है । इसमें एक ही घुंडी दी गयी होती है जिससे वस्तु को फ़ोकस में लाया जाता है ।

आप विच्छेदन माइक्रोस्कोप के नीचे मक्खी अथवा मच्छर जैसे छोटे कीट को देख सकते हैं और इस प्रकार इस माइक्रोस्कोप के उपयोग से परिचित हो सकते हैं । आप किसी कीट की स्लाइड को स्टेज पर रखकर समंजन घुंडी का इस्तेमाल करके वस्तु को फ़ोकस में ला सकते हैं ।

1.10 बोध प्रश्न

1. निम्न का देखने के लिए आप किसका उपयोग करेंगे -

   विच्छेदन माइक्रोस्कोप, संयुक्त माइक्रोस्कोप का अथवा इलेक्ट्रान माइक्रोस्कोप का

   क) केचुए के आहार नाल के सेक्शन

   ख) क्लोरोप्लास्ट ताकि उसकी झिल्ली देखी जा सके

   ग) कपास के खेत से लिया गया एक एफ़िड (aphid)

   घ) कार्टिलेज (उपास्थि) का सेक्शन

   च) जीवित *पैरामीशियम*

2. निम्न से कौन से कथन सही हैं, बताइए -

   क) माइक्रोस्कोप का आवर्धन जितना अधिक होगा उसकी विभेदन क्षमता उतना ही अधिक होगी ।

   ख) विभेदन क्षमता का अर्थ माइक्रोस्कोप के सूक्ष्मतर फ़ोकस के गुणधर्म से है ।

   ग) उच्चतर विभेदन क्षमता का अर्थ होगा कि जब दो छोटी वस्तुओं को माइक्रोस्कोप के नीचे बहुत पास-पास सटा कर रखा जाता है तो इन दोनों वस्तुओं को अलग-अलग देखा जा सकता है

   घ) उच्चतर विभेदन क्षमता के माइक्रोस्कोप में एक अकेली वस्तु के दो पृथक प्रतिबिम्ब दीखते हैं ।

प्रयोग 2 सूक्ष्ममिति

रूपरेखा

2.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

2.2 आवश्यक सामग्री

2.3 प्लास्टिक रूलर से क्षेत्र व्यास का मापना

2.4 सूक्ष्ममिति माप

2.5 कार्यविधि

2.6 सूक्ष्मदर्शीय वस्तुओं का मापन

2.7 बोध प्रश्न

2.1 प्रस्तावना

सूक्ष्ममिति (micrometry) एक तकनीक है जिसके द्वारा माइक्रोस्कोप की मदद से वस्तुओं कें साइज़ को मापा जाता हैं। आप क्या-क्या माप सकते हैं, उसके कुछ उदाहरण इस प्रकार हैं – लाल रक्त कोशिकाओं का व्यास, स्तम्भकार एपिथीलियल कोशिकाओं की ऊँचाई, एक खूब पेट भरे चूहे की जीवित कोशिकाओ के केन्द्रकों का व्यास, निकट संबंध वाले दो मालवेसी पौधों के पराग कणों का व्यास, विभिन्न पर्यावरण परिस्थितियों में संवर्धित *पैरामीशियम* की लंबाई चौड़ाई इत्यादि। इस अभ्यास में सूक्ष्ममिति का सिद्धांत समझाया जाएगा तथा यह भी बताया जाएगा कि सूक्ष्मदर्शीय वस्तुओं के साइज़ को मापने के लिए माइक्रोमीटर का उपयोग किस प्रकार किया जाता हैं।

उद्देश्य

- ऑक्यूलर माइक्रोमीटर (ocular micrometer) तथा स्टेज माइक्रोमीटर (stage micrometer) में भेद कर सकेंगे,
- ऑक्यूलर माइक्रोमीटर का स्टेज माइक्रोमीटर के संदर्भ में अंशांकन (calibration) कर सकेंगे, और
- ऑक्यूलर माइक्रोमीटर का इस्तेमाल करके वस्तुओं का साइज़ माप सकेंगे।

2.2 आवश्यक सामग्री

1. एक संयुक्त माइक्रोस्कोप
2. 15 cm का एक पारदर्शी प्लास्टिक रूलर जिसमें मिलीमीटर के निशान बने हों
3. एक ऑक्यूलर माइक्रोमीटर
4. एक स्टेज माइक्रोमीटर
5. प्रोटोज़ोआ की कुछ निर्मित स्लाइडें जैसे कि *यूग्लीना* तथा *पैरामीशियम* की
6. ऊतकों के सेक्शन जिनमें कोशिकाएं तथा उनके केंद्रक स्पष्ट दिखाई पड़ रहे हों,
7. मेंढ़क तथा मानव की रक्त आलेप निर्मितियाँ

2.3 प्लास्टिक रूलर से क्षेत्र व्यास का मापना

इस प्रयोग को प्रारंभ करने से पहले माइक्रोस्कोप का नाम तथा यदि उसकी कोई संख्या हो तो वह एवं जिन ऑक्यूलर तथा ऑब्जेक्टिव लेन्सों से आप माप रहे हों, उनकी आवर्धन क्षमता को अपनी नोट बुक में लिख लीजिए। उदाहरण के लिए,

मेक (make) : ओलिम्पस (olympus) संख्या .... (यदि कोई हो)
ऑक्युलर : 10x ऑब्जेक्टिव : 10x

यह जानकारी इसलिए जरूरी है क्योंकि आप जो भी अंशांकन अथवा मापन करते हैं, वह केवल उसी विशिष्ट माइक्रोस्कोप और उसी विशिष्ट आवर्धन के लिए सही लागू होता है। माइक्रोस्कोप को बदलने अथवा आवर्धन को बदलने पर उस माइक्रोस्कोप का पुन : अंशांकन करना जरूरी हो जाता है। इसका यह अर्थ हुआ कि किसी भी दो माइक्रोस्कोप के बीच अंशांकन मूल्यों में अंतर आएगा। आवर्धनों के बदलने पर भी यही बात लागू होगी।

माइक्रोस्कोप के द्वारा माइक्रोस्कोप का अंशांकन करने से पहले एक पतला प्लास्टिक रूलर लेकर माइक्रोस्कोप के क्षेत्र व्यास का पता लगा लीजिए कि वह लगभग कितना है। रूलर को माइक्रोस्कोप के स्टेज पर इस प्रकार रखिए कि आप वृत्ताकार क्षेत्र के एक छोर से दूसरे छोर तक की अधिकतम दूरी माप सकें। सर्वप्रथम 10x ऑब्जेक्टिव लेन्स को स्थिति में ले आइए, रूलर को फोकस में लाइए और माप को अपनी प्रेक्षण नोट बुक में रिकार्ड कर लीजिए। अब उच्च क्षमता ऑब्जेक्टिव (45x) को स्थिति में ले आइए और क्षेत्र व्यास मालूम कीजिए। अपना प्रेक्षण नोट कर लीजिए। क्या अलग–अलग आवर्धनों में लिए गए मापनों में कोई अंतर है? यदि हाँ, तो आप इस अंतर का स्पष्टीकरण किस प्रकार करेंगे ?

माइक्रोस्कोप कौन सा है

संख्या

क्रमांक	ऑक्युलर	ऑब्जेक्टिव	क्षेत्र व्यास (mm)
1.	10x	10x	....
2.	10x	45x	....

....

....

....

2.4 सूक्ष्ममिति माप

किसी वस्तु को माइक्रोस्कोप में मापने के लिए दो प्रकार के माइक्रोमीटरों की आवश्यकता होती है :

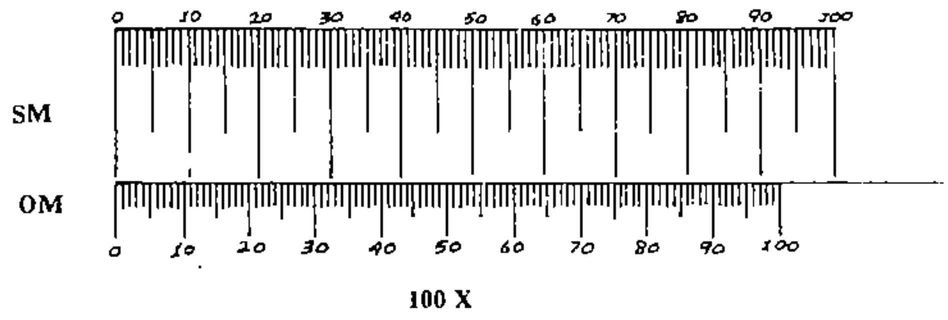
1. ऑक्युलर माइक्रोमीटर (OM) 2. स्टेज माइक्रोमीटर (SM)

ऑक्यूलर माइक्रोमीटर (Ocular micrometer): ऑक्यूलर माइक्रोमीटर कांच की एक छोटी-सी डिस्क होती हैं जिसके वीचों-वीच एक खुरची हुइ रेखा बनी होती है और इस रेखा में 100 विभाजन बने होते हैं । प्रत्येक विभाजन का मान ज्ञात नहीं होता और इसका अंशांकन स्टेज माइक्रोमीटर के सापेक्ष किया जाता है । ऑक्यूलर माइक्रोमीटर को माइक्रोस्कोप के ऑक्युलर लेन्स में सरलता सें फिट कर दिया जाता है । ऐसे ऑक्यूलर लेन्स भी उपलब्ध होते है, जिनमें ऑक्यूलर माइक्रोमीटर पहले से ही खुरचा हुआ होता है ।

स्टेज माइक्रोमीटर (Stage micrometer): स्टेज माइक्रोमीटर कांच की एक स्लाइड होती है जिसके मध्य में एक मिलीमीटर लम्बी एक रेखा खुरची होती हैं जो 100 विभाजनों में विभक्त होती है । स्टेज माइक्रोमीटर का प्रत्येक विभाजन 10 माइक्रॉन (μ) के बराबर होता हैं ।

2.5 कार्य विधि

1. माइक्रोस्कोप के नोज़ पीस को धुमाइए और 10x वाले ऑब्जेक्टिव की स्थिति में लाइए तथा उसके नीचे स्टेज माइक्रोमीटर को रखिए । ऑक्युलर माइक्रोमीटर लेन्स में लगा दीजिए ।
2. स्टेज माइक्रोमीटर की 1 mm रेखा को फ़ोकस में ले आइए ।
3. अव, जब आप माइक्रोस्कोप में देखेंगे तो आपको दोनों रेखाएँ दिखायी देनी चाहिए, एक तो स्टेज माइक्रोमीटर की और दूसरी ऑक्युलर माइक्रोमीटर की ।
4. माइक्रोस्कोप में देखते हुए ऑक्युलर लेन्स तथा स्टेज माइक्रोमीटर को इस तरह ठीक-ठीक समंजित कीजिए कि दोनों मापनियों (scale) के शून्य एक-दूसरे के ऊपर आ जाएँ अर्थात संपाती हो जाए, (coincide) जैसा कि चित्र 2.1 में दर्शाया गया है ।



चित्र 2.1 । ऑक्युलर तथा स्टेज माइक्रोमीटर मापनियाँ जिनके शून्य एक-दूसरे के ऊपर आ गए है

5. शून्य की स्थिति से आरंभ करके आप अपनी आँख को माइक्रोस्कोप के क्षेत्र में दाहिनी ओर को घुमाते चले जाइए और देखिए कि संपातन कहां होता है अर्थात् विभाजन

रेखाएँ किस जगह आकर एक–दूसरे से ऊपर–नीचे बिल्कुल मिल जाती हैं । उदाहरण के लिए, मान लीजिए कि स्टेज माइक्रोमीटर का 20वां विभाजन ऑक्युलर माइक्रोमीटर के 18 वें विभाजन का संपाती है । आप ऐसी संपाती रेखाओं को दी गई तालिका में रिकार्ड कर लीजिए । क्षेत्र के बायीं ओर से दाहिनी ओर को लिए गए ऐसे कम से कम पांच रीडिंग नोट कीजिए । अब आप स्टेज माइक्रोमीटर को हटा सकते हैं और उसे सावधानी से बक्से रख दीजिए । ऑक्युलर माइक्रोमीटर अभी मत निकालिए ।

नीचे दी गई तालिका के अनुसार परिकलन कीजिए और प्रत्येक OM विभाजन का मान निकालिए :

$$\text{OM के एक विभाजन (micron) का मान } \frac{\text{SM रीडिंग (मान)}}{\text{OM रीडिंग (मान)}} \times 10$$

जिसमें SM तथा OM रीडिंग का संबंध उन रेखाओं से है जो स्टेज माइक्रोमीटर एवं ऑक्युलर माइक्रोमीटर के बीच संपाती हैं तथा10 की संख्या का अर्थ है 1 SM विभाजन । यदि अपने पांच रीडिंग लिए हैं तो अपने पांच भिन्न OM मानों का परिकलन किया रहा होगा । अब इन पांच मानों का माध्य (mean) निकाल लीजिए । यह माध्य मान उस एक माइक्रोस्कोप के 10 x 10x के आवर्धन पर एक OM विभाजन का मान है । जैसाकि पहले कहा जा चुका है आवर्धन बदलने पर एक OM विभाजन का मान भी बदल जाता है ।

आप इसकी जांच 45x ऑब्जोक्टिव के साथ माइक्रोस्कोप का अंशांकन करके कर सकते हैं । अपने निष्कर्षों को रिकार्ड कीजिए तथा एक OM विभाजन का मान का परिकलन कीजिए ।

ऑक्युलर : 10x
ऑब्जेक्टिव : 10x

क्रमांक	OM रीडिंग	SM रीडिंग	$\frac{SM}{OM} \times 10$

ऑक्युलर : 10x
ऑब्जेक्टिव : 45x

क्रमांक	OM रीडिंग	SM रीडिंग	$\frac{SM}{OM} \times 10$

2.6 सूक्ष्मदर्शीय वस्तुओं का मापन

माइक्रोस्कोप का अंशांकन कर चुकने के बाद आप विभिन्न निर्मितियों के साइज़ माप सकते हैं। आप *पैरामीशियम* की लम्बाई–चौड़ाई तथा उसके केंद्रक का व्यास भी माप सकते हैं। आप मेंढ़क एवं मानव के रक्त आलेपों की तैयार की गई स्लाइडों को प्राप्त करके उनकी लाल रक्त कोशिकाओं का साइज़ माप सकते हैं। ये सभी मापन ऑक्युलर माइक्रोमीटर के द्वारा किए जाते हैं और OM विभाजनों की संख्या व्यक्त करते हैं। प्रत्येक मापन के लिए आपने जो OM विभाजन प्राप्त किए, उन्हें एक OM विभाजन के उस मान से गुणा करना होता है, जो आपने माइक्रोस्कोप के अंशांकन के द्वारा प्राप्त किया था।

उदाहरण के लिए, *पैरामीशियम* की लम्बाई

एक OM विभाजन का मान x OM विभाजनों की संख्या

क्रमांक	आवर्धन	मापा गया प्राचल (parameter)	OM विभाजनों की संख्या	एक OM विभाजन का मान	माप का वास्तविक मान
1.	10 x 10x	*पैरामीशियम* की लम्बाई	10	10.3 माइक्रॉन	10.3 माइक्रॉन
2.					
3.					
4.					
5.	10 x 45x	केंद्रक का व्यास	5	2.5 माइक्रॉन	12.5 माइक्रॉन

2.7 बोध प्रश्न

1. स्टेज माइक्रोमीटर तथा ऑक्युलर माइक्रोमीटर का वर्णन कीजिए।

2. 10 x 10x का आवर्धन इस्तेमाल करके एक माइक्रोस्कोप का अंशांकन इस प्रकार पता चला कि ऑक्युलर विभाजन 9.8 माइक्रॉन के बराबर है।

प्याज़ के जड़ों के मूलाग्र की कोशिकाओं की लम्बाई के मापन से पता चला कि ये औसतन आठ ऑक्युलर विभाजनों की लम्बी हैं। बताइए प्याज की जड़ के मूलाग्र कोशिकाओं की वास्तविक लम्बाई क्या है ?

प्रयोग 3 कोशिकाओं का अध्ययन

रूपरेखा

3.1 प्रस्तावना
    उद्देश्य
3.2 आवश्यक सामग्री
3.3 जैव अभिरंजन
3.4 अस्थायी माऊन्ट बनाने की विधि
3.5 मानव मुख्य-गुहा की एपिथीलियल कोशिकाएँ
3.6 पादप कोशिकाएँ
3.7 प्रेक्षण
3.8 सावधानियाँ
3.9 बोध प्रश्न

3.1 प्रस्तावना

इससे पहले के प्रयोगशाला अभ्यासों में आपने सीखा कि संयुक्त माइक्रोस्कोप के क्या-क्या भाग हैं तथा उसमें वस्तुओं का किस प्रकार प्रेक्षण किया जाता है। आपने सूक्ष्म मापन के विषय में तथा सूक्ष्मदर्शीय वस्तुओं के साइज़ को कैसे मापा जाता है, इस विषय में भी जाना।

अब इस प्रयोग में आपको उस तकनीक से परिचित कराया जाएगा जिसके द्वारा आप जानेंगे कि जन्तु कोशिकाओं तथा पादप कोशिकाओं के अस्थायी माऊन्ट कैसे बनाए जाते हैं और इनका माइक्रोस्कोप के नीचे किस प्रकार अध्ययन किया जाता है।

कोशिका जीवन की मूलभूत इकाई है और तमाम जीवधारी एक या एक से अधिक कोशिकाओं के बने होते हैं। इस अभ्यास के द्वारा आप पादप एवं जन्तु कोशिकाओं की सामान्य संरचना से परिचित हो सकेंगे तथा इन दोनों प्रकार की कोशिकाओं के बीच पायी जाने वाली मूलभूत समानताओं एवं उनके बीच के अंतरों को भी आप जान जाएगें। पादप एवं जन्तु कोशिकाओं की विस्तृत संरचना के लिए आप LSE-01 (कोशिका जैविकी) पाठयक्रम के इकाई 1 भी देख सकते हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास के करने के बाद आप :

- जन्तु तथा पादप कोशिकाओं के अस्थायी माऊन्ट बना सकेंगें,
- जन्तु तथा पादप कोशिकाओं की संरचना का वर्णन कर सकेंगें, तथा
- जन्तु एवं पादप कोशिकाओं के बीच के अंतरों की सूची बना सकेंगें।

3.2 आवश्यक सामग्री

1. स्लाइडें तथा कवरस्लिपे
2. विच्छेदन सुइयां (dissecting needles)
3. पारचर पिपेट अथवा ड्रापर

.. अभिरंजक (stain) मेथिलीन ब्लू

. ग्लीसरीन

: फिल्टर पेपर

. माइक्रोस्कोप

. टूथपिक (दांतनियां)

. प्याज़

0. स्कैलपेल अथवा ब्लेड

1. ब्रुश (नं. 6)

ग़स्थायी स्लाइडें बनाने की प्रक्रिया को सीखने से पहले आइए जैव अभिरंजन
/ital staining) के विषय में संक्षेप में चर्चा कर लें।

।.3 जैव अभिरंजन

नब हम जीवित अरंजित कोशिकाओं को माइक्रेस्कोप में देखते हैं तब कुछ कोशिकाद्रव्यी संरचनाएँ तो दिखाई दे जाती हैं क्योंकि उनके घनत्वों में अंतर पाया जाता है। अभिरंजक स्टेन) ऐसे रंग होते हैं जो कोशिकाओं तथा ऊतकों के विविध घटकों के बीच के अंतरों को और भी तीव्र कर देते हैं। ऐसा इसलिए हो पाता है कि विभिन्न कोशिकीय घटकों में ासी एक रंग से या तो कम–ज्यादा गहरा रंग चढ़ता है या फिर उनमें अलग–अलग रंग आ जाते हैं। इस प्रकार के अध्ययन प्रेक्षण को जैव प्रेक्षण (vital examination) कहा जा सकता है।

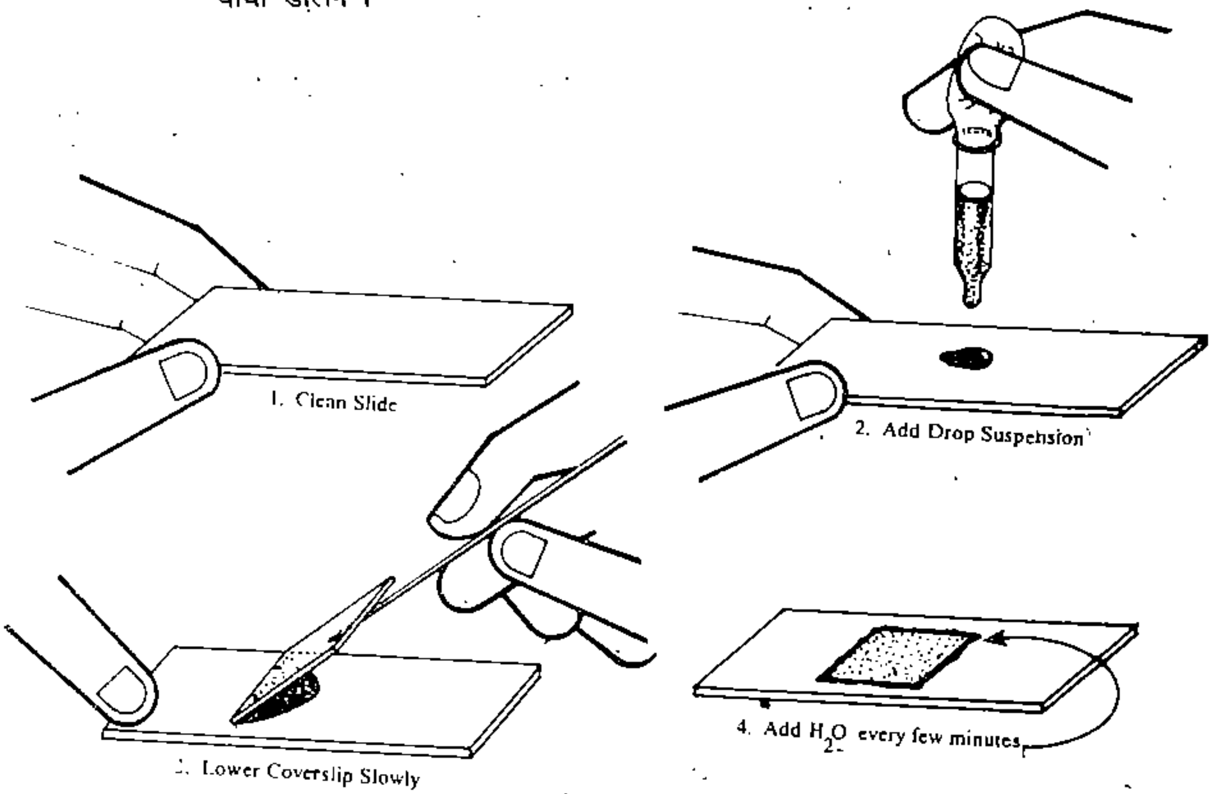
जैव अभिरंजन वह विधि है जिसके द्वारा कुछ प्रमुख अभिरंजकों का इस्तेमाल करके जीवित ऊतकों तथा कोशिकाओं की संरचना को विस्तृत रूप से दर्शाया जा सकता है। दूसरे शब्दों में जैव अभिरंजन का उपयोग कोशिकाओं तथा कोशिका अंगकों उपयुक्त अभिरंजन का इस्तेमाल करके दर्शाया जाता है। इस प्रकार के प्रक्रम से कोशिका एवं ऊतक की उस पारगम्यता परिघटना की भी जांच–खोज में सहायता मिली है जिसका संबंध पदार्थों के अवशोषण, परिवहन, संयच तथा उत्सर्जन से है।

जैव अभिरंजन या तो अम्लीय प्रकार के होते हैं या क्षारीय प्रकार के। क्षारीय अभिरंजन जैसे कि मेथिलीन ब्लू (methylene blue) से कोशिकाओं के केंद्रक रंग जाते हैं। ट्रिपैन ब्लू (trypan blue) एवं कॉन्गो रेड (congo red) जैसे अम्लीय अभिरंजन उत्सर्जन के अध्ययन एवं लसीका वाहिनियों (lymphatic system) के देखने में उपयोगी होते हैं। एलिज़रीन (alizarin) एक अम्लीय जैव अभिरंजन है जिसे हड्डियों के अभिरंजन के लिए हमेशा इस्तोमल किया जाता है।

3.4 अस्थायी माऊन्ट बनाने की विधि

किसी वस्तु को माइक्रोस्कोप में देखने के लिए उस वस्तु का संसाधन किया जाना आवश्यक है। अनेक मामलों में आपको वस्तु को एक सतरल माऊन्ट (wet mount) में देखना होता है। सतरल माऊन्ट अथवा अस्थायी माऊन्ट बनाने के लिए दो तरीके अपनाए जा सक्ते हैं। या तो सीधे उस तरल की ही एक बूंद स्लाइड पर रख ली जाती है जिसमें अध्ययन की जाने वाली सामग्री मौजूद है या फिर अगर वह सामग्री सूखी हो तो तब उसे सीधे स्लाइड पर रखकर उसके ऊपर पानी या अभिरंजक या ग्लीसरीन की एक बूंद छोड़ दी

जाती है । तदनन्तर माऊन्ट पर कवरस्लिप लगा दी जाती है जैसा कि चित्र 3.1 में दिखाया गया है । जैसा कि चित्र में दर्शाया गया है कवरस्लिप को रखते समय उसके नीचे एक विच्छेन सुई का सहारा दे दीजिए और फिर कवरस्लिप को धीरे-धीरे तरल की बूंद पर नीचे आने दीजिए । यदि आप कवरस्लिप को स्लाइड पर एकदम से गिरा देंगे तो उसके नीचे वस्तु के साथ-साथ वायु के बुलबुले आ जाएँगे जो वस्तु को देखने की प्रक्रिया में बाधा डालेंगे ।



चित्र 3.1 : सतरल माऊन्ट बनाना

निम्न भागों में हम जन्तुओं तथा पौधों की कोशिकाओं के अस्थायी माऊन्ट बनाने के विविध चरणों की चर्चा करेंगे और माइक्रोस्कोप में इनका अध्ययन करेंगे ।

3.5 मानव मुख गुहा की एपिथीलियल कोशिकाएँ

आइए मुख गुहा (गाल-cheek) की शल्कीय एपिथीलियल (squamous epithelial cells) कोशिकाओं के अस्थायी माऊन्ट बनाने की विधि सीखें ।

कार्यविधि

1. मुंह में पानी लेकर अच्छी तरह कुल्ला कर लीजिए ।
2. एक स्वच्छ टूथपिक लेकर उसके चौड़े सिरे से अपने गाल की भीतरी सतह को हल्के से खुरचिए । इस सामग्री को छोड़ दीजिए ।
3. दुबारा खुरचिए और इन कोशिकाओं को धीरे से एक साफ स्लाइड के ऊपर फैला दीजिए । एक ड्रापर अथवा पाश्चर पिपेट की सहायता से इसके ऊपर 0.9% NaCl अर्थात कार्यिकीय सेलाइन (physiological saline) की एक बूंद डालिए और फिर एक बूंद मेथिलीन ब्लू की डालिए ।
4. दो मिनट के बाद एक फिल्टर पेपर के किनारे से फालतू अभिरंजक एवं सेलाइन को सोख कर हटा दीजिए, और उसके बाद कोशिकाओं के ऊपर एक बूंद ग्लीसरीन की डालिए ।

5. अब कवरस्लिप लगा दीजिए। पेन्सिल के पिछले सिरे से कवरस्लिप को हल्के से दबाइये ताकि कोशिकाएं फैल जाएं।
6. अंततः स्लाइड को माइक्रोस्कोप के नीचे देखिए।

आप बिना ग्लीसरीन का इस्तेमाल किए हुए भी मानव एपिथीलियल कोशिकाओं का सतरल माऊन्ट बना सकते हैं। ऐसा करना हो तो कोशिकाओं को एक साफ सूखी स्लाइड पर फैलाइए। उस पर एक बूंद 0.9% NaCl घोल डालिए और कवरस्लिप माऊन्ट कर दीजिए। कोशिकाओं को सिंचन विधि से स्टेन (अभिरंजित) कीजिए, अर्थात कवरस्लिप की परिधि पर अभिरंजक की एक बूंद डाल दीजिए। फालतू सेलाइन अथवा अभिरंजक को फिल्टर पेपर के किनारे से सोख कर हटा दीजिए। आप स्पेसिमन को सीधे कवरस्लिप ढकने से पहले भी स्लाइड के ऊपर ही अभिरंजित कर सकते हैं।

3.6 पादप कोशिकाएँ

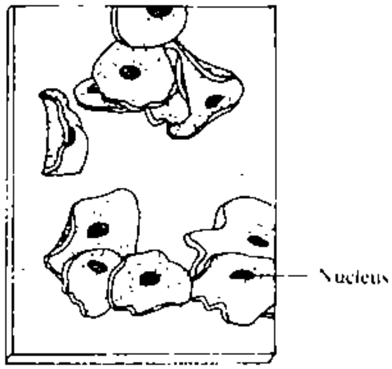
पादप कोशिकाओं का अस्थायी माऊन्ट बनाने के लिए आप प्याज़ से प्राप्त एपिडर्मिसी कोशिकाओं (epidermal cells) से निम्न कार्य विधि द्वारा माऊन्ट बना सकते हैं।

1. एक प्याज़ लेकर उसे चार हिस्सों में काटिए और कंद (bulb) बनाने वाली मोटी रूपांतरिक पत्तियों (thick modified leaves) को अलग-अलग कर लीजिए। आप ध्यान से देखिए कि प्रत्येक पत्ती की भीतरी अथवा बाहरी दोनों सतहों पर एक कोमल झिल्ली ढकी होती है। ऐसी पत्ती की भीतरी अथवा अवतल सतह की झिल्ली को आसानी से चीर कर छुड़ाया जा सकता है।
2. स्कैलपेल अथवा ब्लेड की सहायता से प्याज़ की पत्ती के भीतर से एक पतली परत को उखाड़ लीजिए।
3. इसे धीमे से स्लाइड पर चपटा रख दीजिए। इसमें से एक उपयुक्त चौकोर भाग काट लीजिए और शेष को हटा दीजिए।
4. जल्दी से एक बूंद पानी की डाल दीजिए और साथ ही पाश्चर पिपेट की सहायता से एक बूंद अभिरंजक की भी डाल दीजिए।
5. फिल्टर पेपर के किनारे की सहायता से फालतू अभिरंजक हटा दीजिए तथा एक बूंद ग्लीसरीन की डालिए।
6. एक कवरस्लिप लगाइए और पेंसिल के पिछले सिरे से उसे इस तरह हल्के से दबाइए ताकि प्याज़ की छीलन फैल जाए और अगर कोइ वायु का बुलबुला आ गया तो वह भी निकल जाए।
7. माइक्रोस्कोप के नीचे स्लाइड का परीक्षण कीजिए।

ऊपर बतायी गयी स्लाइडों के बनाने में आप मेथिलीन ग्रीन (methylene green) अथवा आयोडीन (iodine) का भी उपयोग कर सकते हैं।

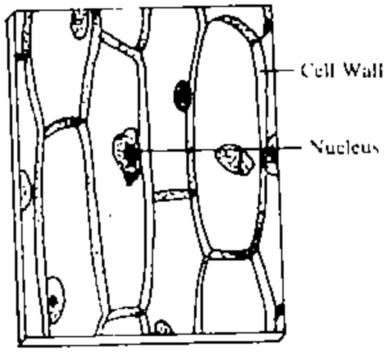
3.7 प्रेक्षण

गाल की एपिथीलियल कोशिकाओं के सतरल माऊन्ट में आप अनियमित आकृति की कोशिकाएं देखेंगे जिनमें एक पतली कोशिका झिल्ली होती है। एक गहरा नीला अभिरंजित केंद्रक एक केंद्रीय गोल पिंड के रूप में प्रत्येक कोशिका में दिखायी पड़ता है (चित्र 3.2 देखिए)।



चित्र 3.2 गाल के भीतर से ली गयी एपिथीलियल कोशिकाएँ

प्याज़ की एपिडर्मिस कोशिकाओं के सतरल माऊन्ट में आपको आयताकार कोशिकाएं दिखायी देंगी जो एक दूसरे के पाश्वर्त पड़ी होती हैं तथा जिनमें स्पष्ट कोशिका भित्तियाँ होती हैं। कोशिका के कोशिका द्रव्य (साइटोप्लैज़्म) में धानियाँ (vacuoles) होती हैं। ये धानियाँ इतनी बड़ी बड़ी होती हैं कि वे लगभग संपूर्ण कोशिका की भीतरी जगह को घेर लेती हैं। आप प्रत्येक कोशिका में केंद्रक को कोशिका भित्ति के समीप देख सकते है (चित्र 3.3 देखिए)।



चित्र 3.3 : प्याज़ की एपिडर्मिसी कोशिकाएं

इन सतरल माऊन्टों को उच्च आवर्धन पर देखने का प्रयत्न कीजिए और अपने प्रेक्षणों को रिकार्ड कीजिए।

3.8 सावधानियाँ

अस्थायी निर्मित्तियां बनाते समय आपको निम्नलिखित सावधानियां बरतनी चाहिए –

1. इस्तेमाल की जाने वाली स्लाइडें और कवरस्लिपें साफ होनी चाहिए, उन पर न तो धूल हो और न ही उंगलियों के निशान हों।
2. सामग्री तथा तरल को स्लाइड के बीचोंबीच रखना चाहिए।
3. तरल की मात्रा सही होनी चाहिए। तरल बहुत ज्यादा होने पर कवरस्लिप घूमने लगेगी और तरल बहुत कम हुआ तो भीतर वायु के बुलबुले आ जाएंगे।
4. फालतू (यानी अधिशेष) माऊन्ट तरल को सावधानीपूर्वक कवरस्लिप के एक सिरे से फिल्टर पेपर के किनारे से सोख लेना चाहिए। फिल्टर पेपर को पानी से गीला करके फालतू ग्लीसरीन हटायी जा सकती है।
5. कवरस्लिप को स्लाइड पर धीरे से रखिये ताकि बुदबुदे न आएं।

6. सिंचन तकनीक में अभिरंजनी घोल की ज्यादा सी मात्रा लीजिए ताकि समान अभिरंजन सुनिश्चित हो सके।
7. नमूने को सूखने मत दीजिए। उसे गीला बनाए रखने के लिए एक बूंद पानी का इस्तेमाल कीजिए।

3.9 बोध प्रश्न

1. अस्थायी माऊन्ट के बनाने में अभिरंजकों के उपयोग का क्या लाभ हैं ?

....

....

....

....

2. सूक्ष्ममिति पर किए गए अपने प्रयोग को देखिए और जन्तु एवं पादप दोनों प्रकार की कोशिकाओं का तथा उनके केंद्रक का साइज़ मापिए। अपने प्रेक्षणों से मिलने वाले परिणामों को अपनी नोटबुक में निम्न रूप में रिकार्ड कीजिए।

	मापन	
कोशिका	**कोशिका साइज़**	**केंद्रक साइज़**
जन्तु कोशिका		
पादप कोशिका		

प्रयोग 4 जन्तु ऊतकों का अध्ययन

रूपरेखा

4.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
4.2 आवश्यक सामग्री
4.3 जन्तु ऊतक
4.4 एपिथीलियम ऊतक
शल्की एपिथीलियम कोशिकाएँ
घनाकार एपिथीलियम कोशिकाएँ
स्तम्भाकार एपिथीलियम कोशिकाएँ
पक्ष्माभी एपिथीलियम कोशिकाएँ
ग्रंथीय एपिथीलियम कोशिकाएँ
4.5 संयोजी ऊतक
कंकालीय संयोजी ऊतक
बंधनी संयोजी ऊतक
4.6 पेशीय ऊतक
रेखित पेशी
चिकनी पेशी
हृद पेशी
4.7 तंत्रिका ऊतक
4.8 संवहनी ऊतक

4.1 प्रस्तावना

पिछले प्रयोगशाला अभ्यास में आपने कोशिकाओं के विषय में तथा कोशिकाओं को सूक्ष्मदर्शीय प्रेक्षणों के लिए तैयार करने की विधियों के विषय में पढ़ा । इस अभ्यास में आप विभिन्न कोशिका-समूहों के विषय में पढ़ेंगे जिनसे विभिन्न ऊतक बनते हैं । परिभाषा के रूप में हम कह सकते है कि ऊतक समान संरचना वाली कोशिकाओं का समूह होता है जो कोई एक अथवा एक से अधिक विशिष्ट कार्य करते हैं । ऊतकों की संरचना तथा उनके कार्यों के अध्ययन को ऊतक-विज्ञान (हिस्टोलोजी histology) कहते हैं । आप पहले से ही जानते हैं कि अंग सजीव शरीर की संचरनात्मक एवं कार्यत्मक इकाई है, और यह अंग विभिन्न ऊतकों का बना होता है । पौधों तथा जन्तुओं के विभिन्न अंग अनिवार्यतः विभिन्न प्रकार के ऊतकों के बने होते हैं । इस प्रयोगशाला अभ्यास में हम विभिन्न प्रकार के जन्तु ऊतकों की संरचना का अध्ययन बनी-बनाई स्लाइडों से करेंगे और उनके कार्य के विषय में जानेंगें । पादप ऊतकों का अध्ययन अगले अभ्यास में किया जाएगा ।

उद्देश्य

इस अभ्यास को करने के बाद आप :

- विभिन्न प्रकार के जन्तु ऊतकों का वर्गीकरण कर सकेंगे,
- इनमें से प्रत्येक ऊतक का वर्णन कर सकेंगे,
- माइक्रोस्कोप के नीचे ऊतकों की पहचान कर सकेंगे, तथा
- प्रत्येक ऊतक के कार्यों का वर्णन कर सकेंगे ।

4.2 आवश्यक सामग्री

1. संयुक्त माइक्रोस्कोप
2. विच्छेदन माइक्रोस्कोप
3. विविध जन्तु ऊतकों की निर्मित स्लाइडें

4.3 जन्तु ऊतक

जन्तु ऊतक या तो वहुत ज्यादा सरल हो सकते हैं जैसे कि विविध एपिथीलियम ऊतक या जटिल हो सकते जैसे कि रक्त अथवा हड्डी ऊतक । हर ऊतक में एक मैट्रिक्स (आधात्री) होता है जिसमें कोशिकाएं पड़ी होती हैं । ऊतक की कोशिकाओं में या तो एक–एक केन्द्रक हो सकता है या फिर वे सिन्सिशियमी (syncytial) हो सकती हैं जैसे कि कंकालीय पेशी में । कुल मिलकर पांच मुख्य प्रकार के जन्तु ऊतक पाए जाते हैं :

1. एपिथीलियल (उपकला) ऊतक
2. संयोजी ऊतक
3. पेशी ऊतक
4. तंत्रिका ऊतक
5. संवहनी ऊतक

अगले भागों में हम इनमें से प्रत्येक ऊतक का विस्तार से वर्णन करेंगे **इन ऊतकों की स्थायी निर्मितियों को माइक्रोस्कोप में देखिए और अपनी प्रेक्षण नोटबुक में उनके स्वच्छ एवं नामांकित चित्र बनाइए ।**

4.4 एपिथीलियल ऊतक

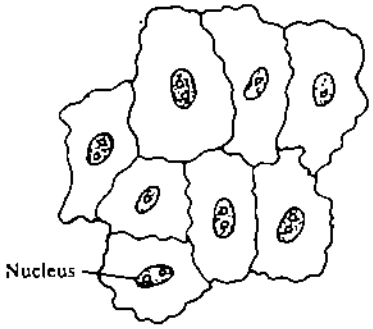
एपिथीलियल अर्थात् उपकला ऊतक प्रायः एक अकेली परत वाली अथवा बहुपरती आस्तरों (multilayered sheets) के रूप में व्यवस्थित होते है । वे जीवधारी के शरीर की भीतरी तथा बाहरी सतहों को ढके रहते हैं । एपिथीलियल कोशिकाओं के निचले सिरे पर एक आधारीय झिल्ली (basement membrane) से चिपके होते हैं । एपिथीलियल ऊतकों का मुख्य कार्य अन्य ऊतकों को ढके रखना तथा उन्हें रगड़, दवाव अथवा संक्रमण से होने वाली क्षतियों से वचाए रखना है । एपिथीलियल कोशिकाओं की मुक्त सतहें वहुत रूपांतरित होती हैं ताकि वे अवशोषण, स्रवण तथा उत्सर्जन जैसे विशिष्ट कार्यों को सम्पन्न कर सकें । आकृति तथा कार्यों पर आधारित होकर एपिथीलियल कोशिकाओं को पांच वर्गों में वांटा जाता है :

i) शल्की एपिथीलियल कोशिकाएँ
ii) घनाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ
iii) स्तम्भाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ
iv) पक्ष्माभी एपिथीलियल कोशिकाएँ
v) ग्रंथीय एपिथीलियल कोशिकाएँ

4.4.1 शल्की एपिथीलियल कोशिकाएँ

शल्की एपिथीलियल कोशिकाएँ (चित्र 4.1) पतली तथा चपटी कोशिकाएँ होती हैं जिनमें एक गोल केंद्रक को घेरता हुआ थोड़ी मात्रा में कोशिका द्रव्य होता है । कोशिकाएँ

न्यूनाधिक रूप में अनियमित शक्ल की होती है और जब उन्हें सतह की ओर से देखा जाता है तो वे एक मोज़ेक (mosaic) रूप में दिखायी पड़ती हैं ।

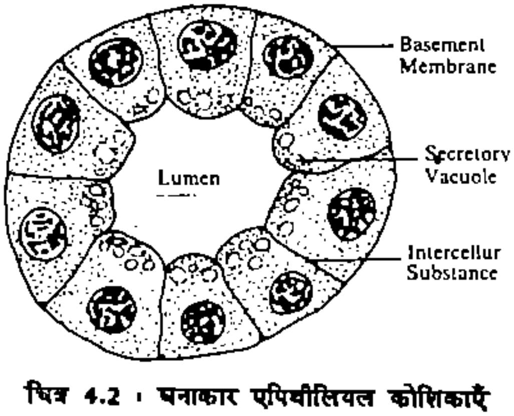


चित्र 4.1 : शल्की एपिथीलियल कोशिकाएँ

कुछ ऐसे अंग जिनमें ये कोशिकाएं पायी जाती हैं – नेफ्रानों के अस्तर, फेफड़ों के वायु कोशों के अस्तर तथा रक्त कोशिकीओं की दीवारें हैं । ये कोशिकाएँ रक्त वाहिकाओं तथा हृदय के कक्षों जैसी खोखली संरचनाओं में चिकने अस्तर बनाती हैं । अपने पतलेपन के कारण एपिथीलियल कोशिकाओं में से पदार्थों का विसरण हो सकता है । रक्त वाहिकाओं तथा हृदय में ये कोशिकाएं रक्त का घर्षणमुक्त प्रवाह संभव बनाती हैं ।

4.4.2 घनाकार एपिथीलियल कोशिकाएं

घन के आकार की कोशिकाओं (चित्र 4.2) के भीतर एक गोलाकार केंद्रक होता है । जब इन कोशिकाओं को सतह की ओर से देखा जाता है, तब इनकी आकृति षट्कोणीय दिखायी पड़ती है । ये कोशिकाएँ अधिकांशतः विभिन्न ग्रंथियों की वाहिनियों का अस्तर बनाती हुई पायी जाती हैं जैसे कि लार ग्रंथियों तथा अग्न्याशय की वाहिनियों के अस्तर पर । ये कोशिकाएँ वृक्का नालिकाओं (kidney tubule) की संग्राहक वाहिनियों में भी पायी जाती हैं । जहां भी ये घनाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ पायी जाती हैं, वहां अधिकांशतः ये स्रावी होती हैं । वृक्क नलिकाओं की संग्राहक वाहिनियों जैसी जगहों पर ये कोशिकाएँ अस्रावी प्रकार की होती हैं ।

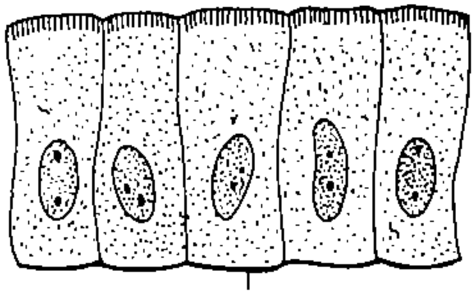


चित्र 4.2 : घनाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ

4.4.3 स्तम्भाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ

ये लम्बी संकरी कोशिकाएं होती हैं तथा इनमें कोशिका द्रव्य अधिक होता है (चित्र 4.3) । केंद्रक प्रायः कोशिका के आधार पर होता है । कोशिकाओं की सतह रेखित होती है, जिस पर प्रायः सूक्ष्मांकुर (माइक्रोविलाई– microvilli) बने होते हैं जो केवल इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोप से ही दिखायी पड़ते हैं । इन संरचनाओं के बने होने के कारण कोशिकाओं की अवशोषी

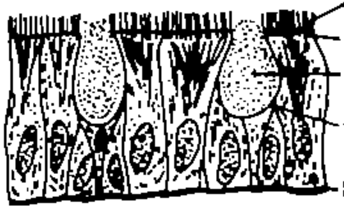
सतह बढ़ जाती है। स्तम्भाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ कई अंगों के अस्तर बनाती हैं जैसे कि आमाशय, आंत्र, वृक्कों की वाहिनियाँ, थाइरॉइड, तथा पित्ताश्य के अस्तर। ये कोशिकाएँ स्रवण एवं अवशेषण दोनों ही कार्य करती हैं।



चित्र 4.3 : स्तम्भाकार एपिथीलियल कोशिकाएँ

4.4.4 पक्ष्माभी एपिथीलियल कोशिकाएँ

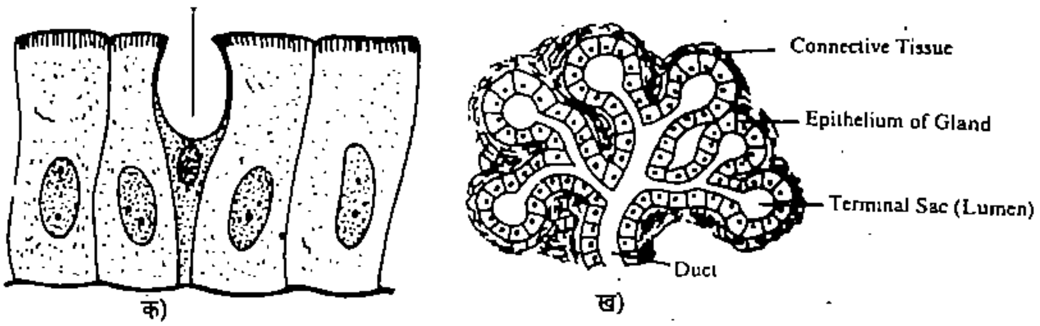
ये पक्ष्माभी अर्थात् सिलिया युक्त कोशिकाएं न्युनाधिक रूप में स्तम्भाकार एपिथीलियल कोशिकाओं जैसी होती हैं किन्तु इनमें इनकी मुक्त सतह पर बहुसंख्यक पक्ष्माभ अर्थात् सीलिया (cilia) होते है (चित्र 4.4)। ये कोशिकाएं अंडवाहिनियों, मस्तिष्क के निलयों, श्वसन-मार्गों तथा मेरू-रज्जु के अस्तरों पर पायी जाती हैं। पक्ष्माभ प्रायः ऐसी धाराएँ पैदा करते हैं, जो पदार्थों के एक स्थान से दूसरे स्थान की ओर चलाने में सहायता करती हैं।



चित्र 4.4 : पक्ष्माभी एपिथीलियल कोशिकाएँ

4.4.5 ग्रंथीय एपिथीलियल कोशिकाएँ

ग्रंथीय कोशिकाएं ऐसी एपिथीलियल कोशिकाएँ होती है, जिनका कार्य केवल स्रवण ही होता है। ये दो प्रकार की होती हैं, या तो अकेली एककोशिकीय ग्रंथीय कोशिकाएँ जिन्हें कलशिका कोशिकाएँ (goblet cells) कहते है या ये ग्रंथीय कोशिकाओं के समुच्चयों के रूप में बहुकोशिकीय ग्रंथियां (multicellular glands) बनाती है (चित्र 4.5 क, ख)। बहिःस्रावी तथा अंतःस्रावी दोनों प्रकार की ग्रंथियां इन्ही कोशिकाओं की बनी होती है। जब ग्रंथीय कोशिकाएँ एक श्यान (viscous) स्राव बनाती हैं, तब इन्हें श्लेष्म कोशिकाएँ (mucous cells) अथवा म्युकोसाइट (mucocyte) कहते हैं। यदि स्राव एक स्वच्छ जलीय तरल होता है, तब इन्हें सेरोसाइट (serocyte) कहते हैं।



चित्र 4.5 : क) कलाशिका कोशिका, ख) बहुकोशिकीय ग्रंथीय कोशिकाएँ

4.5 संयोजी ऊतक

संयोजी ऊतक शरीर का मुख्य आलम्बी ऊतक होता है । यह एक तरल या अर्धतरल मेट्रिक्स आधात्री का बना होता है, जिसमें विविध प्रकार की कोशिकाएँ तथा तंतु विद्यमान होते हैं । दो प्रधान प्रकार के संयोजी ऊतक इस प्रकार हैं :

- कंकाली संयोजी ऊतक
- बंधनी संयोजी ऊतक

4.5.1 कंकाली संयोजी ऊतक

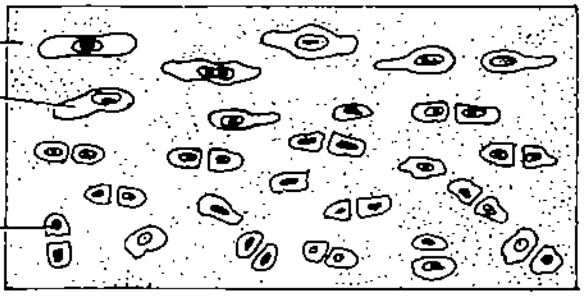
कंकाली ऊतक दो प्रकार का होता है : (क) उपास्थि (कार्टिलेज) तथा अस्थि (हड्डी) ।

(क) **उपास्थि** अथवा **कार्टिलेज** (cartilage) एक आलम्वी (supporting) संयोजी ऊतक होता है, जिसकी कोशिकाएं कॉण्ड्रिन (chondrin) नामक एक लचीले मैट्रिक्स में गड़ी होती हैं । मैट्रिक्स का स्रावण कॉण्ड्रोब्लास्ट (chondroblast) अथवा कॉण्ड्रोसाइट (chordrocyte) नामक कोशिकाओं से होता है । कॉण्ड्रोसाइट जिन गुहाओं में घिरी रहती है, उन्हें रिक्तिकाएं (lacunae) कहते हैं । मैट्रिक्स के भीतर कोलेजेन के बने अनेक तंतु होते हैं । उपास्थि के सीमांत पर केशिकाओं तथा तंतुकों की एक सघन परत बनी होती है जिसे पेरिकॉण्ड्रियम (perichondrium) कहते हैं । पेरिकॉण्ड्रियम ही वह स्थान है जहां से कॉण्ड्रोब्लास्टों का निर्माण होता है । नए-नए बनते जाने वाले कॉण्ड्रोब्लास्ट लगातार कार्टिलेज के मैट्रिक्स में जुड़ते जाते है ।

कार्टिलेज एक लचीला ऊतक होता है जो अपने ऊपर पड़ने वाले हर दबाव का प्रतिरोध कर सकता है । मैट्रिक्स की संपीडनशील एवं लचीली प्रवृति के कारण यह हड्डियों की संधि-सतहों पर पड़ने वाले हर यांत्रिक झटके को सह सकता है । कार्टिलेज तीन प्रकार के होते हैं —

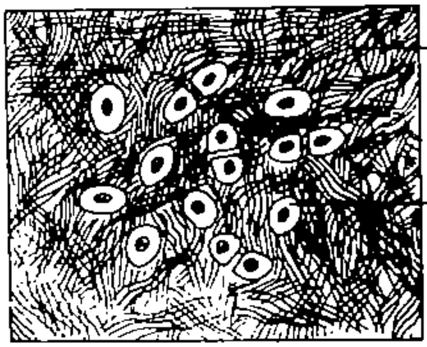
i) काचाभ कार्टिलेज
ii) पीला लचीला कार्टिलेज
iii) सफेद तंतुकी कार्टिलेज

i) **काचाभ कार्टिलेज** (hyaline cartilage) हड्डियों के अंतिम सिरों पर, नाक में तथा श्वसन-तंत्र के वायु मार्गों में और साथ ही कान के कुछ भागों में मात्र यही पदार्थ आलम्वी ऊतक के रूप में होता है । काचाभ कार्टिलेज का मैट्रिक्स कॉण्ड्राइटिन सल्फ़ेट तथा कोलैजेन तंतुओं का बना होता है । जैसा कि चित्र 4.6 में दिखाया गया है, रिक्तिकाओं के भीतर एक या दो, चार अथवा आठ कॉण्ड्रोसाइट पाए जाते हैं । परिधि पर बने कॉण्ड्रोसाइट चपटे होते हैं जबकि बीच की ओर स्थित कॉण्ड्रोसाइट कोणीय होते है ।



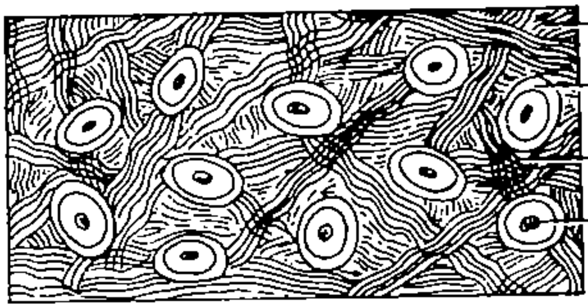
चित्र 4.6 : काचाभ कार्टिलेज

ii) **पीला लचीला कार्टिलेज** (yellow elastic cartilage) (चित्र 4.7) बाह्य कान, यूस्टेकी नलिका (eustachian canal) एपिग्लॉटिस तथा ग्रसनी में पाया जाता है । इस प्रकार का कार्टिलेज अधिक लचीला होता है । मोड़–तरोड़ कर इसकी आकृति को बदल देने के बाद छोड़ने पर इसी लचीलेपन के कारण इसकी मूल आकृति फिर से प्राप्त हो जाती है ।



चित्र 4.7 : पीला लचीला कार्टिलेज

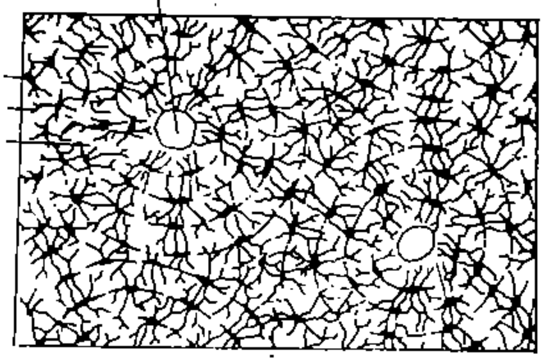
iii) **सफ़ेद तंतुकी कार्टिलेज** (white fibrous cartilage) (चित्र 4.8) अंतराकशेरूकी डिस्कों तथा संधियों के स्नायुओं में पाया जाता है । इस ऊतक में एक मैट्रिक्स होता है, जिसके भीतर सफ़ेद कोलैजेन तंतुओं के अनेक बड़े–बड़े बंडल होते हैं । सफेद तंतुकी कार्टिलेज में विशाल तनन (tensile) शक्ति होती है तथा लचीलापन कम मात्रा में होता है ।



चित्र 4.8 : सफ़ेद तंतुकी कार्टिलेज

(ख) हड्डी (अस्थि) एक ऐसा आलम्बी ऊतक है जिसमें उपापचयी एवं संरक्षी दोनों ही प्रकार के कार्य होते हैं । हड्डी एक केल्सीकृत संयोजी ऊतक है, जिसमें कोशिकाएँ एक दृढ़ मैट्रिक्स में गड़ी होती हैं । हड्डी के मैट्रिक्स का 70% भाग अकार्बनिक लवणों का तथा 30% भाग कोलैजेन तंतुओं का बना होता है । हड्डी का प्रमुख अकार्बनिक घटक हाइड्रॉक्सीऐपेटाइट (hydroxyapatite) कहलाता है जो केल्सियम फ़ॉस्फ़ेट तथा केल्सियम हाइड्रॉक्साइड का बना होता है । अन्य अकार्बनिक रचक इस प्रकार होते हैं—सोडियम,

मैग्नीशियम, कैल्सियम, क्लोराइड, फ्लोराइड, बाइकार्बोनेट तथा साइट्रेट के आयन। हड्डी की कोशिकाओं को ऑस्टियोब्लास्ट कहते हैं। ये कोशिकाएं रिक्तिकाओं में पायी जाती हैं जो समस्त मैट्रिक्स में वितरित होती है। हड्डी–कोशिकाओं से हड्डी के अकार्बनिक घटकों का स्रावण होता है। अनुप्रस्थ काट में देखने पर जैसाकि चित्र 4.9 में दिखाया गया है हड्डी के भीतर बहुसंख्यक संकेंद्रिक वलय बने होते हैं जिन्हें पटलिकाएँ (lamellae) कहते हैं और जो एक केंद्रतः स्थित हेवर्जियन नलिका (Haversian canal) को घेरे रहती हैं। ऑस्टियोब्लास्ट इन पटलिकाओं के बीच–बीच में जहां–तहां स्थित पाए जाते हैं। प्रत्येक रिक्तिका (lacuna) से सूक्ष्म नलिकाएं अरीय रूप में निकली होती हैं जिनके भीतर साइटोप्लैज़्म भरा होता है और जो हेवर्जियन नलिका के साथ जुड़ी होती हैं। इन नलिकाओं को केनालिकुली (canaliculi) कहते हैं। हेवर्जियन नलिका के भीतर एक धमनी और एक शिरा चलती हैं। ये रक्त वाहिनियाँ पोषकों, चयापचयी अपशिष्टों तथा श्वसन गैसों को ऑस्टियोब्लास्टों की ओर एवं उनसे दूर लाती–ले जाती है। हड्डी को बाहर से ढकती हुई सघन संयोजी ऊतक की एक परत होती है जिसे पेरिऑस्टियम (periosteum) कहते हैं।



चित्र 4.9 : हड्डी ऊतक की अनुप्रस्थ काट

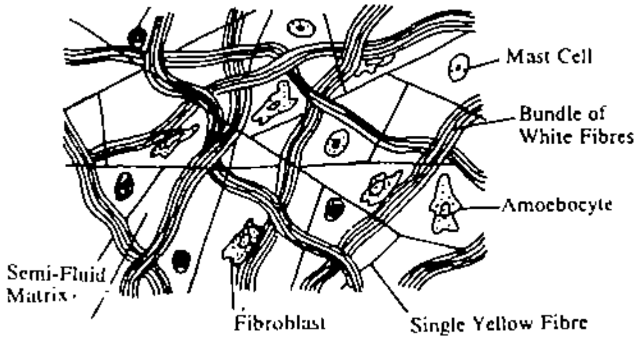
4.5.2 बंधनी संयोजी ऊतक

बंधनी संयोजी ऊतक दो प्रकार के होते हैं :

i) अदृढ़ संयोजी ऊतक

ii) सघन तंतुकी संयोजी ऊतक

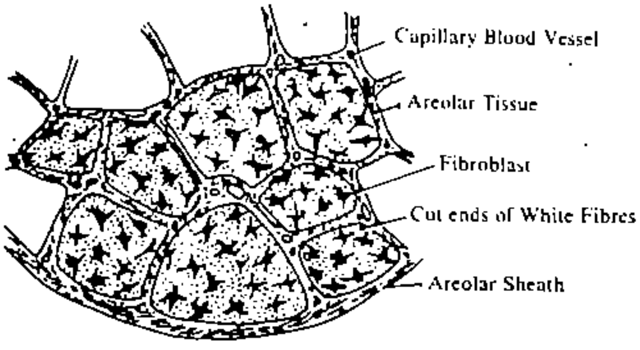
i) **अदृढ़ संयोजी ऊतक** (loose commective tissue) में वे कोशिकाएं आती हैं जो अंतराकोशिकीय मैट्रिक्स में छितरायी रहती हैं। मैट्रिक्स में अदृढ़ रूप में व्यवस्थित तंतु भी होते हैं। **एरियोलर** ऊतक (areolar tissue) अदृढ़ संयोजी ऊतक का एक उदाहरण है। इस ऊतक में मैट्रिक्स अर्धतरल तथा पारदर्शी होता है। इसकी संघटना म्यूसिन, हायलुरॉनिक अम्ल तथा कॉण्ड्राइटिन फ़ॉस्फ़ेट के मिश्रण की बनी होती है। मैट्रिक्स में कोलैजन तंतुओं के बहुसंख्यक लहरदार बंडल तथा इलास्टिन के पतले सीधे तंतुओं का अदृढ़ जालक भी होता है। इन दो प्रकार के तंतुओं से ऊतक को तनन शक्ति तथा लचीलपन प्राप्त हो जाता हैं। तंतुओं का निर्माण फ़ाइब्रोब्लास्टों से होता है। ये कोशिकाएं चपटी तथा तर्कु–आकृति की होती हैं जिनमें एक अण्डाकार केंद्रक होता है। मैट्रिक्स में अन्य प्रकार की कोशिकाएँ भी होती है, जैसे–वृहतभक्षकाणु (मैक्रोफ़ेज – macrophages) प्लैज़्मा कोशिकाएं, मास्ट कोशिकाएं, क्रोमैटोफ़ोर तथा वसा कोशिकाएं। ऐरियोलर ऊतक देह के सभी अंगों में पाया जाता है। यह त्वचा को उसके नीचे की संरचनाओं से जोड़ता है। यह एपिथीलियमों की परतों को परस्पर बांध कर आंत्रयोजनियाँ (mesenteries) बनाता है। किसी अंग में प्रवेश करने वाली अथवा उसमें से बाहर आने वाली रक्त वाहिनियों तथा तंत्रिकाओं को यह ऊतक घेरे रहता है (चित्र 4.10)।



चित्र 4.10 । एरियोलर ऊतक

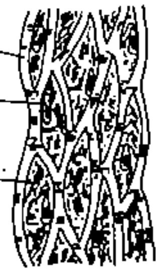
ii) **सघन तंतुकी संयोजी ऊतक** (dense fibrous connective tissue) में मैट्रिक्स में कोशिकाओं की अपेक्षा तंतु अधिक संख्या में होता है । तंतु या तो अनियमित रूप में व्यवस्थित हो सकते हैं या अलग-अलग तंतु न्यूनाधिक रूप में एक-दूसरे के समांतर व्यवस्थित हो सकते हैं । सघन तंतुकी संयोजी ऊतक दो प्रकार का होता है : सफ़ेद तथा पीला तंतुकी संयोजी ऊतक ।

सफ़ेद तंतुकी संयोजी ऊतक कई स्थानों पर बहुलता से पाए जाते है, जैसे-कंडराओं एवं स्नायुओं में, आंख की स्क्लेराटिक तथा कॉर्निया परतों में और वृक्क के केप्सूलों में । ये कड़े तंतु होते हैं जो कोलैजेन तंतुओं के नियमित रूप में व्यवस्थित बंडलों के बने होते है । तंतुओं का स्रवण करने वाले फ़ाइब्रोब्लास्ट बंडलों के बीच-बीच में फैले-छितराए पाए जाते हैं । बंडलो को चारों ओर से एरियोलर संयोजी ऊतक घेरे रहता है । मज़बूत तथा लचीले तंतुओं की तनन शक्ति कोलैजेन के कारण होती है (चित्र 4.11) ।



चित्र 4.11 । सफ़ेद तंतुकी संयोजी ऊतक

पीला तंतुकी संयोजी ऊतक (yellow fibrous connective tissue) सफ़ेद तंतुकी ऊतक से इस बात में भिन्न है कि इसके तंतु अदृढ़ तथा अनियमित रुप में व्यवस्थित रहते हैं । पीले लचीले तंतु एक विशाखित जाल बना देते है । पीले लचीले तंतुओं का स्रवण करने वाले फ़ाइब्रोब्लास्ट समूचे मैट्रिक्स में यादृच्छिकतः छितराए रहते है और कोलैजेन तंतु बहुत ही थोड़े पाए जाते हैं । पीले तंतुओं (yellow elastin fibres) से ऊतकों को लचीलापन प्राप्त होता है तथा कोलैजन तंतुओं से तनन शक्ति प्राप्त होती है । यह ऊतक स्नायुओं, धमनियों की दीवारों, फेफड़ो तथा वायु मार्गों में स्थित होता है (चित्र 4.12) ।



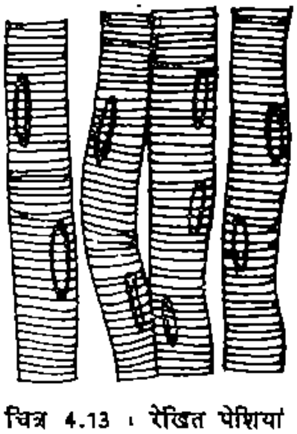
चित्र 4.12 : पीला तंतुकी संयोजी ऊतक

4.6 पेशीय ऊतक

पेशीय अथवा संकुंचनशील ऊतक कोशिकाएं तीन प्रकार की होती हैं – कंकाल (रेखित) पेशियां, चिकनी (अरेखित) पेशियां तथा हृद् पेशियाँ। संकुंचनशीलता सभी पेशियों का एक विशिष्ट गुणधर्म है। ये अपने संकुंचन से एक यांत्रिक बल पैदा करती है। साथ ही इन्हीं पेशियों से संचलन क्रिया होती है एवं अंगों में गति संभव होती है। तीनों प्रकार की पेशियों में संरचना संबंधी अंतर पाए जाते हैं।

4.6.1 कंकाल पेशी

इन पेशियों को ऐच्छिक अथवा रेखित पेशी भी कहा जाता है (चित्र 4.13)। प्रत्येक पेशी, पेशी–तंतुओं का एक बंडल होती है, और प्रत्येक तंतु में एक बहुत बड़ी बहुकेंद्रकयुक्त कोशिका होती है। प्रायः ये कोशिकाएं बहुत लम्बी और सिलिंडराकार (cylindrical) होती हैं जो चारों ओर से **सार्कोलेमा** (sarcolemma) नामक एक पतली झिल्ली से घिरी होती है। प्रत्येक तंतु में अनेक अनुदैर्घ्य मायोफ़ाइब्रिल होते हैं जो **सार्कोप्लैज़्म** (sarcoplasm) कहे जाने वाले साइटोप्लैज़्म में अंतः स्थापित होते हैं। प्रत्येक मायोफ़ाइब्रिल (myofibril) एकांतर क्रम में व्यवस्थित हल्के और गहरे रंग की पट्टियो (lighr and dark bands) का बना होता है, जिन्हें अनुप्रस्थ रेखाएँ भी कह सकते हैं। कंकाली पेशियाँ अपने शक्तिशाली एवं तीव्र संकुंचनों के द्वारा संधियों (joints) की गति में सहायक होती हैं। चूंकि इनका संकुचन हमारी इच्छा के अधीन होते हैं, इसलिए इन्हें ऐच्छिक पेशियाँ भी कहते हैं।

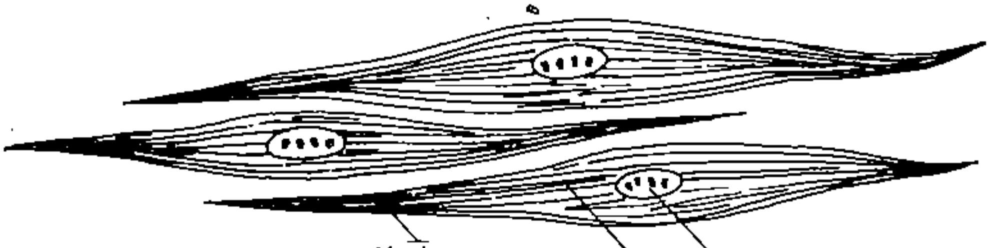


चित्र 4.13 : रेखित पेशियां

4.6.2 चिकनी पेशी

चिकनी पेशियां (चित्र 4.14) पाचन–पथ, मूत्राशय, धमनियों तथा शिराओं में पायी जाती हैं। प्रत्येक पेशी तंतु स्पिंडल की आकृति की लम्बी कोशिकाओं की बना होती है तथा उसके भीतर केवल एक क़ेंद्रक बीचों–बीच स्थित होता है। इस केंद्रक के चारों ओर सार्कोप्लैज़्म की मात्रा थोड़ी होती है। तंतुओं का शेष भाग कोमल संकुंचनशील धागों के रूप में होता

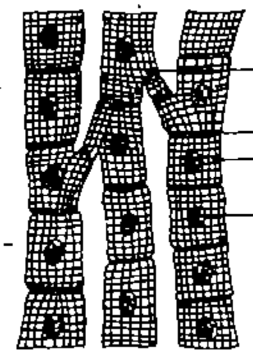
है जिन्हें मायोफ़ाइब्रिल कहते हैं और ये मायोफ़ाइब्रिल अनुदैर्घ्यतः फैले होते हैं। ऐसे-ऐसे अनेक पेशी तंतु आपस में जुड़कर बंडल बना लेते हैं और इन्हें जोड़ने का काम अदृढ़ संयोजी ऊतक करता है। रेखांकनों के अभाव के कारण इन्हें अरेखित पेशियां कहते हैं। ये चिकनी पेशियां हमारी इच्छा के नियंत्रण में नहीं होतीं और इसलिए इन्हें अनैच्छिक पेशियां कहते हैं।



चित्र 4.14 : चिकनी पेशियाँ

4.6.3 हृद पेशी

संरचना की दृष्टि से हृद पेशियां कंकाली पेशियों तथा चिकनी पेशियों के बीच की होती हैं (चित्र 4.15)। हृदय, हृद् पेशियों का बना होता है। रेखित पेशियों की तरह ये शाख युक्त होती है तथा शाखाएँ आपस में एक-दूसरे से जुड़ी होती हैं। पेशी तंतुओं को घेरती हुई एक सार्कोलेमा होती है और सार्कोप्लैज़्म होता है जिसमें एकांतर क्रम में व्यवस्थित हल्की और गहरी पट्टियों के अनुदैर्घ्य मायोफ़ाइब्रिल होते हैं। प्रत्येक तंतु में केवल एक अकेला केंद्रक होता है।



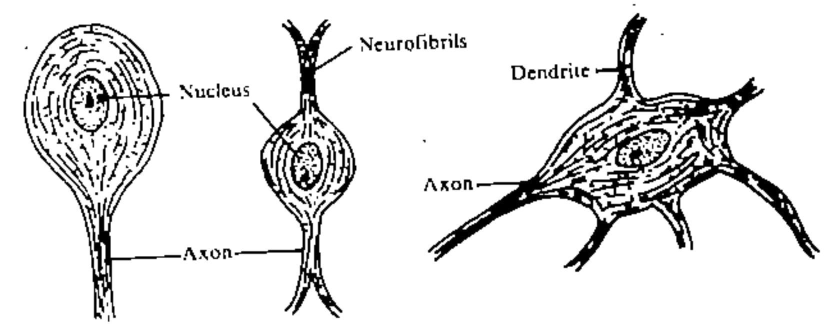
चित्र 4.15 : हृद पेशियाँ

4.7 तंत्रिका ऊतक

तंत्रिका कोशिकाएँ अथवा न्यूरॉन विशिष्ट कोशिकाएँ होती हैं जिनमें उद्दीपनों के प्रति अनुक्रिया करने, संवाहकता तथा संचार क्षमता के गुणधर्म पाए जाते हैं। उदाहरण के लिए, मस्तिष्क तथा मेरु-रज्जु में तंत्रिका ऊतक का जाल बना होता है। न्यूरॉन अथवा तंत्रिका कोशिकाएँ तंत्रिका ऊतक की इकाइयाँ होती है। न्यूरानों से तंत्रिका तंतु निकलते हैं। प्रतिरूपतः प्रत्येक न्यूरॉन के तीन भाग होते हैं (चित्र 4.16 क)।

1. **साइटॉन** (cyton) जो न्यूरॉन का कोशिका पिंड होता है ।
2. **डेंड्रॉन** (dendron) जो साइटॉन से एक या एक से अधिक की संख्या में निकलने वाले छोटे प्रवर्ध होते हैं ।
3. **एक्सॉन** (axon) एक अकेला लम्बा प्रवर्ध होता है जिसके अंतिम सिरे पर सूक्ष्म शाखाएँ बनी होती हैं जो किसी कार्यकर अंग में अथवा एक अन्य न्यूरॉन में पहुँचकर समाप्त होती हैं ।

साइटॉन में एक मध्यस्थित केंद्रक होता है तथा साइटोप्लैज़्म में सूक्ष्म कणिकाएं होती है जिन्हें निस्ल पिंड (Nissl bodies) कहते है । साइटॉन में एक अकेला डेंड्रान हो सकता है, तव इस दशा में उस न्यूरॉन को एक ध्रुवी (unipolar) न्यूरॉन कहते हैं । एक डेंड्रान के तथा एक एक्सॉन के होने पर न्यूरॉन को द्विध्रुवी (bipolar) कहते हैं तथा अनेक डेंड्रानो के होने पर न्यूरॉन को वहुध्रुवी (multipolar) कहते हैं (चित्र 4.16 ख) ।



चित्र 4.16 : एक ध्रुवी, द्विध्रुवी तथा बहुध्रुवी न्यूरॉन

ऐक्सॉन को घेरते हुए एक मायेलिन आच्छद (myelin sheath) हो सकती है और तब उस तंतु को मेडुलरी तंतु (medullary fibre) कहते हैं, और जब मायेलिन आच्छद नहीं होता, तव तंतु को अमेडुलरी (non-medullary) तंतु कहते हैं । मेडुलरी तथा अमेडुलरी दोनों ही प्रकार के ऐक्सानों के चारों ओर एक झिल्ली न्यूरिलेमा (neurilemma) लिपटी होती है । ऐक्सानों में से विद्युतीय संकेत प्रवाहित होते हैं जो साइटॉन से परे दूर को जाते हैं । ये संकेत तंत्रिका कोशिका की झिल्ली में से आयनों के भीतर को भरते जाने से होते हैं ।

4.8 संवहनी ऊतक

संवहनी ऊतक तरल ऊतक होते हैं, जिनके अनेक कार्य हैं । रक्त तथा लसीका (लिम्फ़) दोनों मिलकर संवहनी ऊतक वनाते हैं । रक्त में 60% भाग एक हल्के पीले-से रंग का तरल होता है, जिसे प्लाज़्मा कहते हैं तथा 40% भाग सस्वरुप तत्वों का होता है, जो जीवित कोशिकाएं होती हैं । स्वयं प्लाज़्मा में भी 90% मात्रा जल की तथा 10% मात्रा कार्बनिक पदार्थों तथा अकार्बनिक आयनों की होती है । प्लाज़्मा के कार्बनिक रचकों का मुख्य भाग प्रोटीनों का होता है ।

रक्त कोशिकाएं मूलतः दो प्रकार की होती हैं : आरवीसी. (RBC) तथा डब्लूवीसी (WBC) । स्तनियों में लाल रक्त कोशिकाएं (RBC) *गोलाकार, उभयावतल* (biconcave) एवं *केंद्रकच्युत* (enucleated) होती हैं । गैर-स्तनी कशेरुकियों में ये अण्डाकार, उभयोत्तल (biconvex) तक केंद्रकयुक्त होती हैं । RBCs में हीमोग्लोविन नामक श्वसन वर्णक भरा होता है और इसी से रक्त को लाल रंग प्राप्त होता है ।

श्वेत रक्त कोशिकाएं (WBCs) तीन प्रकार की होती हैं : *ईओसिनोफ़िल* (eosinophils), वेसोफ़िल (basophils) तथा *न्यूट्रोफ़िल* (neutrophils) । इन कोशिकाओं के

5. ऐसिटोकार्मिन अथवा ऐसिटोओर्सीन

6. 2N हाड्रोक्लोरिक अम्ल

7. स्लाइडें

8. पास्तेर पिपेट

9. कवरस्लिपें

10. स्पिरिट लैम्प

11. वाचगिलास

12. फिल्टर-पेपर, विच्छेदन उपकरण

13. नेल पॉलिश अथवा DPX माऊटिंग पदार्थ, तथा

14. संयुक्त माइक्रोस्कोप

7.3 सूत्रीविभाजन के अध्ययन के लिये प्याज़ के मूलाग्रों की स्क्वाश निर्मित बनाने की विधि

सूत्रीविभाजन अवस्थाओं की निर्मितियां बनाने के लिए प्याज़ की जड़ एक आदर्श सामग्री है क्योंकि यह सरलता से उपलव्ध हो जाती है। साथ ही इसका अध्ययन करना भी आसान है क्योंकि क्रोमोसोम (गुणसूत्र) अपेक्षाकृत बड़े होते हैं तथा संख्या में कम भी। प्याज़ की जड़ों को उगाने के लिए प्याज़ के कंदो को पानी से भरे किसी बीकर अथवा शंक्वाकार फ्लास्क में इस तरह रखें कि प्याज़ की जड़वाली दिशा पानी से छूती रहे। तीन दिन बाद आप देखेंगे कि जड़ें 2 से 3cm तक की लम्बी निकल आती हैं। अब प्याज़ के कंदों को निकाल लीजिए और उनके मूलाग्रों (root tips) को काटकर ऐसिटिक ऐल्कोहॉल (ऐसिटिक अम्ल 1 भाग तथा इथाइल ऐल्कोहॉल 3 भाग v/v) के घोल में रखिए। मूलाग्रों को ऐसिटिक ऐल्कोहॉल के घोल में 12 से 24 घंटों तक रखना चाहिए। इस स्थिरिकरण अवधि के बाद सामग्री को 70% ऐल्कोहॉल में रख लीजिए और फिर किसी भी समय उससे स्कवाश निर्मितियाँ बनाई जा सकती हैं। अब आप स्क्वाश निर्मितियां बनाने के लिए नीचे दी जा रही कार्य विधि अपनाइए।

कोशिकाओ को उनके प्राकृतिक पर्यावरण में से निकाल लेने के बाद यदि उनका साइज़ तथा आकृति परिरक्षित न की गयी तो समय बीतने पर उनकी आकृति बदल जाएगी और उनमें विघटन होने लगेगा। उनके अध्ययन से पूर्व इस परिरक्षण को " स्थिरिकरण (fixation) " कहा जाता है जिसे ऊष्मा से, ठंड से जमाकर अथवा रासायनिक उपचार से प्राप्त किया जा सकता है। स्थिरिकरण का चयन प्रदर्शित किए जाने वाले ऊतक के संरचनात्मक अथवा रासायनिक घटकों के अनुसार किया जाता है।

1. स्थिरकारी (ऐसिटिक ऐल्कोहॉल) अथवा संचयन विलयन (70% ऐल्कोहॉल) से मूलाग्रों को निकालकर एक वाच-ग्लास में रखिए तथा उन्हें पानी से अच्छी तरह धोइए।

2. पास्तेर पिपेट की सहायता से पानी हटा दीजिए तथा वाच-ग्लास में 2N HCl की कुछ बूंदें डालिए। ऊतकों का जलअपघटन या तो सामान्य कमरे के तापमान पर 2N HCl में 10 मिनट तक कीजिए या एक मिनट के लिए स्पिरिट लैम्प की लौ के ऊपर कीजिए। लौ के ऊपर जलअपघटन करते हुए वाच-ग्लास को लौ से हट कर ऊपर हिलाते रहना चाहिए। इससे ऊतकों में जरूरत से ज्यादा गर्माहट द्वारा होने वाली क्षति से बचाव हो जाएगा।

3. जलअपघटन के बाद हाइड्रोक्लोरिक अम्ल को बहा कर मूलाग्रों को पानी से धो डालिए

4. पानी निकाल दीजिए और फिर मूलाग्रों पर अभिरंजन के लिए 1% ऐसिटोकार्मीन अथवा ऐसिटोओर्सीन डालिए। अभिरंजन 10 से 15 मिनट के लिए किया जाता है।

5. अभिरंजन प्रक्रिया के बाद, 2-3 मूलाग्रों को स्लाइड पर रखिए, उन्हें इस तरह काटिए कि केवल मेरिस्टेमी (विभज्योतकी) क्षेत्र रह जाए, शेष कचरे को स्लाइड से हटा दीजिए।

6. इस सामग्री पर 45% ऐसिटिक अम्ल की एक बूंद डालिए और एक कवरस्लिप को सावधानी से उसके ऊपर लगा दीजिए।
7. फिल्टर-पेपर के किनारे को इस्तेमाल करते हुए कवरस्लिप के पार्श्व से अधिशेष ऐसिटिक अम्ल को हटा दीजिए।
8. स्लाइड को दो फिल्टर-पेपरों के वीच में रखिए और कवरस्लिप को धीमे से नीचे को दवा दीजिए। पेंसिल के चपटे सिरे से फिल्टर पेपर को धीरे से थपथपाइए ताकि कोशिकाएँ समान रूप में फैल जाए। थपथपाने से कोशिकाएँ चपटी हो जाती हैं तथा क्रोमोसोम फैल जाते हैं।
9. कवरस्लिप के किनारों को नेलपॉलिश से सील कर दीजिए। स्लाइड को संयुक्त माइक्रोस्कोप के नीचे देखिए।

7.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

कोशिका-चक्र की संकल्पना से आप पहले से ही परिचित हैं। हम कोशिकाओ को कोशिका चक्र की या तो विभाजनशील प्रावस्था में अथवा अविभाजनशील प्रवास्था में देख सकते हैं। स्क्वाश निर्मित में आप देखेंगे कि अधिसंख्य कोशिकाएँ इण्टरफेज़ (अन्तरावस्था) में होती हैं अर्थात वे अविभाजनशील कोशिकाएँ हैं। इण्टरफेज़ का केंद्रक ऐसिटोकार्मिन अथवा ऐसिटोओर्सीन के साथ अभिरंजित होने पर गहरे रंग का दिखायी देगा। केंद्रक-झिल्ली समूची बनी रहती है तथा क्रोमेटिन एक जालक के रूप में होता है।

कोशिका जैविकी पाठ्यक्रम (LSE-01) इकाई-16 के द्वारा आपको कोशिका-विभाजन की प्रक्रिया की विविध अवस्थाओ की भी जानकारी हो चुकी है। अब हम प्रत्येक अवस्था का एक संक्षिप्त विवरण प्रस्तुत करते है और आपको माइक्रोस्कोप के नीचे जो-जो अवस्थाएँ दिखाई दे उनके आरेख आप अपनी नोटवुक में बनाइए। सूत्रीविभाजन की अवस्थाओं को आप चित्र 7.1 में देख सकते है।

सूत्रीविभाजन की अवस्थाएँ

1. प्रोफेज़

प्रोफेज़ (prophase) कोशिका-विभाजन की पहली अवस्था है। इसकी विशेषता है कि क्रोमैटिन जाल खुलने लगता है। प्रत्येक क्रोमोसोम दो क्रोमैटिडो के रूप में प्रकट होता है जिनके साथ एक अकेला सेंट्रोमीयर होता है। केंद्रक-झिल्ली धीरे-धीरे विलीन हो रही होती है।

2. मेटाफेज़

मेटाफेज़ (metaphase) में क्रोमोसोम कोशिका के मध्य मे विषुवतरेखीय प्लेट पर व्यवस्थित होने लगते हैं। मेटाफेज़ अवस्था पर क्रोमोसोमों को गिना जा सकता है। ध्यानपूर्वक देखने में क्रोमोसोमों के भ्रातृ क्रोमैटिड दिखायी पड़ेगे।

3. ऐनाफेज़

ऐनाफेज़ (anaphase) की विशेष पहचान है कि इसमें क्रोमोसोम कोशिका के विपरीत ध्रुवो की ओर चलने लग जाते हैं। इस अवस्था में अनिवार्यतः सेंट्रोमीयर अर्थात् गुणसूत्र विन्दु का विभाजन होता है और अव तक जो दो क्रोमैटिडो वाला एक अकेला क्रोमोसोम था वह दो पृथक क्रोमोसोम हो जाते है जिनमें प्रत्येक में एक-एक अपना सेंट्रोमीयर होता है। क्रोमोसोमों की गति के दौरान उनकी स्थिति के आधार पर ऐनाफेज़ मे विविध अवस्थाएँ देखी जा सकती है जैसे आरम्भिक ऐनाफेज़, मध्य ऐनाफेज़ और उत्तरकालीन ऐनाफेज़। हो

5.3 सरल स्थायी ऊतकों पर प्रेक्षण

सरल स्थायी ऊतक सामान्यतः तीन प्रकार के होते है (i) पैरेंकाइमा, (ii) कॉलेंकाइमा और (iii) स्क्लेरेंकाइमा ।

i) पैरेंकाइमा

बनी हुई एक पैरेंकाइमा स्लाइड को माइक्रोस्कोप के नीचे रखिए और उसे फ़ोकस कीजिए। पैरेंकाइमा कोशिकाओं की संरचना को ध्यान से देखिए और अपनी प्रेक्षण नोटबुक में उसका एक स्वच्छ आरेख बनाइए। नीचे दी गयी जगह में ऊतकों की संरचनात्मक तफ़सीलों को लिखिए :

....

....

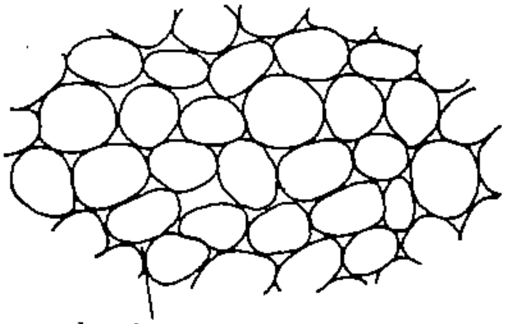
....

....

आप देखेंगे कि :

i) कोशिकाएँ गोल होती हैं और वे समव्यासीय होती है

ii) उनमें अंतराकोशिकीय गुहाएँ होती हैं (चित्र 5.1)



चित्र 5.1 : पैरेंकाइमा

पाए जाने का स्थान

अधिकांश निम्नतर पौधे पैरेंकाइमी कोशिकाओं के बने होते हैं। मेरिस्टम भी पैरेंकाइमी होती हैं। एपिडर्मिस, कॉर्टेक्स, पिथ, पत्तियों का मीज़ोफ़िल, मांसल फलों का गूदा तथा भ्रूणीय ऊतक पैरेंकाइमा कोशिकाओं के बने होते हैं।

कार्य

इन कोशिकाओं में सक्रिय प्रोटोप्लास्ट होता है। पैरेंकाइमा कोशिकाएँ प्रकाश-संश्लेषण, खाद्य पदार्थ का संचयन, स्रवण तथा उत्सर्जन का कार्य करती है। ये जाइलम तथा फ्लोएम के अंशों के रूप में भी पायी जाती है और उनमें जल एवं पोषकों के घोल का संवहन करती है।

पत्तियों के भीतर पैरेंकाइमा कोशिकाओं में क्लोरोप्लास्ट होते हैं, अतः उन्हें हरित ऊतक (क्लोरेन्काइमा) कहते हैं। जलीय पौधों में, इनमें बड़ी-बड़ी वायु गुहाएँ बन जाती है, जिससे पौधों को जल के ऊपर तैरने में सहायता मिलती है, इसी से इन्हें वायूतक कोशिकाएँ (aerenchyma cells) कहते हैं।

ii) कॉलेंकाइमा

कॉलेंकाइमा की एक स्थायी निर्मिति को माइक्रोस्कोप में देखिए। अपनी प्रेक्षण नोटबुक में कोशिकाओं का एक स्वच्छ चित्र बनाइए। इनकी संरचना की तफ़सीलों को नीचे दी गयी जगह में लिखिए।

....

....

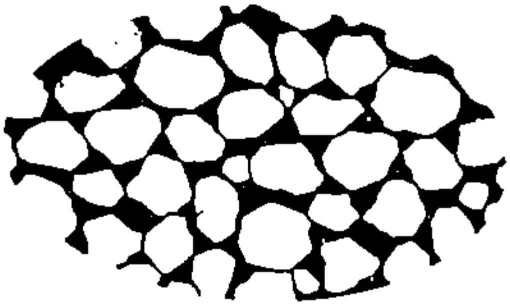
....

....

आप देखेंगे कि :

i) कॉलेंकाइमा कोशिकाएँ वृत्ताकार है तथा समव्यासीय है। कुछ कोशिकाएँ बहुभुजी आकृति की भी हो सकती हैं।

ii) कोशिका भित्त मोटी होती है, और ऐसा मुख्य रूप से कोशिकाओं के कोणों पर होता है। अतः इनमें अंतराकोशिकीय गुहाएँ नहीं होती (चित्र 5.2)।



चित्र 5.2 : कॉलेंकाइमा

पाए जाने का स्थान

अल्पवयस्क स्तम्भ, पत्तियों के पर्णवृंतों, फूलों के वृंतों, पर्शुकीउभार वाले स्तम्भों तथा पर्णवृंतों और साथ ही साथ कुछ पौधों के वर्गाकार स्तम्भों में कॉलेंकाइमा कोशिकाएँ पायी जाती है।

कार्य

कॉलेंकाइमा एक यांत्रिक ऊतक होता है जो पौधों के स्तम्भों एवं पत्तियों को संबल एवं लचीलापन पदान करता है।

iii) स्क्लेरेंकाइमा

स्क्लेरेंकाइमा की निर्मिति को संयुक्त माइक्रोस्कोप में देखें। इस ऊतक का, जैसा यह आपको दिखायी देता है, अपनी रिकार्ड नोटबुक में एक स्वच्छ चित्र बनाइए। स्क्लेरेंकाइमा ऊतकों की संरचनात्मक तफ़सीलों को लिखिए।

....

....

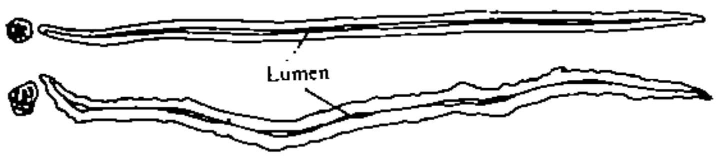
....

....

क्या आपको एक ही प्रकार की स्क्लेरेंकाइमा कोशिकाओं की स्लाइडें दी गयी थी ? हां, स्क्लेरेंकाइमा कोशिकाओं का साइज़ और उनकी आकृति भिन्न–भिन्न होती हैं और ये कम से कम दो प्रकार की तो पायी ही जाती हैं ।

i) लंबी स्क्लेरेंकाइमा कोशिकाएं जिन्हें स्क्लेरेंकाइमा तंतु कहते हैं (चित्र 5.3)

ii) छोटी कोशिकाएँ जो या तो समव्यासीय आकृति की अथवा अनियमित आकृति की होती हैं, इन्हें स्क्लेरीड (sclereids) कहते हैं (चित्र 5.4) ।



चित्र 5.3 : स्क्लेरेंकाइमा तंतु

चित्र 5.4 : स्क्लेरीड

अपनी नोटबुक में दोनों प्रकार की कोशिकाओं के आरेख बनाइए ।

आप देखेंगे कि स्क्लेरेंकाइमा तंतु इस प्रकार के होते हैं :

i) लम्बी कोशिकाएँ जिनके दोनों सिरे नुकीले सुई जैसे होते हैं ।

ii) मृत कोशिकाएँ जिनके भीतर प्रोटोप्लास्ट नहीं होता ।

iii) अत्यधिक मोटी दीवार वाली कोशिकाएँ जिनमें यह मोटापन लिग्निन पदार्थ के कारण होता है ।

पाए जाने का स्थान

कॉर्टेक्स, पेरिसाइकल, ज़ाइलम तथा फ्लोएम में पायी जाती हैं ।

कार्य

पौधों को यांत्रिक शक्ति प्रदान करती है ।

स्कलेरीड या तो वृत्ताकार अथवा अनियमित आकृति की कोशिकाएँ होती हैं, जिनमें कोशिका भित्तियाँ लिग्निनयुक्त होती हैं ।

पाए जाने का स्थान

कॉर्टेक्स, फ़्लोएम, पिथ, बीज–आवरणों तथा फल–भित्तियों में पायी जाती हैं ।

कार्य

पादप भागों को यांत्रिक शक्ति प्रदान करती है ।

5.4 सम्मिश्र स्थायी ऊतकों पर प्रेक्षण

आप पहले ही जान चुके है कि सम्मिश्र ऊतक भिन्न प्रकार के कोशिका तत्वों के बने होते है । ये भिन्न कोशिकीय तत्व पौधे की संरचना का एक अभिन्न भाग होते हैं और कोई एक विशिष्ट कार्य करते हैं । जन्तु ऊतकों के साथ समतुलना की जाए तो आपको ध्यान होगा कि रक्त एक सम्मिश्र ऊतक है, जो विभिन्न प्रकार के कोशिका तत्वों का बना होता है । पौधों में ज़ाइलम तथा फ्लोएम सम्मिश्र ऊतक के उदाहरण हैं । इन ऊतकों का संबंध पौधो में जल तथा पोषकों के परिवहन से है और इसीलिए इन्हें संवहनी ऊतक कहते हैं । संवहनी ऊतक उसी प्रकार का कार्य करते हैं जैसा कि जंतुओं में रक्त संवहन तंत्र करता है ।

5.4.1 ज़ाइलम

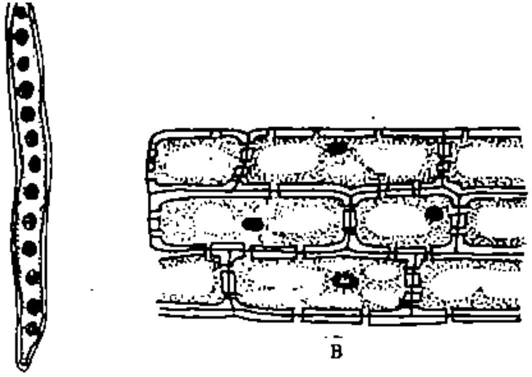
ज़ाइलम एक सम्मिश्र ऊतक है, जो संवहनी बंडल का अंश होता है । इसका मुख्य कार्य है—जल तथा विलेयों का संवहन । यह पौधों को यांत्रिक आलम्ब भी प्रदान करता है । सम्मिश्र ऊतक के रूप में यह विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं तथा तत्वों का बना होता है । ज़ाइलम बनाने वाले ऊतक इस प्रकार हैं—क) ट्रैकीड, ख) वाहिकाएं, ग) ज़ाइलम तंतु तथा घ) ज़ाइलम पैरेंकाइमा । ज़ाइलम की एक स्थायी स्लाइड निर्मिति माइक्रोस्कोप के नीचे रखिए और उसके विभिन्न अवयवों को देखिए ।

क) ट्रैकीड (चित्र 5.5)

ट्रैकीड एक अधिक लम्बी कोशिका होती है । कोशिकाएँ थोड़े ही समय तक जीवित रहती हैं और केवल प्रोटोप्लास्ट रह जाता है, अतः ये मृत कोशिकाएँ होती हैं । ट्रैकीडों में एक अवकाशिका होती है जिसमें कुछ नहीं भरा होता । ट्रैकीडों की दीवारें मोटी होती हैं तथा उनमें लिग्निन का जमाव होता है । स्थूलन के प्रकार के आधार पर ट्रैकीडों को वर्गीकृत किया जा सकता है—वलयी (छल्ले जैसे स्थूलन), सर्पिल, जालकीय (दीवारों में एक जाल जैसा स्वरूप पाया जाता है), सीढ़ीनुमा तथा गर्तयुक्त (छिद्रों से युक्त) ।

ख) वाहिकाएँ

ये लम्बी नलिका जैसी रचनाएँ होती हैं जिनमें जल तथा विलेयों का संवहन होता है । ट्रैकिया वह वाहिका होती है जो एक अनुदैर्घ्य श्रृंखला में व्यवस्थित सिलिंडराकार कोशिकाओं की पंक्ति से बनती है । कोशिकाओं के बीच की विभाजन दीवारों में छिद्र बने होते हैं जिससे सम्पूर्ण संरचना एक संतत वाहिका बन जाती है ।



चित्र 5.5 : ज़ाइलम ऊतक

ग) ज़ाइलम तंतु

ये मृत कोशिकाएं होती हैं जो पौधे को यांत्रिक आलम्ब प्रदान करती हैं । ये कोशिकाएँ लम्बी होती हैं, जिनकी दीवारें लिग्निन युक्त हो गयी होती हैं ।

घ) ज़ाइलम पैरेंकाइमा

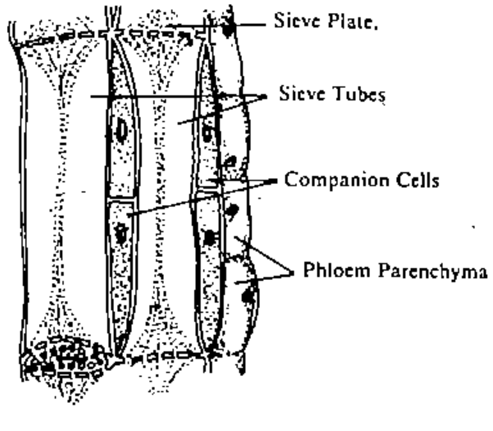
आधिकांश पौधों के ज़ाइलम में बस ये ही जीवित घटक होते है । पैरेंकाइमा अधिकतर पौधों के द्वितीयक ज़ाइलम में भरपूर पाया जाता है । इसकी कोशिकाएं पतली दीवारों वाली हो सकती है अथवा मोटी दीवारों वाली । इन कोशिका का कार्य संचयन करना होता है जिसमे ये अधिकतर स्टॉर्च तथा वसीय पदार्थों का संचयन करती हैं ।

5.4.2 फ्लोएम

फ्लोएम की एक स्थायी स्लाइड निर्मिति को माइक्रोस्कोप में देखिए । फ्लोएम भी एक सम्मिश्र ऊतक है और यह भी चार तत्तवों का बना होता है । क) छलनी तत्व, ख) सहचरी कोशिकाएं, ग) पैरेंकाइमा तथा घ) तंतु ।

क) छलनी तत्व (चित्र 5.6)

ये फ्लोएम के सर्वाधिक महत्वपूर्ण तत्व है । छलनी तत्वों में छलनी नलिकाएं होती हैं । छलनी नलिकाएँ कोशिकाएँ होती हैं जो अनुदैर्घ्य श्रृंखला में व्यवस्थित होती हैं । इनकी कोशिका भित्तियों में छिद्र बने होते हैं जिन्हें छलनी प्लेट (sieve plates) कहते हैं । अतः छलनी प्लेट में से सहवर्ती कोशिकाओं के बीच साइटोप्लैज़्मी संयोजन बन जाता है । छलनी प्लेट का निर्माण दो सहवर्ती कोशिकाओं की प्राथमिक कोशिका भित्तियों के द्वारा होता है, जिनके बीच में एक मध्य पटल (middle lamella) बन जाता है । छलनी नलिकाओं का कार्य संवहन करना है ।



चित्र 5.6 : फ्लोयम

ख) सहचरी कोशिकाएं (चित्र 5.6)

जैसा कि नाम से ही ज़ाहिर होता है, सहचरी कोशिकाएँ पुष्पी पौधों की छलनी नलिकाओं से निकटतः संबधित होती हैं, और ऐसा परिवर्धन के दौरान एवं साथ ही कार्य के दौरान भी होता है। ये छोटे आकार की लम्बी कोशिकाएँ होती हैं, जिनमें सघन साइटोप्लैज़्म तथा सुव्यक्त केंद्रक होते हैं। ये छलनी नलिकाओं की पार्श्व दीवारों पर बनी होती हैं। छलनी नलिका के साथ लगी सहचरी कोशिकाएँ या तो समान लम्बाई की एक अकेली कोशिका हो सकती है या अनुप्रस्थतः विभाजित होकर सहचरी कोशिकाओं की एक श्रृंखला बना लेती हैं। छलनी नलिकाएँ तथा सहचरी कोशिकाएँ एक ही मातृ कोशिका से व्युत्पन्न होती हैं। सहचरी कोशिकाएँ तब तक कार्य करती हैं जब तक छलनी नलिकाएं कार्य करती रहती हैं। सहचरी कोशिकाएँ छलनी नलिकाओं से दृढ़तः चिपकी–लगी होती हैं।

ग) फ्लोएम पैरेंकाइमा (चित्र 5.6)

ये सजीव कोशिकाएँ भी छलनी तत्वों के साथ संबधित होती हैं। ये कोशिकाएँ जीवित होती हैं और इनके भीतर प्रोटोप्लास्ट होता हैं। इनका संबंध कार्बनिक खाद्य पदार्थों के संचयन से है।

घ) फ्लोएम तंतु

ये स्क्लेरेंकाइमी कोशिकाएँ होती हैं। ये मृत लम्बी कोशिकाएँ होती हैं, जिनकी दीवारें लिग्निन युक्त होती हैं और जिनमें एकल गढ़े होते हैं। ये तंतु व्यापारिक महत्व के होते हैं, क्योंकि इन्हें रस्सियों आदि के बनाने में बहुत प्रयोग किया जाता है।

प्रयोग 6 मानव तथा मेंढ़क के रक्त आलेप बनाने की विधि

रूपरेखा

6.1 प्रस्तावना
    उद्देश्य
6.2 आवश्यक सामग्री
6.3 कार्यविधि
6.4 प्रेक्षण तथा परिणाम
6.5 बोध प्रश्न

6.1 प्रस्तावना

स्क्वाश तकनीक की तरह आलेप तकनीक भी कोशिकाओं के अध्ययन के लिए एक सरल और उपयोगी तकनीक है। जैसा कि आपने पहले प्रयोग में किया था आलेप तकनीक में एक तरल ऊतक को स्लाइड की सतह पर फैला दिया जाता है और उसके बाद उसका अभिरंजन किया जाता है। डाक्टरी प्रयोगशालाओं में रक्त कोशिकाओं के अध्ययन के लिये आलेप तकनीक को नित्य ही इस्तेमाल में लाया जाता है। इस अभ्यास में आप मानव के तथा मेंढ़क के रक्त आलेप तैयार करेंगे और इन दोनों में रक्त की विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं की परस्पर-तुलना करेंगे।

उद्देश्य

अभ्यास पूरा कर लेने के बाद आप :

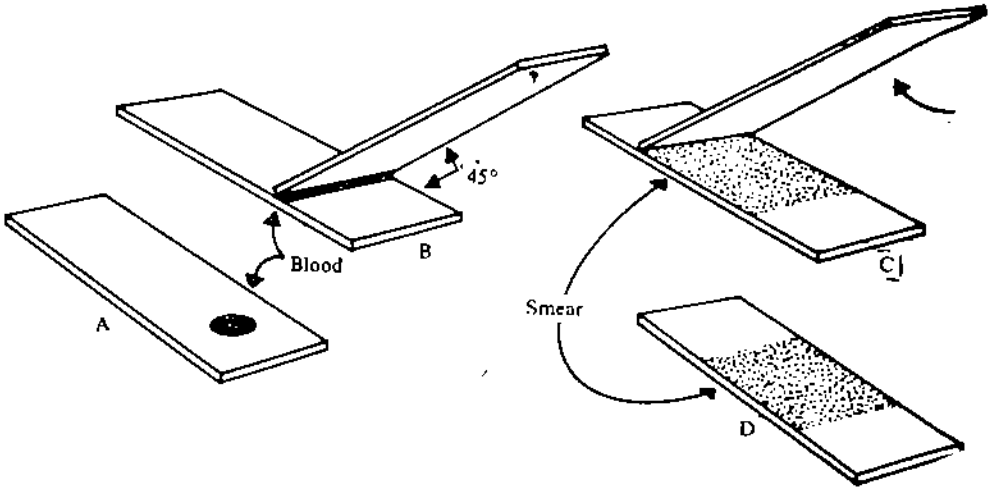
- रक्त का एक पतला आलेप तैयार कर सकेंगे, तथा
- मानव तथा मेंढ़क की लाल रक्त कोशिकाओं को तथा श्वेत रक्त कणिकाओं के विभिन्न प्रकारों को माइक्रोस्कोपी स्लाइड या फोटोग्राफ में पहचान सकेंगे एवं उनमें भेद कर सकेंगे।

6.2 आवश्यक सामग्री

1. स्लाइडें
2. कवरस्लिपें
3. 70% ऐल्कोहॉल
4. निजर्मीकृत सुइयां
5. " जिम्सा " अथवा "राइट " अभिरंजक
6. आसुत जल
7. पास्तेर पिपेट

6.3 कार्यविधि

1. स्लाइडों को साफ कर लीजिए और ध्यान रखिए कि उन पर न तो चिकनाई हो और न ही उंगलियों के निशान, आदि हों।
2. अपनी बीच की उंगली के अंतिम सिरे को 70% ऐल्कोहॉल से साफ कीजिए और एक निजर्मीकृत सुई से चुभोइए। सुई को निजर्मीकृत करनें के लिए उसे स्पिरिट लैम्प की लौ पर कुछ सेकंड के लिए गर्म कीजिए और फिर ठंडा कर लीजिए, या फिर 70% ऐल्कोहॉल में भीगी रुई से सुई को अच्छी तरह साफ करते हुए पोंछ लीजिए।
3. जब उंगली के सिरे पर रक्त की एक बूंद निकल आए तो उसे ऐल्कोहॉल में भीगी रुई से पोंछ डालिए।
4. अब उंगली के सिरे को दबाइए ताकि खून की एक और बूंद निकल आए। इस बूंद पर स्लाइड की साफ सतह को दाहिने संकरे सीमांत से लगभग 1 cm हटकर छुआइए (चित्र 6.1)।



चित्र 6.1 : रक्त आलेप की स्लाइड बनाने की विधि

5. दूसरी स्लाइड के संकरे सीमांत को इस पहली स्लाइड पर रक्त की बूंद के बायीं ओर 45° का कोण बनाते हुए रखिए।
6. दूसरी स्लाइड को दाहिनी ओर को तब तक खींचिए जब तक कि वह रक्त से छू नहीं जाती। स्पर्श की रेखा पर रक्त फैल जाता है। अब दूसरी स्लाइड को बायीं ओर को सधे हाथ से लेकिन तेजी से चलाइए। ध्यान रखिए कि इस स्लाइड का सीमांत पहली स्लाइड की सतह पर समान रूप में दबा रहे। इसे तब तक चलाते जाइए जब तक कि दूसरा छोर नहीं आ जाता। इस विधि से रक्त बहुत पतली फिल्म के रूप में स्लाइड की सतह पर फैल जाता है और स्लाइड कोशिकाओं के ऊपर से चलता हुआ उन्हें कुचलता नहीं है। इस प्रकार की आप 3 या 4 निर्मितियां बना सकते हैं।
7. आलेप बन जाने के बाद स्लाइडों को हवा में लगभग 10 मिनट तक सुखा लीजिए।
8. स्लाइड की निचली सतह पर एक मोमिया पेंसिल से वह क्षेत्र चिहिन्त कर लीजिए जिसे अभिरंजित करना है। यह क्षेत्र लगभग इतना होना चाहिए जो 40 mm की कवरस्लिप के बराबर लम्बा हो।

मेढ़क का रक्त आलेप भी इसी प्रकार तैयार किया जाता है । मेंढ़क का रक्त प्राप्त करने के लिये एक मेंढ़क को काटकर खोलिए, उसके हृदय को बेधिए और पास्तेर पिपेट की सहायता से एक बूंद रक्त को माइक्रोस्लाइड पर ले लीजिए और ऊपर दी गयी विधि से आलेप बनाइये ।

मानव तथा मेंढ़क के रक्त आलेप बनाने की विधि

9. स्लाइडों का अभिरंजन

मोमिया पेंसिल से चिहिन्त क्षेत्र पर जिम्सा (Giemsa) अथवा " राइट" (Wright) अभिरंजक की 10–12 बूंदे डालिए । 2 से 3 मिनट तक आलेप पर अभिरंजक पड़ा रहने दीजिए । इतने समय के बाद आसुत जल की समान मात्रा डालिए और 2 से 4 मिनट तक पड़ा रहने दीजिए । अब अभिरंजक को बहा दीजिए तथा स्लाइड को एक–दो बार ऊपर से आसुत जल डालते हुए धो डालिए । अब फिल्टर पेपर की दो तहों के बीच में उसे हल्का सा दबा कर सुखा लीजिए । ध्यान रखिए कि फिल्टर पेपर को धीरे से दबाया जाए न कि रगड़ा जाए । अब स्लाइड को हवा में सुखा लीजिए और DPX माऊटिंग माध्यम का उपयोग करके कवरस्लिप लगाइए, इस प्रकार आपकी स्लाइड तैयार हो जाएगी ।

स्लाइडों को संयुक्त माइक्रोस्कोप में देखिए, पहले तो निम्न आवर्धन पर और फिर उसके बाद उच्च आवर्धन पर ।

6.4 प्रेक्षण तथा निष्कर्ष

माइक्रोस्कोप के नीचे किए गए प्रेक्षणों से आप मानव एवं मेंढ़क की लाल रक्त कोशिकाओं के आरेख बना सकेंगे । चित्र 6.2 मेंढ़क के रक्त में लाल रक्त कोशिकाओं को दर्शाता है । ध्यान दीजिए कि ये कोशिकाएँ अंडाकार होती है और इनमें केंद्रक होता है । जबकि मानव की लाल रक्त कोशिकाएँ अभयावतल (biconcave), गोलाकार होती हैं और उनमें केंद्रक नही होता है (देखिए चित्र 6.3) । विविध प्रकार की श्वेत रक्त कणिकाओं अर्थात ईओसिनोफिल, बेसोफिल तथा न्यूट्रोफिल को देखिए । साथ ही रक्त पट्टिकाओ को भी देखिए । " राइट " अथवा " जिम्सा " अभिरंजक से विभिन्न कोशिकाओ में तथा उनके केंद्रको में प्रायः निम्न रंग आ जाते है :

लाल रक्त कोशिकाएं	—	गुलाबी
केंद्रक	—	गहरा नीला
बेसोफिल	—	गहरा बैंगनी
ईओसिनोफिल	—	चटकीला लाल
न्यूट्रोफिल	—	लाली लिए हुए भूरा
पट्टिकाएँ (प्लेटलेट)	—	नीललोहित से बैंगनी

6.5 बोध प्रश्न

1. मानव तथा मेंढ़क की लाल रक्त कोशिकाएं एक–दूसरे से किस प्रकार भिन्न होती है ।

 ....

....

....

....

2. मानव रक्त की श्वेत रक्त कोशिकाओं के केंद्रक की क्या आकृति होती है ?

....

....

....

....

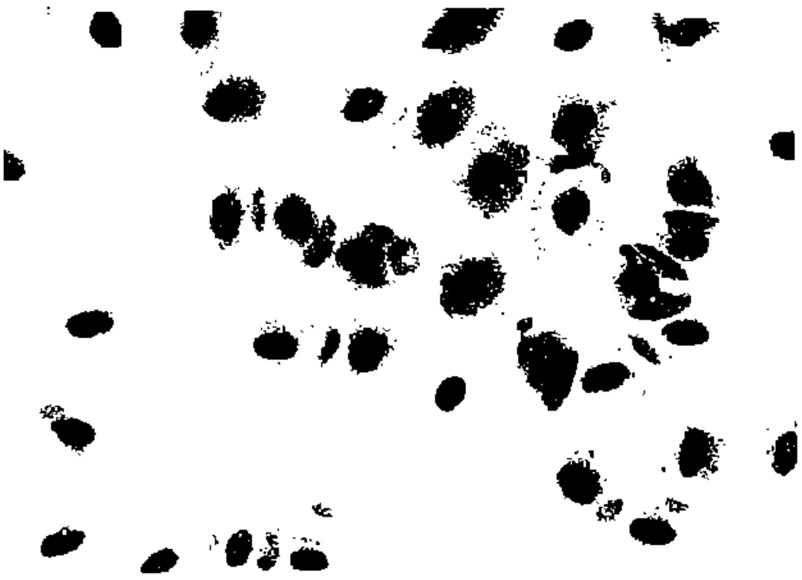
3. क्या मेंढ़क में विविध प्रकार के WBCs पाए जाते है ? या उनका केवल एक ही प्रकार होता है ? मेंढ़क के रक्त के WBC की सरंचना बताइए।

....

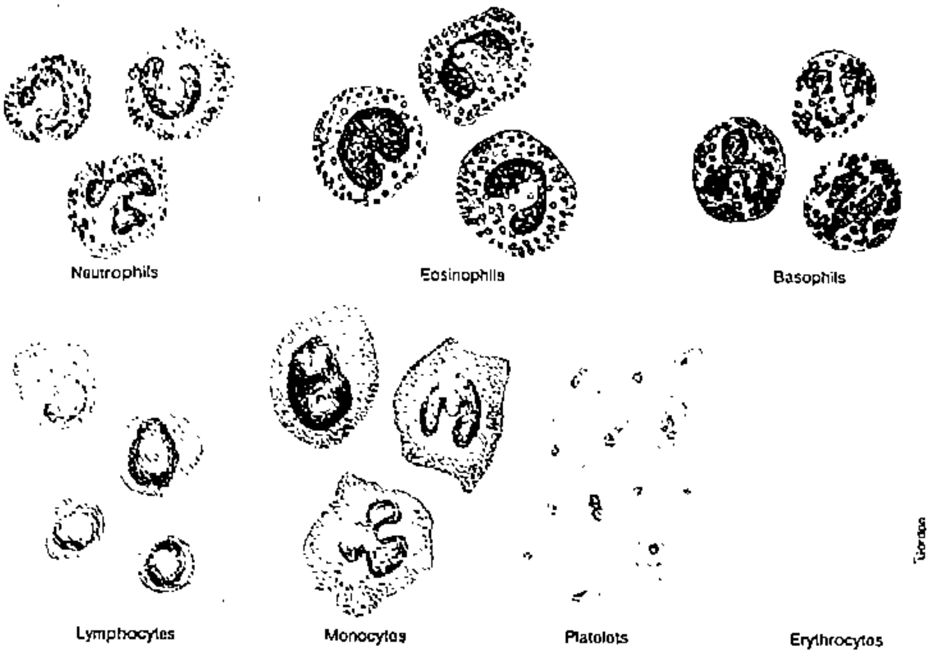
....

....

....



चित्र 6.2 : मेंढ़क की लाल रूधिर कणिका



चित्र 6.3 । मानव रक्त कोशिकाएँ

प्रयोग 7 स्क्वाश तकनीक द्वारा सूत्रीविभाजन तथा अर्धसूत्री विभाजन का अध्ययन

रूपरेखा

7.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
7.2 आवश्यक सामग्री
7.3 सूत्रीविभाजन के लिये प्याज़ के मुलगों की स्क्वाश निर्मित बनाने की विधि
7.4 प्रेक्षण और परिणाम
7.5 अर्धसूत्री विभाजन के लिये प्याज़ की कलिकाओं से परागकोशों अथवा टिड्डे के वृषण की स्क्वाश निर्मिति बनाने की विधि
7.6 प्रेक्षण और परिणाम

7.1 प्रस्तावना

स्क्वाश तकनीक (squash technique) क्रोमोसोमों के लिये व्यापक रूप में काम में लायी जाने वाली सरल तकनीकों में से एक है । इस तकनीक में पहले से अभिरंजित किए गए ऊतक के एक छोटे से अंश को हल्का सा दवाव देकर कोशिकाओ को चपटा कर दिया जाता है । इस तकनीक को फुर्ती से किया जा सकता है तथा विभाजनशील कोशिकाओं के अध्ययन के लिये यह एक कारगर तकनिक है । इस विधि से बड़ी कोशिकाओं को उनके समूचे रूप में एक परत में अध्ययन करने में सहायता मिलती है । इस विधि का अभ्यास करने से पूर्व LSE-01 (कोशिका जीवविज्ञान) पाठ्यक्रम के खंड 4 में सूत्रीविभाजन तथा अर्धसूत्रीविभाजन को फिर से पढ़ना आपके लिये सहायक रहेगा । आपके परामर्शदाता आपको " Squash and Smear Techniques in Cell Biology " भाग I तथा II पर विडियो कार्यक्रम भी दिखाएगें ।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला से आप :

- पादप सामग्री, जैसे कि प्याज़ के मूलाग्र की स्क्वाश निर्मितियां बना सकेंगे और सूत्रीविभाजन अवस्थाओ को देखकर उनकी व्याख्या कर सकेंगें ।
- अर्धसूत्री विभाजन—अवस्थाओ के अध्ययन के लिये पौधों और प्राणियों के जनन-ऊतकों की स्क्वाश निर्मितियाँ बना सकेंगे ।
- सूत्रीविभाजन तथा अर्धसूत्रीविभाजन की प्रक्रियाओ की तुलना कर सकेंगे ।

7.2 आवश्यक सामग्री

1. प्याज़ के मूलाग्र
2. प्याज़ की पुष्प-कलियाँ
3. टिड्डे के वृषण
4. ऐसिटिक ऐल्कोहॉल

नाम इनकी अभिरंजन विशिष्टता के कारण दिए गए हैं । इन्हें ग्रैनुलोसाइट
ranulocyte) भी कहा जाता है, क्योंकि इनमें कणिकीय साइटोप्लौज़्म होता है । तथा इन्हें
क और नाम पॉलीमॉर्फोन्यूक्लियर (polymorphonuclear) ल्यूकोसाइट भी दिया जाता है
योंकि इनमें अनेक पालियों वाला केंद्रक पाया जाता है ।WBCs में एग्रैनुलोसाइट
granulocyte) भी आते हैं जैसे कि — लिम्फ़ोसाइट (lymphocyte) तथा मोनोसाइट
onocyte) । स्तनियों में रक्त प्लाज़्मा में रक्त पट्टिकाएँ (blood platetets) भी पायी जाती
, जो रक्त का स्कंदन प्रक्रिया (थक्का बनने की प्रक्रिया) (clotting) में सहायक होती हैं
चित्र 6.3 देखिए) ।

प्रयोक 5 पादप ऊतकों का अध्ययन

रूपरेखा

5.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

5.2 आवश्यक सामग्री

5.3 सरल स्थायी ऊतकों पर प्रेक्षण

पैरेंकाइमा

कॉलेंकाइमा

स्क्लेरेंकाइमा

5.4 सम्मिश्र स्थायी ऊतकों पर प्रेक्षण

जाइलम

फ्लोएम

5.1 प्रस्तावना

पिछले अभ्यास में आपने विभिन्न प्रकार के जन्तु-ऊतकों की संरचना को माइक्रोस्कोप के नीचे देखा-समझा था। पादप अंग भी विभिन्न प्रकार के ऊतको के बने होते हैं। ये ऊत दो महत्वपूर्ण कार्य करते हैं: (i) ये पौधों को यांत्रिक शक्ति प्रदान करते है, तथा (ii) जल, खनिजों एवं पोषकों को पादप-शरीर के विभिन्न भागों में पहुंचाते हैं। जन्तु ऊतकों की तरह पादप ऊतक भी ऐसी कोशिकाओं के समूह होते हैं जो उद्भव, आकार तथा आकृति में समान होती है एवं एक विशिष्ट कार्य करती हैं। अपने परिवर्धन के आध पर पादप ऊतकों को दो श्रेणियो में विभाजित किया जा सकता है—एक मेरिस्टेमी ऊतक (Meristematic tissue) जिसे विभज्योतक भी कह सकते हैं और दूसेर स्थायी ऊतक (Permanant tissues)। मेरिस्टेमी ऊतक में अपरिपक्व अविभेदित ऊतक आते हैं, जिनकी कोशिकाओं में विभाजन क्षमता रहता होती है। स्थायी ऊतकों की वयुत्पत्ति मेरिस्टेम से हो है जिसमें इनका क्रमिक विभेदन होता है और वे परिपक्व हो जाती हैं। इनकी कोशिकाओ में विभाजन नहीं होता। स्थायी ऊतक को दो श्रेणियों में विभाजित किया जा सकता है— i) सरल स्थायी ऊतक तथा ii) सम्मिश्र स्थायी ऊतक। सरल सथायी ऊतकों में समान समांग कोशिकाएँ होती हैं। सम्मिश्र स्थायी ऊतकों में विषमांग कोशिकाएँ होती हैं और वे भिन्न प्रकार के कोशिका तत्वों की बनी होती है। **इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप विभिन्न प्रकार के पादप ऊतकों को माइक्रोस्कोप में देखेगे। साथ ही आप ऊतकों क संरचना के चित्र अपनी प्रेक्षण नोटबुक में बनाएंगे और उनके कार्यों से भी परिचित ।**

उद्देश्य

इस अभ्यास के अंत में आप :

- विभिन्न प्रकार के पादप ऊतकों को पहचान सकेंगे, उनकी संरचना का वर्णन कर सकेंगे तथा उनके चित्र बना सकेंगे, तथा
- सरल तथा सम्मिश्र पादप ऊतकों के कार्यों का वर्णन कर सकेंगे।

5.2 आवश्यक सामग्री

विविध प्रकार के पादप ऊतकों की स्थायी स्लाइडें, संयुक्त माइक्रोस्कोप।

सकता है कि जो अभिरंजक आपने इस्तेमाल किया है उससे क्रोमोसोमों के सेंट्रोमीयरों से जुड़े स्पिंडल तंतु स्पष्ट नजर न आए।

4. टेलोफेज़

टेलोफेज़ (telophase) में दो संतति केंद्रक बन जाते हैं जिनमें से प्रत्येक में क्रोमोसोमों की वही संख्या होती है जो जनक केंद्रक में रही थी। अब क्रोमोसोमो में कुंडली बनने लगती और वे क्रोमैटिन जाल बना लेते हैं। केंद्रक झिल्ली पुनः प्रकट हो जाती है और केंद्रक विभाजन सम्पन्न होता है।

5. साइटोकाइनेसिस

एक बार केंद्रक विभाजन पूरा हो चुकने के बाद साइटोकाइनेसिस (Cytokinesis) की प्रक्रिया होती है यानी कोशिका दो संतति कोशिकाओ में विभाजित हो जाती है। सूत्रीविभाजन के अंत में बनी इन संतति कोशिकाओ को देखिए और दो संतति कोशिकाओ के बीच में बनने वाली कोशिका–भित्ति को देखने की कोशिश कीजिए।

बोध प्रश्न 1

अधिसंख्यक कोशिकाएँ इण्टरफेज़ में क्यों दिखायी देती है ?

....

....

7.5 अर्धसूत्री विभाजन के अध्ययन के लिए प्याज़ की कलिकाओ से परागकोशों की अथवा टिड्डे के वृषण की, स्क्वाश निर्मिति बनाने की विधि

जैसा कि आप जानते ही हैं अर्धसूत्री विभाजन (मीयोसिस) की प्रक्रिया जनन ऊतकों में सम्पन्न होती है। अर्धसूत्री विभाजन में क्रोमोसोम–संख्या आधी हो जाती है और वे कोशिकाएँ जो डिप्लॉइड (द्विगुणित) (2n) थीं विभाजित होकर हैप्लॉइड (अगुणित) (n) कोशिकाएँ बनाती हैं। सूत्रीविभाजन हो चुकने पर जनन कोशिकाएं बन जाती हैं अर्थात् प्राणियों में शुक्राणु एवं अण्डे तथा पौधों में पराग एवं बीजाण्ड। स्क्वाश तकनीक की विधि पादप ऊतकों के लिए थोड़ी अलग होती है। पादप कोशिकाओं में कोशिका–भित्ति है इसलिए कोशिका के पौलिसैकेराइडों का जलअपघटन करना जरूरी है ताकि अभिरंजक कोशिका के भीतर प्रवेश कर सके। प्राणि–कोशिकाओं के लिए जलअपघटन की प्रक्रिया करानी आवश्यक नहीं है। प्राणि–ऊतकों को स्थिरीकरण के बाद सीधे अभिरंजक में डाल दिया जाता है। पहले हम पादप–कोशिकाओ की निर्मितियाँ बनाने के विभिन्न चरणों का वर्णन करेंगे।

1. 70 प्रतिशत ऐल्कोहॉल में संचित प्याज़ की कलियों से परागकोश निकाल लीजिए। इन्हें वाच–ग्लास में पानी से अच्छी प्रकार धो लीजिए
2. अब परागकोशों को एक अन्य वाच–ग्लास में डालिए जिसमें 2N HCl की कुछ बूंदें डाली गयी हों तथा स्पिरिट लैम्प की लौ के ऊपर 5 मिनट तक जलअपघटित कीजिए।
3. परागकोशों को पानी से अच्छी तरह धो लीजिए और फिर उन्हे 1 प्रतिशत ऐसिटोकार्मिन अथवा ऐसिटोआर्सिन में 10 मिनट तक रखिए।
4. जब पराग कोश अभिरंजित हो जाए तब उन्हें एक स्लाइड पर रखें और उन पर 45 प्रतिशत ऐसिटिक अम्ल की एक बूंद डालिए।

5. अभिरंजित ऊतक पर सावधानी से एक कवरस्लिप रखिए और फिल्टर-पेपर के किनारों का उपयोग करके अधिशेष ऐसिटिक अम्ल को सोख लीजिए।

6. स्लाइड को दो फिल्टर-पेपरों के बीच में रखिए और पेंसिल का चपटा सिरा इस्तेमाल करते हुए कवरस्लिप को धीमें से थपथपाइए

7. परागकोश की कोशिकाएं चपटी हो जायेगी और क्रोमोसोम फैल जायेगें। नेल-पॉलिश से कवरस्लिप के किनारों को सील कर दीजिए। उसके बाद स्लाइड को संयुक्त माइक्रोस्कोप में देखिए।

अर्धसूत्री विभाजन की अवस्थाओं का अध्ययन टिड्डे के वृषण से भी किया जा सकता है।

1. टिड्डे के पहले से ही ऐसिटिक ऐल्कोहॉल (इथैनालः ऐसिटिक अम्ल 3:1 v/v) में स्थिरीकृत किए हुए तथा 70 प्रतिशत ऐल्कोहॉल में संचित वृषण लीजिये।

2. वृषण को जल में धोइए तथा दो सुइयों से उनकी नलिकाओ को खोलिए।

3. नलिकाओ को एक वाच-ग्लास में डालिए जिसमें 1 प्रतिशत ऐसिटोकार्मिन अथवा ऐसटोओर्सीन रखा हो और 10 से 15 मिनट तक अभिरंजित होने दीजिए।

4. एक या दो अभिरंजित नलिकाओ को एक स्लाइड पर रखिए तथा उन पर एक बूंद 45 प्रतिशत ऐसिटिक अम्ल की डालिए। इसके ऊपर एक कवरस्लिप रखिए और अधिशेष एसिटिक अम्ल को फिल्टर-पेपर के कोने से निकाल कर हटा दीजिए।

5. स्लाइड को दो फिल्टर-पेपरों के बीच में रखिए तथा पैंसिल के चपटे सिरे से कवरस्लिप को धीरे से थपथपाइए या अपने अंगूठे से हल्का सा दबाइए।

6. ऐसा करने से नलिकाएँ चपटी हो जायेगी जिससे कोशिकाएँ एवं क्रोमोसोम फैल जायेगें। नेल पॉलिश से कवरस्लिप के किनारे सील कर दीजिए तथा संयुक्त माइस्क्रोस्कोप के नीचे देखिए।

7.6 प्रेक्षण तथा परिणाम

अर्धसूत्री विभाजन में वास्तव में दो विभाजन प्रक्रियाएँ होती हैं मीयोसिस I तथा मीयोसिस II। मीयोसिस I में ह्रासी विभाजन होता है जिसमें क्रोमोसेमों की संख्या आधी हो जाती है। मीयोसिस II सूत्रीविभाजन के समान होता है। इन दो विभाजनों के बाद चार कोशिकाएँ बनती है जिनमें से प्रत्येक में जनक कोशिका की क्रोमासोम-संख्या से आधे क्रोमोसेम हो गए होते हैं। अर्धसूत्री विभाजन की विभिन्न अवस्थओ का संक्षिप्त वर्णन नीचे दिया जा रहा है। इसका विस्तृत विवरण LSE-01 पाठयक्रम के ब्लाक 4 में मिलेगा।

मीयोसिस I

1. प्रोफेज I

प्रोफेज़ I में 5 विभिन्न अवस्थाएँ आती हैं। ये हैं लेप्टोटीन (leptotene), ज़ाइगोटीन (zygotene), पैकीटीन (pachytene), डिप्लोटीन (diplotene) तथा डायाकाइनेसिस।

इन अवस्थाओं के दौरान होनो वाले परिवर्तन हैं : क्रोमैटिन जाल का अंकुडलित होना, क्रोमोसोमों का संघटन, समजात क्रोमोसोमों में सिनैप्सिस अर्थात सूत्रयुग्मन होना, जीनविनियम तथा काइएज़्मा बनना तथा पुनःसंयोजन होना। ध्यान से देखने पर टिड्डे के वृषण की स्क्वाश निर्मिति में प्रोफेज़ I की विभिन्न अवस्थाओ को देखा-पहचाना जा सकता है। इसके विपरित परागकोश की निर्मिति में आप अर्धसूत्री विभाजन की केवल एक या दो ही अवस्थाएँ पहचान पाएँगें, ऐसा इसलिए कि पादप-ऊतकों में विविध

र्धसूत्रीविभाजन घटनाएं अत्यधिक समकालिक होती हैं। अपने प्रेक्षणों के आरेख टबुक में बनाइए और दिये गये चित्रों से उनकी तुलना कीजिए।

मेटाफेज़ I

टाफेज़ I में क्रोमोसोम विषुवतरेखीय समतल पर व्यवस्थित दिखायी पड़ेंगे। क्रोमोसोमों ी संख्या गिनने के लिए मेटाफ़ेज़ I सबसे उपयुक्त अवस्था है। क्योंकि टिड्डों की लग-अलग स्पीशीज़ में क्रोमोसोमों की संख्या भी अलग-अलग होती है इसलिए आप पने अध्ययन में जिस स्पीशीज़ का उपयोग कर रहे हैं उसके क्रोमोसोमों को गिनिए तथा नकी संख्या को रिकार्ड कर लीजिए। प्याज़ की कलियों के परागकोशों में क्रोमोसोमों की ख्या 7 होती है।

ऐनाफेज़ I

ाफेज़ I वह अवस्था है जिसमें क्रोमोसोम-संख्या घटकर आधी हो जाती है। ीविभाजन के ऐनाफेज़ से भिन्न अर्धसूत्रीविभाजन के ऐनाफेज़ में सेंट्रोमीयर में विभाजन ीं होता और पूरे का पूरा क्रोमोसोम एक ध्रुव की ओर चला जाता है। परिणाम स्वरूप येक केंद्रक में केवल आधी संख्या में क्रोमोसोम पहुँचते हैं। इस ऐनाफेज़ I में मोसोम विपरीत ध्रुवों की ओर जाते हुए दिखायी पड़ेंगे।

टेलोफेज़ I

ोफेज़ I में दो केंद्रक बन जाते हैं।

योसिस II

ोसिस II में वैसी ही विभाजन अवस्थाएं दिखायी पड़ती हैं जैसी कि सूत्रीविभाजन में ी है।

प देखेंगे कि जिन कोशिकाओ में मीयोसिस II हो रहा होता है वे उन कोशिकाओं से क्षाकृत छोटी होती है जिनमें मीथोसिस I हो रहा होता है। साथ ही इनमें मीयोसिस की कोशिकाओ की तरह क्रोमोसोमों की केवल आधी ही संख्या होती है। इस तथ्य की ार्थता को आप मीयोसिसI के दौरान क्रोमोसोमों की संख्या वास्तव में गिन कर जाँच ते हैं।

ध प्रश्न 2

ीविभाजन के प्रोफेज़ तथा अर्धसूत्रीविभाजन के प्रोफेज़ I के बीच क्या अंतर है? की सूची अपनी नोटबुक में बनाइए।

....

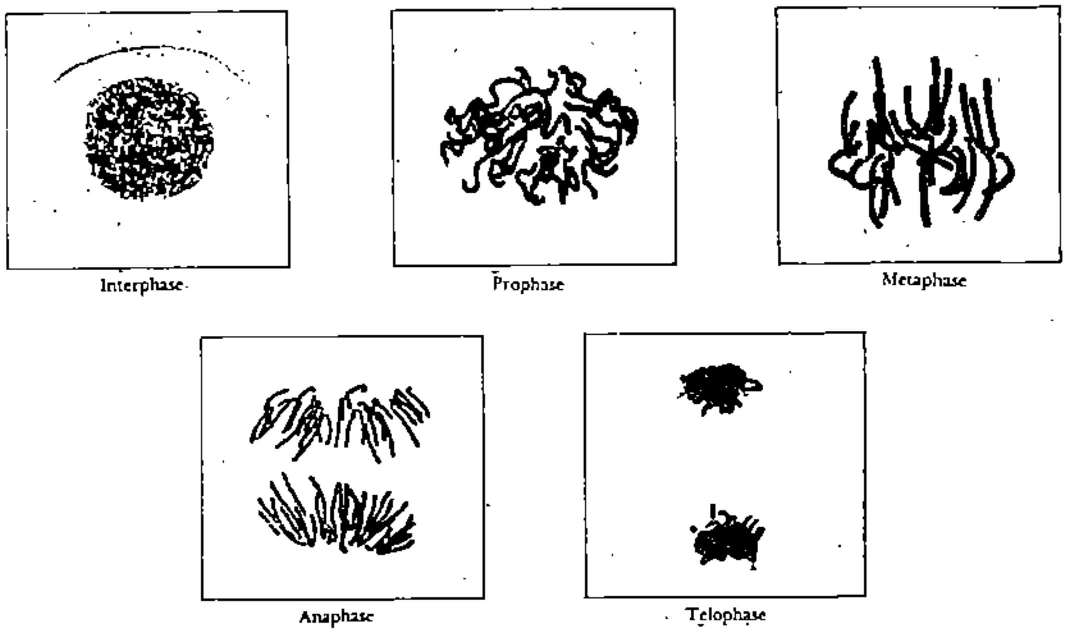
....

ध प्रश्न 3

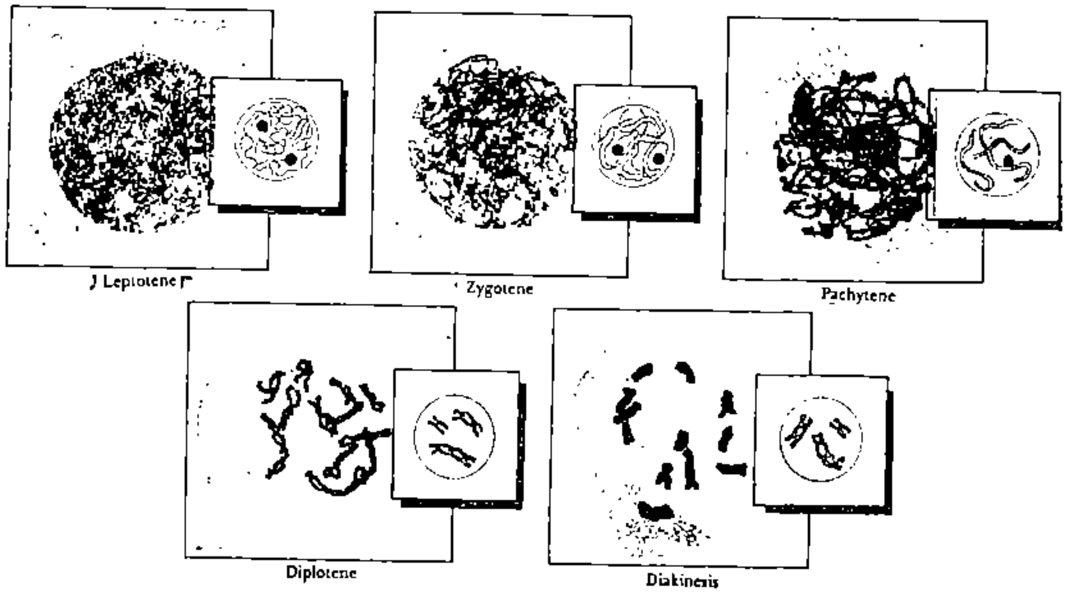
सूत्री विभाजन का मेटाफेज़ सूत्रीविभाजन के मेटाफेज़ से किस प्रकार भिन्न है।

....

....



चित्र 7.1 : सूत्रीविभाजन की अवस्थाएँ



चित्र 7.2 : अर्धसूत्री विभाजन प्रोफेज - I की अवस्थाएँ

योग 8 ड्रोसोफिला के लार्वो की लार ग्रंथियों से पौलीटिन क्रोमोसोम की निर्मिति बनाने की विधि

परेखा

1 प्रस्तावना
उद्देश्य
2 आवश्यक सामाग्री
3 कार्यविधि
4 प्रेक्षण तथा परिणाम

.1 प्रस्तावना

प्टेरन कीटों के लार्वो की लार–ग्रंथियों में ऐसे केंद्रक होते हैं जो सदैव इण्टरफेज़ वस्था में ही बने रहते हैं। इनका वर्णन वालवियानी (Balbiani) ने 1881 में किया था। केंद्रको में पाये जाने वाले क्रोमोसोम अन्य देह–कोशिकाओं के क्रोमोसोमों की तुलना में साधारण रूप में बड़े होते हैं। अपने आकार के कारण इन्हें **विशाल क्रोमोसोम** ant chromosomes) कहा जाने लगा है। पूरे फैले होने पर यह विशाल क्रोमोसोम उन मोसोमों से लगभग 100 गुना अधिक लम्बे होते हैं जो सामान्यतः सूत्रीविभाजन के तफेज़ में पाये जाते हैं। विशाल क्रोमोसोमों का DNA वारंबार प्रतिकृति करता है मगर ाति सूत्र पृथक नहीं होते। प्रतिकृति लगभग 10 बार होती है जिसके परिणाम स्वरूप एक थ लगे हुए 1024 समांतर सूत्र बन गए होते हैं। पूर्णतः विकसित पट्टित (banded) मोसोम लगभग 0.25 mm से 0.55 mm लम्बे होते है इन क्रोमसोमों में एकांतर क्रम में री और हल्की पट्टियां दिखायी पड़ती हैं और प्रत्येक पट्टी एक जीन होती है। कीटों लार्वो मे लार–ग्रंथियों के क्रोमोसोमों में DNA की मात्रा के बढ़ जाने को लीटीनीकरण (polytenisation) भी कहते हैं तथा क्रोमोसोमों को पौलीटीन (polytene) मोसोम कहते हैं। इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप **फल–मक्खी** यानि *ड्रोसोफिला लेनोगैस्टर (Drosophila melanogaster)* के लार्वो के विशाल पौलीटीन क्रोमोसोमों की र्मिति को साधारण स्क्वाश तकनीक से बनाना सीखेंगे और उनकी आकारिकी का अध्ययन गें।

्देश्य

अभ्यास को पूरा करने के बाद आप :

- *ड्रोसोफिला* के लार्वो की लार–ग्रंथियों का विच्छेदन कर सकेंगे
- लार–ग्रंथियों की स्क्वाश निर्मिति बना सकेंगे
- पौलीटीन क्रोमोसोमों के मुख्य लक्षणों का वर्णन कर सकेंगे।

2 आवश्यक सामाग्री

- तीसरी इन्स्टार के *ड्रोसोफिला* लार्वा
- विच्छेदन उपकरण सुइयां, चिमटियाँ

3. विच्छेदन माइक्रोस्कोप तथा संयुक्त माइक्रोस्कोप
4. 1% ऐसिटोओर्सीन
5. स्लाइडें
6. कवरस्लिपें
7. पास्तेर पिपेट
8. फिल्टर–पेपर

8.3 कार्यविधि

1. *ड्रोसोफिला* के तीसरी इन्स्टार की अन्तिम अवस्था में कुछ लार्वा लीजिए। तीसरी इन्स्टार के लार्वों को उनके बड़े आकार के आधार पर पहचाना जा सकता है।
2. एक लार्वा को धीरे से उठाकर एक स्लाइड पर रखिए और उस पर एक बूंद कीट रिं विलयन (insect Ringer solution) को डालिए। इस स्लाइड को विच्छेदन माइक्रोस्कोप पर रखिए। ध्यान दीजिए कि लार्वा का एक पिछला मोटा सिरा होता है तथा एक नुकीला शीर्ष होता है जिसके भीतर मुखांग होते हैं।
3. एक सुई को लार्वा के वक्ष में गड़ा कर लार्वा को स्लाइड पर कसकर जमा लीजिए और उसके बाद एक दूसरी सुई से लार्वा के शीर्ष को खींच कर वक्ष से अलग कर दीजिए।
4. लार–ग्रंथियाँ अब बाहर निकल आयेगी और उन्हें शीर्ष से जुड़े हुये, रिंगर विलयन में तिरता देखा जा सकता है।
5. लार–ग्रंथियों को विच्छेदन माइक्रोस्कोप में देखिए और उनसे चिपके हुए किसी भी वसा ऊतक को हटा दीजिए।

नोट : हो सकता है कि आप पहली एक–दो कोशिशों में लार ग्रंथियों को निकालने में सफल न हों। विच्छेदन कार्य विधि के लिए अभ्यास तथा धैर्य की आवश्यकता होती है। सम्पूर्ण ग्रंथियों को निकालने में हो सकता है आपको अनेक बार प्रयत्न करना पड़े।

6. ग्रंथियों को एक वाचग्लास में रखिए और कुछ बूंदें ऐसिटिक मीथेनॉल (मीथेनॉल : ऐसिटिक अम्ल 3:1 v/v) की डालिए। सामग्री के स्थानांतरण में आप ब्रुश अथवा विच्छेदन सुइयों का इस्तेमाल कीजिए। ऐसिटिक मीथेनॉल में स्थिरीकरण केवल एक मिनट तक कीजिए।
7. पास्तेर पिपेट का इस्तेमाल करके स्थिरीकारी विलयन को पूरी तरह निकाल दीजिए तथा ग्रंथियों के ऊपर ऐसिटो–ओर्सीन अभिरंजक की कुछ बूंदें डालिए। अभिरंजन 10 से 15 मिनट तक किया जा सकता है।
8. अब ग्रंथि को एक स्लाइड पर रखिए और उस पर 45% ऐसिटिक अम्ल की एक बूंद डालकर कवरस्लिप से ढकिये।
9. आवश्यकता से अधिक अभिरंजक को हटाने के लिए आप कवरस्लिप के एक पार्श्व से लगातार ऐसिटिक अम्ल डालते जाइए तथा दूसरे पार्श्व पर एक फिलटर–पेपर का उपयोग करके अधिशेष तरल को सोखते जाइए।
10. उसके बाद फिलटर–पेपर को मोड़ कर उसके बीच मे स्लाइड को रखिए और कवरस्लिप को धीमे से दबाइए तथा पेंसिल के चपटे सिरे से थपथपाइए ताकि विशाल क्रोमोसोम अच्छी तरह फैल जाए।

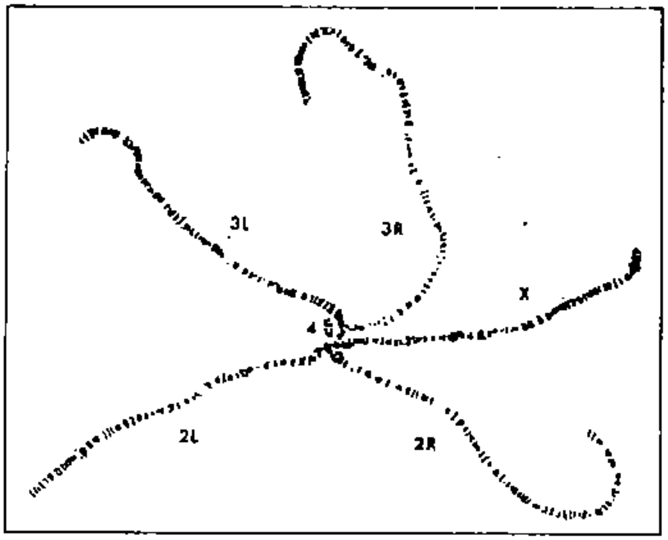
11. कवरस्लिप के किनारों को नेल पॉलिश से बंद कर दीजिए और संयुक्त माइक्रोस्कोप के नीचे देखिए ।

ड्रोसोफिला के लार्वों की लार ग्रंथियों से पौलीटिन क्रोमोसोम की निर्मिति बनाने की विधि

8.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

यदि लारग्रंथियाँ अच्छी तरह से स्क्वाश की गयी है तब कोशिकाएँ एक दूसरे से पृथक हो जाएँगी और पौलीटीन क्रोमोसोम अच्छी प्रकार फैल जाएंगे । यदि अभिरंजन ठीक से हुआ हो तो आपको पौलीटीन क्रोमोसोमों की पुरी लम्बाई में पट्टित रंग व्यवस्था दिखायी पड़ेगी । अपनी निर्मितियों की चित्र 8.1 में दिए गए आरेख से तुलना कीजिए ।

लार–ग्रंथियों के क्रोमोसोमों की अच्छी निर्मितियों में चार जोड़ी क्रोमोसोम दिखायी देंगे । चौथी जोड़ी के क्रोमोसोम बहुत छोटे हाते हैं जबकि शेष तीन जोड़े लम्बे होते हैं । पौलीटीन क्रोमोसोम के, जैसा आप को दिखायी देते हैं, आरोख बनाइए और उनके मुख्य लक्षणो को अपनी कापी मे लिखिये । LSE-03 आनुवंशिकी पाठ्यक्रम की इकाई 7 में विशाल पौलीटीन क्रोमोसोम के वर्णन को एक बार फिर से पढ़ लें ।



चित्र 8.1 : *ड्रोसोफिला* में पैलीटीन क्रोमोसोम

प्रयोग 9 आलेप तकनीक द्वारा स्त्रियों की मुख गुहा की एपिथीलियमी कोशिकाओ में लिंग-क्रोमैटिन देखना

रूपरेखा

9.1 प्रस्तावना
    उद्देश्य
9.2 आवश्यक सांमग्री
9.3 कार्यविधि
9.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

9.1 प्रस्तावना

मनुष्यों की दैहिक कोशिकाओं में 46 क्रामोसोम होते हैं । पुरूषों में 44 ऑटोसोम (अलिंग गुणसूत्र) होते हैं तथा 2 सेक्स क्रोमोसोम होते हैं जिन्हें X तथा Y (लिंग गुणसूत्र) कहते हैं ।

स्त्रियों में 44 ऑटोसोमों के अतिरिक्त दो X (लिंग) क्रोमोसोम होते हैं । इसका यह अर्थ हुआ कि स्त्रियों में पुरूषों की अपेक्षा X क्रोमोसोम के जीन-उत्पादों को बनाने की क्षमता दुगुनी होती है । मगर ऐसा नहीं होता । सभी स्तनधारियों की मादाओं की दैहिक कोशिकाओं में दो X-क्रोमोसोम में से एक X-क्रोमोसोम इंटरफेज़ कोशिकाओं में केंद्रक झिल्ली से चिपका रहता है । इस निष्क्रिय X- क्रोमोसोम को पहली बार, **बार एंव बर्टरैम** **(Barr and Bertram)** ने सन् 1949 में मादा बिल्लियों की तंत्रिका-कोशिकाओं में देखा था । निष्क्रिय X-क्रोमोसोम को **बार बॉडी** (barr body) भी कहते हैं, यह क्रामोसोम उस क्रियाविधि का प्रतिदर्श है जिसके द्वारा X-सहलग्न जीन उत्पादों की मात्रा-क्षतिपूर्ति होती है । इसका अर्थ हुआ कि मादाओं में भी दो X-क्रोमोसोम होने के बावजूद, उतने ही X-क्रोमोसोम जीन उत्पाद बनते हैं जितने कि नरों में । आलेप तकनीक के द्वारा स्त्रियों की मुखगुहा एपिथीलियमी कोशिकाओं में निष्क्रिय क्रोमोसोम अथवा लिंग-क्रोमैटिन को दर्शाया जा सकना सम्भव है ।

उद्देश्य

इस अभ्यास को करने के बाद आप :

- तरल ऊतकों के आलेप बना सकेंगे
- स्तनीय मादाओं की दैहिक कोशिकाओं में लिंग-क्रोमैटिन अथवा **बार बॉडी** दर्शा सकेंगे ।

9.2 आवश्यक सामग्री

1. स्पैचुला / दूथपिकें
2. स्लाइडें
3. कवरस्लिपें
4. जिम्सा अभिरंजक

5. ज़ाइलीन
6. 90% ऐल्कोहॉल तथा परिशुद्ध ऐल्कोहॉल
7. 6N HCl
8. संयुक्त माइक्रोस्कोप

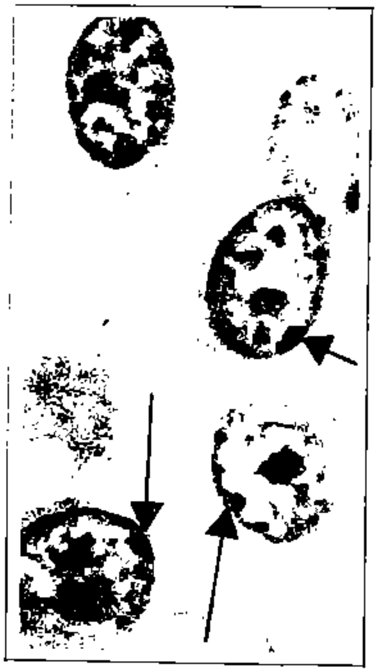
9.3 कार्यविधि

1. स्पैचुला अथवा टुथपिक के चौड़े सिरे का उपयोग करते हुए अपने गाल की भीतरी सतह पर खुरचिए। पहले-पहल की खुरचन को छोड़ दीजिए।
2. इसी चरण को दोहराइये तथा खुरचन को एक साफ स्लाइड पर ले लीजिए। निर्मिति को थोड़ी सी देर के लिए हवा में सुखा लीजिए।
3. स्लाइड को 90% ऐलकोहॉल से भरे एक कॉप्लिन जार में एक मिनट तक डुबो कर स्थिर कर लीजिए। उसके बाद स्लाइड को फिर से हवा में सुखा लीजिए।
4. स्लाइड को 6N HCl भरे एक कॉप्लिन जार में सामान्य ताप पर 10 मिनट तक रखिए। जलअपघटन के इस चरण से आलेप में से मैल निकल जाता है।
5. स्लाइड को आसुत जल से अच्छी तरह धोइए तथा फॉस्फेट से बफर किये हुए 4% जिम्सा अभिरंजक में 10 मिनट तक रखिए।
6. 10 मिनट बाद स्लाइड को थोड़ी सी देर के लिए जल में रखिए तथा उसके बाद उसे हवा में सुखा लीजिए।
7. स्लाइड को ज़ाइलीन में साफ (क्लीयर) करके DPX में माऊण्ट कीजिए। स्लाइड को माइक्रोस्कोप के नीचे रखकर बार बॉडी देखिए।

नोट : बार बॉडी को केवल मादाओ की शल्कीय एपिथीलियल कोशिकाओं की निर्मितियों में ही देखा जा सकता है। ऐसी ही एक निर्मिति नरों की मुखगुहा की एपिथीलियल कोशिकाओं की भी बनाइए ताकि तुलना की जा सके।

9.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

मादाओं से प्राप्त एपिथीलियमी कोशिकाओं में केंद्रक झिल्ली से लगा स्पष्ट एवं गहरा अभिरंजित होने वाला पिंड दिखायी देगा जैसा कि चित्र 9.1 में दिखाया गया है। अच्छा यह रहेगा कि निर्मिति को संयुक्त माइक्रोस्कोप के" ऑयल इमर्शन लेन्स "के नीचे देखा जाए जो कोशिका को 1000 गुना आवर्धित कर देता हैं। अन्यथा आप उच्च आवर्धन लेन्स के नीचे देख सकते है जो लगभग 400 गुना आवर्धन करता हैं।



चित्र 9.1 : बार्र बॉडी

प्रयोग 10 कोशिकाओं के कार्बनिक रचकों के गुणात्मक जैवरासायनिक परीक्षण

रूपरेखा

10.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
10.2 आवश्यक सामग्री
10.3 कार्बोहाइड्रेट
कार्बोहाइड्रेटों के सामान्य परीक्षण
मोनोसैकेराइडों के परीक्षण
पॉलिसैकेराइडों के परीक्षण
10.4 प्रोटीन
प्रोटीनों के परीक्षण
10.5 लिपिड
लिपिडों के परीक्षण

10.1 प्रस्तावना

कोशिका जैविकी पाठ्यक्रम (LSE-01) में आप कोशिका के विषय में तथा उसके बृहद्णुओं (macromolecules) अर्थात् कार्बोहाइड्रेटों, प्रोटीनों तथा लिपिडों के विषय में जान चुके हैं। ये बृहद्णु निश्चित क्रमों में जुड़े लघुतर मूल अणुओं के बने होते हैं। प्रोटीन ऐमिनो अम्लों के बने होते हैं, कार्बोहाइड्रेट शर्कराओं के, तथा उदासीन वसा ग्लिसरॉल एवं वसा अम्लों के बने होते हैं। इस प्रयोगशाला अभ्यास में हम कुछ ऐसे सरल परीक्षण करना सिखायेंगे जिनसे कोशिकाओं के कार्बनिक रचकों को पहचाना जा सकता है। इन अणुओं को पहचानने में विविध रसायनों तथा अभिकर्मकों का उपयोग किया जाता है, जिनके साथ इनकी विशिष्ट लक्षणिक अभिक्रियाओं के फलस्वरूप विशिष्ट रंग प्रकट होते है। यदि किसी अभिक्रिया में बताया गया रंग–परिवर्तन होता देखा जाता है, तब परीक्षण को पॉजिटिव कहा जाता है। विशिष्ट रंग प्रकट न होने पर परिणाम को नेगेटिव माना जाता है क्योंकि इससे पता चलता है कि विशिष्ट अणु विद्यमान नहीं हैं।

उद्देश्य

यह प्रयोग करने के बाद आप :

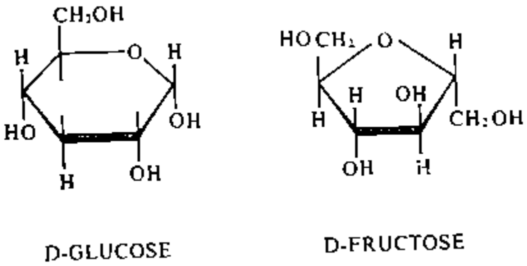
- कोशिका के मुख्य कार्बनिक रचकों का वर्णन कर सकेंगे और उनकी रासायनिक संरचनाओं को पहचान सकेंगे,
- कार्बोहाइड्रेटों, प्रोटीनों तथा लिपिडों के परीक्षणों के नाम लिख सकेंगे तथा उनका समूहन कर सकेंगे,
- ऐमिनो अम्लों, प्रोटीनों, कार्बोहाइड्रेटों तथा लिपिडों की पहचान के लिए साधारण परीक्षण कर सकेंगे, और
- पॉजिटिव तथा नेगेटिव परीक्षणों में विभेद कर सकेंगे।

10.2 सामग्री

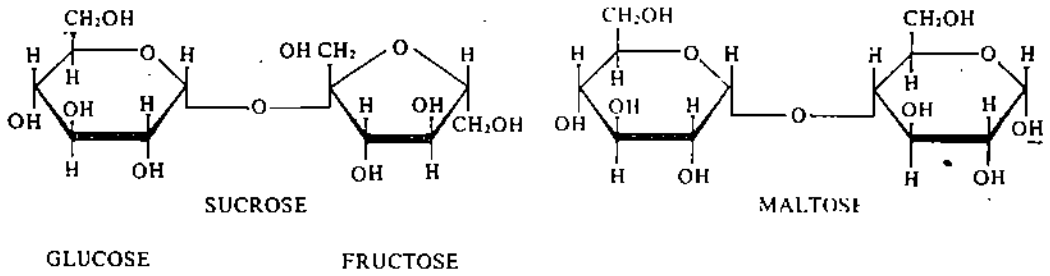
परखनलियाँ, परखनली–रैक, बुंसेन बर्नर, पाश्चर पिपेट, स्पैचुला, 2 ml की सिरिंज, 25 ml के मापन सिलिंडर, 5 तथा 10 ml के अंशांकित पिपेट, लिटमस पेपर

10.3 कार्बोहाइड्रेट

कार्बोहाइड्रेटों वर्ग में विविध प्रकार के मोनोसैकेराइड तथा डॉइसैकेराइड और पॉलिसैकेराइड अणु जैसे कि पौधों में स्टार्च तथा डेक्स्ट्रिन एवं प्राणियों में ग्लाइकोजन शामिल है। ग्लूकोस, गैलेक्टोस तथा फ़्रक्टोस मोनोसैकेराइडों के उदाहरण हैं (चित्र 10.1)। जिन शर्कराओं में मोनोसैकेराइडों की दो इकाइयाँ होती है, उन्हें डॉइसैकेराइड कहते हैं जैसे सुक्रोस, माल्टोस, और लेक्टोस (चित्र 10.2)। स्टॉर्च में इस प्रकार की सैकड़ों इकाइयां होती है। शर्करा, स्टार्च तथा ग्लाइकोजन कोशिकाओं के लिए ईंधन का काम करते हैं। सेल्युलोस पौधों का संरचनात्मक घटक होता है। ग्लूकोस सर्वाधिक पाया जाने वाला मोनोसैकेराइड है तथा जीवन प्रक्रियाओं के लिए बहुत ही महत्वपूर्ण है।



चित्र 10.1 : मोनोसैकेराइड



चित्र 10.2 : डॉइसैकेराइड

10.3.1 कार्बोहाइड्रों के सामान्य परीक्षण

अभिकर्मक तथा परीक्षण विलयन

स्टार्च विलयन, 0.5% ग्लूकोस, 1% ऐल्फा नेफ़्थाल अभिकर्मक,सलफ्यूरिक अम्ल, बेनेडिक्ट विलयन, सांद्रित HNO_3 फ़ीनाइल हाइड्रेज़ीन हाइड्रोक्लोराइड, सोडियम ऐसिटेट, सेलिवानॉफ़ अभिकर्मक, अयोडीन विलयन, 1% सुक्रोस विलयन, प्याज़ का रस, आलू का निष्कर्ष, मेंढक की जांघ की पेशी का निष्कर्ष, 2% फ़्रक्टोस विलयन, अंगूर।

प्रयोग 1 : तापन परीक्षण (Heating test)—दिए गए कार्बोहाइड्रेट की थोड़ी-सी मात्रा को गर्म कीजिए और देखिए कि वह झुलसने (काला होने) लगता है तथा उसमें से जलती शर्करा की गंध आती है। यदि नमूना घोल के रूप में हो, उसकी लगभग 1.0 ml मात्रा लीजिए और उसे इतना गर्म कीजिए कि वह सूख जाए। अधिक गर्म करने पर उसमें भी वही जली शक्कर की गंध आ‌ती।

प्रयोग 2 : मोलिश परीक्षण (Molisch test)—दिए गए कार्बोहाइड्रेटों के घोल की 2.0 ml मात्रा लीजिए तथा उसमें 1% ऐल्फ़ा नेफ़्थॉल विलयन की दो बूंदें मिलाइए। अब परखनली तिरछी करके पार्श्व के साथ-साथ लगभग 2 ml सलफ्यूरिक अम्ल बहुत सावधानी से डालिए। अपने प्रेक्षणों को लिखिए।

....

....

....

....

यह अभिक्रिया फ़रफ्यूरल व्युत्पन्न के बनने के कारण होती है। फ़रफ्यूरल कार्बोहाइड्रेटों पर अम्ल की क्रिया से बनता है। यह फ़रफ्यूरल ऐल्फ़ा नेफ्थॉल के साथ गर्म करने पर एक नील-लोहित (purple) रंग का सम्मिश्र पैदा करता है।

10.3.2 मोनोसैकेराइडों के लिए परीक्षण

प्रयोग 1 : विलेयता तथा pH परीक्षण—मोनोसैकेराइडों की अम्लीय अथवा क्षारीय प्रकृति का पता लगाने के लिए लिटमस पेपर को 1% ग्लूकोस घोल में डुबोइए (लाल और नीला लिटमस अलग-अलग) देखिए कि लिटमस पेपर के रंगों में कोई परिवर्तन होता है या नहीं। मोनोसैकेराइड उदासीन होते है। और उनसे दोनों प्रकार के लिटमस पेपरों के रंग में कोई परिवर्तन नहीं होता।

प्रयोग 2 : बेनेडिक्ट परीक्षण (Benedicts test)—अपचायी शर्कराओं के लिए यह परीक्षण कुल मिलाकर बहुत ही निष्कर्षकारी है और साथ ही अर्धमात्रात्मक भी (रंग अभिक्रया की तीव्रता के आधार पर इसके द्वारा अपचायी शर्करा की मात्रा का मोटा-मोटा अनुमान लग जाता है)। बेनेडिक्ट अभिकर्मक के साथ गर्म करने पर एक रंगदार अवक्षेप बनता है जो शर्करा के सांद्रण पर निर्भर होते हुए हरा, पीला अथवा लाल होता है। परीक्षण के दौरान होने वाली अभिक्रयाओं को सारांश में निम्नलिखित रूप में लिखा जा सकता है :

$$CuSO_4 + 2NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$

$$2Cu(OH)_2 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow Cu_2O + C_6H_{12}O_7 \text{ (ग्लूकोनिक अम्ल)} + 2H_2O$$

(क्यूप्रस ऑक्साइड—पीला, हरा या लाल अवक्षेप)।

अनअपचायी शर्कराएँ, जैसे कि सुक्रोस, अपचायी समूह न होने के कारण इस परीक्षण के द्वारा पाज़िटिव परिणाम नहीं देतीं।

4 परखनलियाँ लीजिए, परखनली (1) में 2 ml जल डालिए, परखली (2) में 2 ml प्याज़ का रस डालिए, परखली (3) में मेंढ़क की जांघ की पेशी का 2 ml निष्कर्ष डालिए, तथा परखनली (4) में ग्लूकोस विलयन की 2 ml मात्रा लीजिए। अब इन चारों

परखनलियों को एक साथ एक वाटर–वाथ में 3–5 मिनट तक गर्म कीजिए। देखिए कि कोई रंग–परिवर्तन होता है या नहीं तथा परखली की संख्या के अनुसार रंग–परिवर्तनों को रिकार्ड कीजिए।

प्रत्येक परखली में लगभग 3 ml बेनेडिक्ट अभिकर्मक डालिए और लगभग 3–5 मिनट तक गर्म कीजिए। रंग–परिवर्तनों को नीचे दी गयी तालिका में रिकार्ड कीजिए।

बेनेडिक्ट परीक्षण

परीक्षण विलयन	गर्म करने के बाद रंग	परिणाम
जल		
प्याज़ का रस		
मेंढक की जाघ की पेशी का निष्कर्ष		
ग्लूकोस		

प्रयोग 3 । ओसाज़ोन परीक्षण (Osazone test)—एक परखनली में 3 ml ग्लूकोस या परीक्षण नमूने को लीजिए तथा उसमें सावधानी से 10 बूंद सांद्रित नाइट्रिक अम्ल डालिए, फिर इसमें 200 mg फ़ीनाइल हाइड्रेज़ीन हाइड्रोक्लोराइड मिलाइए तथा लगभग दुगुनी मात्रा में सोडियम ऐसिटेट मिलाइए। थोड़ा गर्म करके घोलने के बाद परखनली को खौलते वाटर–बाथ में लगभग एक घंटे तक रखिए (ध्यान रहे कि इस अवधि में पानी का खौलना जारी रहे)। परखनली को निकाल लीजिए तथा सामान्य तापमान पर उसे सारी रात तथा अगले दिन तक धीरे–धीरे ठंडा होने दीजिए। फ़ीनाइल ग्लूकोसाज़ोन का एक पीला क्रिस्टलीय अवक्षेप प्रकट हो जाता है। कुछ–एक क्रिस्टलों को सावधानी से एक स्लाइड पर रखिए और माइक्रोस्कोप में देखिए। सूक्ष्म सुइयों जैसे क्रिस्टल पंखे जैसी आकृति में, गट्ठों में अथवा सलीबों की शक्ल में व्यवस्थित दिखाई देंगे। क्रिस्टलों का व्यवस्था आरेख बनाइए। (ग्लूकोस के ओसाज़ोन के क्रिस्टल तभी बनने लगते हैं, जब वह गर्म होता है)। ग्लूकोस, फ्रक्टोस तथा मैनोस के ओसाज़ोन समान होते हैं, क्योंकि इन तीनों की आणविक संरचना समान होती है।

प्रयोग 4 । फ्रक्टोस (एक कीटोहेक्सोस) का परीक्षण— सेलिवानॉफ़ परीक्षण (Seliwanoffs test)—कोई भी कीटो हैक्सोस जैसे कि फ्रक्टोस धात्विक ऑक्साइडों का अपचयन कर देता है, क्योंकि उसमें एक CH_2OHCO समूह होता है। (चित्र 10.1) फ्रक्टोस शर्करा फलों में होती है। अंगूरों को निचोड़ कर उनका रस एक परखनली में ले लीजिए। यह हमारा परीक्षण विलयन है।

सेलिवानॉफ़ अभिकर्मक, HCl में 0.5% रिसर्सिनॉल का बना होता है। सेलिवानॉफ़ अभिकर्मक के लगभग 4.0 ml में एक बूंद फ्रक्टोस अथवा परीक्षण घोल की डालिए तथा उसे बस उबालने तक केवल लगभग 15 सेकेंड के लिए गर्म कीजिए। एक लाल रंग प्रकट होगा, जिसमें भूरा अवक्षेप भी बना हो सकता है या न भी बना हो सकता है। देर तक मत उबलने दीजिए क्योंकि देर तक उबलने पर ग्लूकोस तथा मॉल्टोस भी पाज़िटिव परीक्षण देते हैं। यह परीक्षण सुक्रोस भी प्रकट करता है, जो गर्म करने पर जल अपघटित होकर फ्रक्टोस के अणु का मोचन करता है, आप जनते होगें कि फ्रक्टोस सुक्रोस का एक घटक है।

पॉलिसैकेराइडों के लिए परीक्षण

क) स्टार्च

स्टार्च एक पॉलिसैकेराइड है, जो ग्लूकोस इकाइयों के परस्पर जुड़ने से बनता है और इन इकाइयों का जुड़ना 1, 4 ग्लाइकोसिडिक बंधनों के द्वारा होता है। स्टार्च पौधों में कार्बोहाइड्रेटों का संचयन स्वरूप है।

(ख) स्टार्च का घोल बनाना

स्टार्च ठंडे जल में अघुलनशील है। 100 ml आसुत जल को हल्का-सा सहनीय गर्म कर लीजिए। इसमें 1 gm स्टार्च पाऊडर डालिए। कांच की शलाखा से हिला कर घोलिए। इस स्टार्च के घोल को निम्नलिखित परीक्षणों के लिए इस्तेमाल किया जा सकता है। स्टार्च के घोल का बेनेडिक्ट परीक्षण तथा मोलिश परीक्षण कीजिए।

आयोडीन परीक्षण

स्टार्च के घोल अथवा परीक्षण घोल की 2 ml मात्रा लेकर उसमें तीन-चार बूंदें आयोडीन घोल की डालिए। एक गहरा नीला रंग बन जाता है, जो पॉलिआयोडाइड सम्मिश्र का होता है। यह रंग गर्म करने पर गायब हो जाता तथा ठंडा करने पर पुनः प्रकट हो जाता है।

स्टार्च के परीक्षण

	आलू	प्याज़
बेनेडिक्ट परीक्षण		
मोलिश परीक्षण		
आयोडीन परीक्षण		

अपने प्रेक्षणों को पॉजिटिव (+) तथा नेगेटिव (-) चिन्हों के रूप में रिकार्ड कीजिए। बेनेडिक्ट अभिकर्मक से स्टार्च का अपचय नहीं होता, परंतु मोलिश अभिकर्मक से पॉजिटिव परीक्षण होता है। इस पॉजिटिव परीक्षण का कारण है फ़रफ्यूरलों का बनना।

ख) ग्लाइकोजन

यह प्राणियों में कार्बोहाइड्रेटों का संचयी रूप है। यह भी ग्लूकोस इकाइयों से बना एक पॉलिसैकेराइड है, जिसमें विशाखित शृंखलाएं होती हैं।

प्रयोग 1। मेढक की जांघ की पेशी को लेकर उसे 2 या 3 ml पानी के साथ खरल तथा मूसली द्वारा पीसिए। फ़िल्टर करके फ़िल्ट्रेट को परीक्षण में उपयोग कीजिए। आप चाहें तो बाज़ार में बिकने वाले ग्लाइकोजन का ठंडे पानी में घोल बना सकते हैं। उबालने पर भी इसका एक धुंधला-सा घोल बनता है। ग्लाइकोजन की 1 ml मात्रा को लेकर उसे आयोडीन घोल से परखिए। इससे एक गहरा बैंगनी लाल रंग आ जाता है। ग्लाइकोजन का स्रोत क्या है, इस पर निर्भर करते हुए आयोडीन घोल के साथ ग्लाइकोज़न के अलग-अलग रंग बनते हैं। पेशी-ग्लाइकोज़न से बैंगनी भूरा रंग आता है,

यकृत–ग्लाइकोजन से लाल रंग तथा अकशेरूकियों के ग्लाइकोजन से पीला भूरा रंग आता है।

10.4 प्रोटीन

जैसा कि आप जानते ही हैं, प्रोटीन जन्तुओं तथा पौधों की कोशिकाओं के महत्वपूर्ण बृहद्आण्विक रचक होते हैं। ये अत्यधिक सम्मिश्र नाइट्रोजनी यौगिक होते हैं, जिनका आण्विक भार बहुत ज़्यादा होता है। ये ऐमिनो अम्ल की इकाइयों से बने होते है। नाइट्रोजन के अतिरिक्त कुछ प्रोटीनों में फ़ॉस्फ़ोरस तथा सल्फ़र भी होता हैं। निम्न प्रयोग में हम प्रोटीनों समूह के परीक्षण करेंगे तथा कुछ ऐमिनों अम्लों के रंग–परीक्षण करेंगे।

प्रोटीनों के परीक्षण

परीक्षण घोलों के अभिकर्मक

अण्डे का एल्बूमेन जिसे जल की बराबर मात्रा से तनु कर लिया गया हो, एथानॉल, बाइयूरेट अभिकर्मक, सांद्रित नाइट्रिक अम्ल, 10% सोडियम हाइड्रॉक्साइड का घोल, मिल्लन का अभिकर्मक (Millon's reagent)।

प्रयोग 1 : अवक्षेपण परीक्षण (Precipitation test)—2 ml एथानॉल लेकर उसमें प्रोटीन के घोल की कुछ बूंदें डालिए। आप देखेंगे कि प्रोटीन का अवक्षेपण हो जाता हैं। प्रोटीनों का और भी कई रसायनों के साथ अवक्षेपण हो जाता है, जैसे की भारी धातुओं के लवणों से, फ़ॉस्फ़ोटंग्स्टिक अम्ल, टैनिक अम्ल तथा सल्फ़ोसेलिसिलिक अम्ल जैसे ऐल्कैलॉइडल अभिकर्मकों से, खनिज अम्लों से तथा सांद्रित लवण घोलों से।

प्रयोग 2 बाइयूरेट परीक्षण (Biuret test)—जिन प्रोटीनो में दो या अधिक ऐमिनों अम्ल होते हैं, वे बाइयूरेट अभिकर्मक के साथ पॉजिटिव परीक्षण देते हैं। बाइयूरेट अभिकर्मक में सोडियम अथवा पोटैशियम हाइड्रॉक्साइड (NaOH अथवा KOH) का सांद्र घोल होता है तथा कॉपर सल्फ़ेट का बहुत ही तनु घोल होता है। जब कॉपर सल्फ़ेट के घोल और सोडियम हाइड्रॉक्साइड को मिलाया जाता हैं, तो प्रोटीनों की प्रकृति पर निर्भर करते हुए या तो बैंगनी रंग बनता है या गुलाबी रंग। पेप्टाइड संधियों से युक्त ग्लॉइकोप्रोटीन भी पॉजिटिव रंग–अभिक्रिया देते हैं। बाइयूरेट, यूरिया से व्युत्पन्न यौगिक है जिसमें – CONH समूह भी होता है, और यह पॉजिटिव परिणाम देता है।

5% 6 ml सोडियम हाइड्रॉक्साइड के घोल में दो बूंदें 1% कॉपर सल्फ़ेट के घोल की डालें और अच्छी तरह मिला लें। अब इस अभिकर्मक को दो भागों में बांट लीजिए। एक भाग में 3 ml प्रोटीन का घोल डालिए तथा दूसरे भाग में 3 ml पानी डालिए, यह दूसरा भाग कंट्रोल का कार्य करेगा। परखनलियों को हिला–हिलाकर उनके भीतर के पदार्थ को अच्छी तरह मिला लीजिए। अपने प्रेक्षणों को लिखिए।

....

....

रीक्षण घोल से कॉपर सल्फ़ेट का रंग बैंगनी अथवा गुलाबी में बदल जाता है जो इस बात र निर्भर है कि परीक्षण पदार्थ प्रोटीन है अथवा कोई पॉलिपेप्टाइड। पॉलिपेप्टाइड के ामले में रंग परिवर्तन गुलावी में होता है।

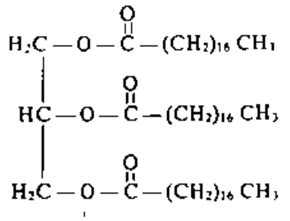
प्रयोग 3 : ज़ैंथोप्रोटीक परीक्षण (Xanthoproteic test)—जिन ऐमिनो अम्लों में उनके R समूह में कोई ऐरोमैटिक वलय होता है, वे ज़ैंथोपोटीइक परीक्षण में पॉजिटिव परिणाम देते है। फ़ीनाइलऐलेनिन, टाइरोसीन तथा ट्रिप्टोफ़ैन जैसा ऐमिनो अम्ल इसी श्रेणी में आते हैं।

एक परखनली में 3 ml प्रोटीन का घोल लेकर उसमें 1 ml सांद्र नाइट्रिक अम्ल मिलाइए। बने हुए सफेद अवक्षेप को लौ के ऊपर उबाल कर घोल लीजिए। कुछ विशिष्ट ऐमिनो अम्लों के R वलय में विद्यमान ऐरोमैटिक वलय का नाइट्रेशन हो जाता है और घोल का रंग पीला हो जाता है। ठंडा करके, परखनली के एक पार्श्व से उसमें 10% NaOH घोल मिलाइए। रंगदार आयनों के बन जाने से परखनली के भीतर के मिश्रण का रंग गहरा पीला या फिर नारंगी हो जाता है। साथ ही साथ 3 ml आसुत जल (distilled water) लेकर एक कंट्रोल प्रयोग भी करें।

प्रयोग 4 : मिल्लन का परीक्षण (Millon's test)— परीक्षण घोल को 1 ml मात्रा लेकर उसमें लगभग 1 ml मिल्लन का अभिकर्मक मिलाइए। एक पीलापन लिए हुए सफ़ेद अवक्षेप बन जाता है। सोडियम नाइट्रेट के घोल की लगभग पाँच बूंदें डालिए। हल्का–सा गर्म करने पर अवक्षेप " सामन गुलाबी " रंग का हो जाता है। साथ–ही–साथ 1 ml जल के साथ कंट्रोल प्रयोग भी कीजिए।

मिल्लन के अभिकर्मक में मरक्यूरिक सल्फ़ेट होता है। मर्करी (पारे) के द्वारा प्रोटीन अवक्षेपित हो जाता है और यह मर्करी ऐमिनो अम्ल टाइरोसीन के साथ जुड़ जाता है। नाइट्रस अम्ल के साथ क्रिया करने पर यह यौगिक लाल हो जाता है।

10.5 लिपिड



(चित्र 10.3) : ट्राइग्लिसराइड अणु

लिपिड विविध रासायनिक प्रकृति के निम्न गलनांकों वाले यौगिक होते हैं। इनमें एक चिकनाहट–सी होती है और वसा–विलायकों में जैसे कि ईथर, क्लोरोफ़ार्म आदि में घुलन–शील होते हैं मगर यह पानी में नही घुलते। प्रतिरूपतः वसा ट्राइग्लिसराइड के रूप में रचना की दृष्टि से एक अणु ग्लिसरॉल तथा तीन अणु वसा अम्लों की बनी होती है (चित्र 10.3)।

10.5.1 लिपिडों के परीक्षण

परीक्षण घोलों के अभिकर्मक : मूंगफली का तेल, ईथर, पोटैशियम बाइसल्फेट, सुडान III विलयन, सांद्र सल्फ्यूरिक अम्ल, क्लोरोफ़ार्म, ऐसिटिक एनहाईड्राइड।

घुलनशीलता का परीक्षण

प्रयोग 1—एक सूखी परखनली में ईथर लेकर उसमे तेल की थोडी सी बूंदे डालिए तथा परखनली को हिलाइए। एक स्वच्छ घोल बन जायेगा। इस प्रयोग को पानी के साथ दोहराइए तथा परिणामों को तालिका में लिखिए।

	प्रेक्षण	निष्कर्ष
तेल		
जल		

योग 2 : ग्लिसरॉल की पहचान— एक mg परीक्षण सामग्री को एक सूखी परखनली में खिए। इसमें लगभग 100 mg चूर्ण किया हुआ पोटैशियम बाइसल्फ़ेट मिलाइए। पहले तो ीमे से गरम कीजिए उसके बाद अधिक गर्म कीजिए। ग्लिसरॉल निकलता है तथा एक ीव्र गंध वाला आंखों से पानी निकालने वाला असंतृप्त ऐल्डिहाइड में बदल जाता है जिसे क्रोलिइन कहते हैं।

योग 3 : सुडान III परीक्षण (Sudan III test)—एक परखनली में तेल (0.5 ml) तथा तल की बराबर मात्रा लीजिए। उसमें 2–3 बूंदें सुडान III अभिरंजक डालकर हेलाइए। पाँच मिनट तक ऐसे ही रख दीजिए। जल और तेल की परतें पृथक् हो जाती ं तथा वसा की परत लाल हो जाती हैं।

योग 4 : कोलेस्टेरॉल का परीक्षण— थोड़े से कोलेस्टेरॉल पाऊडर को लगभग 4.0 ml लोरोफ़ार्म में घोलिए तथा इस घोल को दो परखनलियों में बांट लीजिए। एक परखनली में ml सांद्र सल्फ़्यूरिक अम्ल मिलाकर आहिस्ता से हिलाइए। क्लोराफ़ार्म की ऊपरी परत ाल हो जाएगी। सल्फ़्यूरिक अम्ल की निचली परत पीले से हरी हो जाती है। पृथक रखनली के दूसरे आधे भाग में लगभग 10 बूंदें ऐसिटिक ऐनहाइड्राइड की तथा 2 बूंदें सांद्र ल्फ़्यूरिक अम्ल की मिलाकर हिलाइए। घोल का रंग गहरा नीला हो जाता हैं।

ावधानियाँ

- रसायनों का सावधानी से उपयोग करना चाहिए। रसायन कपड़ों तथा बदन पर नहीं गिरने चाहिए।
- सभी विलायकों को, काम करने की बेंच पर कसकर बंद करके रखना चाहिए।
- ईथर, क्लोरोफ़ार्म जैसे कार्बनिक विलायकों को कभी भी सीधे बर्नर की लौ पर गर्म नहीं करना चाहिए। ये अति ज्वलनशील होते हों।
- अम्लों से भरे पात्रों में जल कभी नहीं मिलाना चाहिए, इससे उनमें तीव्र अभिक्रिया होती है और वे छिटक कर बिखरते हैं। घोल में अम्ल को बहुत धीरे–धीरे तथा परखनली को तिरछा करके यानि पार्श्व से मिलाना चाहिए।
- जब भी परखनली में आप किसी घोल को गरम कर रहे हों, तो परखनली का मुंह कभी भी अपनी तरफ़ मत रखिए, उसे अपने से दूर रखिए।
- जब भी परखनली में लिए गए किसी घोल को बर्नर के ऊपर गर्म करना हो, तो परखनली कभी भी एक–तिहाई (1/3) से अधिक नहीं भरनी चाहिए।
- यदि कोई अभिकर्मक कभी आंख या चेहरे पर आ गिरे, तो तुरंत पानी से धोइए।

प्रयोग 12 एंज़ाइमी अभिक्रियाओं का अध्ययन

रूपरेखा

12.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
12.2 ऑक्सीडोरिडक्टेज़
जैन्थीन ऑक्सीडेज़
फ़ीनोलेज़
डिहाइड्रोजेनेज़
12.3 हाइड्रोलेज़
लार एमिलेज़

12.1 प्रस्तावना

एंज़ाइम ऐसे प्रोटीन है जो कोशिका में किसी रासायनिक अभिक्रिया की गति बढ़ा देते है लेकिन अभिक्रिया में शामिल नहीं होते। दूसरे शब्दों में एंज़ाइम जैविक उत्प्रेरक है। एंजाइमी अभिक्रियाए बड़ी विशिष्ट होती है। कोई एंजाइम प्रायः मात्र एक ही रासायनिक क्रिया को उत्प्रेरित करता है अथवा ज्यादा से ज्यादा बहुत अधिक परस्पर संबद्ध थोड़ी सी क्रियाओं को उत्प्रेरित करता हैं।

विभिन्न रासायनिक अभिक्रियाओं को उत्प्रेरित करने के आधार पर एंज़ाइमों को निम्न प्रमुख वर्गों में बांटा जा सकता है –

सारणी 12.1 : एंज़ाइमों के प्रमुख वर्ग तथा उपवर्ग

वर्ग तथा उपवर्ग	रासायनिक अभिक्रिया का प्रकार
ऑक्सीडोरिडक्टेज़ ऑक्सीडेज़ रिडक्टेज़ डिहाइड्रोजेनेज़	इलेक्ट्रॉनों को हटाते और जोड़ते हैं अथवा इलेक्ट्रॉनों और हाइड्रोजन दोनों को हटाते और जोड़ते हैं। ऑक्सीडेज़ इलेक्ट्रॉनों और हाइड्रोजन को केवल आक्सीजन (O_2) में स्थान्तरित करते हैं।
ट्रांसफरेज़ काइनेज़	रासायनिक समूहों को हटाते हैं। खास तौर से ATP से फ़ॉस्फ़ेट समूह को हटाते हैं।
हाइड्रोलेज़ प्रोटीनेज़ राइबोन्यूक्लिएज़ डिऑक्सी– राइबोन्यूक्लिएज़ लाइपेज़	पानी को जोड़कर रासायनिक बंधों को तोड़ते है। (जैसे ऐमाइड, एस्टर, ग्लाइकोसाइड आदि) प्रोटीनों का जलापघटन करते है। (पेप्टाइड बंध) आर.एन.ए का जलापघटन करते हैं। (फ़्रॉस्फेट एस्टर बंध) डी. एन. ए. का जलापघटन करते हैं। (फ़ॉस्फ़ेट एस्टर बंध) बसाओ का जलापघटन करते हैं। (एस्टर बंध)
लाऐज़	एक रासायनिक समूह को निकाल कर द्वि–आंबध बनाते हैं।
आइसोमरेज़	अणु के परमाणुओं को पुनर्व्यवस्थित करके संरचनात्मक समावयवी (isomer) बनाते हैं।

लगातार

लिगेज़ या सिंथेटेज़	ATP अथवा अन्य न्यूक्लिओसाइड ट्राइफॉस्फेट के जलापघटन से दो अणुओं को जोड़ते हैं ।
पॉलिमरेज़	उप एकलकें (monomer) को जोड़कर डी. एन. ए. और आर. एन. ए. जैसे बहुलक (polymer) बनाते हैं ।

सभी प्रकार के एंज़ाइमों का प्रयोगशाला (विद्यार्थियों के लिए) के सामान्य तरीकों से परीक्षण नहीं हो सकता । ऑक्सीडोरिडक्टेज़ और हाइड्रोलेज़ एंज़ाइमों का प्रयोगशाला में परीक्षण सरल है इसलिए इस प्रयोगशाला पाठ्यक्रम में इन्हीं की अभिक्रियाओं का अध्ययन किया जाएगा ।

उद्देश्य

एंज़ाइमी अभिक्रियाओं के प्रायोगिक अध्ययन के बाद आप :

- ज़ैन्थीन ऑक्सीडेज़, फीनोलेज़ काम्पलैक्स, कैटालेज़, अवायु डिहाइड्रोजेनेज और एमिलेज़ की अभिक्रियाओं का प्रदर्शन कर सकेंगे ।
- इन एंज़ाइमों के अध्ययन से जुड़ी रासायनिक अभिक्रियाओं को समझा सकेंगे ।

12.2 ऑक्सीडोरिडक्टेज़

ये सबस्ट्रेट में O_2 का योग या इलेक्ट्रॉनों के हटाए जाने की अभिक्रिया को उत्प्रेरित करते हैं और इस प्रकार ऑक्सीकरण अथवा अपचयन (reduction) में सहायक होते हैं । संभवतः आप जानते होंगे कि ऑक्सीकरण अभिक्रियाएं कोशिका में अपचय (catabolism) के समय और अपचयन क्रियाएं उपचय (anabolism) के दौरान होती हैं । ऑक्सीडोरिडक्टेज एंज़ाइमों को उनकी अभिक्रिया के आधार पर विभिन्न समूहों में बांटा जा सकता है ।

1) ऐसे एंज़ाइम, जो अपनी अभिक्रिया में ऑक्सीजन को सीधे शामिल कर लेते हैं ।

2) ऐसे एंज़ाइम जो सीधे ऑक्सीजन को शामिल नहीं करते परन्तु विभिन्न वाहकों द्वारा जैसे कि श्वसन की इलेक्ट्रॉन अंतरण शृंखला के साइटोक्रोमों के जरिए इलेक्ट्रॉनों का अंतरण ऑक्सीजन को करके पानी बनाते हैं । इन्हें अवायु डिहाइड्रोजेनेज़ कहते हैं ।

1. ऑक्सीजन को सीधे शामिल कर लेने वाले एंज़ाइम

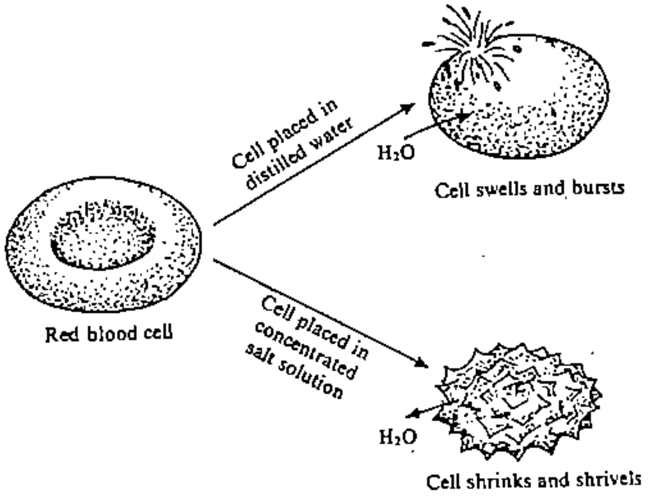
i) सबस्ट्रेट से ऑक्सीजन को दो से चार तक इलेक्ट्रॉनो का अंतरण करने वाले एंज़ाइम ऑक्सीडेज़ कहलाते हैं जैसा निम्न क्रिया से स्पष्ट है –

$$2H^+ + 2e^- + O_2 \longrightarrow H_2O_2$$
$$4H^+ + 4e^- + O_2 \longrightarrow 2H_2O$$

साइटोक्रोम ऑक्सीडेज़ इसका उदाहरण है जो श्वसन की इलेक्ट्रॉन अंतरण श्रृंखला में साइटोक्रोमों (Fe^{2+}) का ऑक्सीकरण करते है । इस वर्ग के कुछ एंज़ाइम इलेक्ट्रॉनों का अंतरण मेथिलीन ब्ल्यू जैसे रंजकों को कर सकते हैं ।

ii) मिश्रित प्रकार्य करने वाले ऑक्सीडेज एंज़ाइम, जो ऑक्सीजन के एक परमाणु को सबस्ट्रेट में शामिल कर देते हैं । दूसरा आक्सीजन का परमाणु इलेक्ट्रॉन दाताओ, जैसे

अब परखनली संख्या 1 में रक्त की 3 बूंदे डालें। बूंदे डालने के तुरंत बाद अंगूठा परखनली के मुख पर रखें। परखनली को आहिस्ता से पलट कर उलटा करें। अब सीधा कर पन्ने की पृष्ठभूमि में तुरंत रखें और 10 मिनट बाद देखें।



चित्र 11.5 : रक्त विसरण और कुंठदंतन

बोध प्रश्न 4

क) क्या लिखा हुआ तुरंत देखने पर पढ़ने योग्य नजर आने लगता है ?

....

ख) क्या लिखा हुआ दस मिनट बाद पढ़ने योग्य नजर आता है ? अगर हां तो क्यों ?

....

....

....

अब यही प्रक्रिया अन्य परखनलियों के विलयन के साथ करें और निम्न प्रश्नों के उत्तर दें।

ग) कौन से प्रायोगिक विलयन रक्त कोशिका के प्लैज़्मा की तुलना में अल्पपरासारी, अतिपरासारी और समपरासारी हैं ?

....

घ) अगर यह परिणाम माइक्रोस्कोप से देखा जाए तो कोशिकाओं की स्थिति कैसी दिखेगी ?

....

....

ङ.) रोगी के शरीर में दवा पहुँचाने के लिए निम्न में से कौन से विलयन का उपयोग करेंगे,

क) अल्पपरासारी

ख) अतिपरासारी

ग) समपरासारी

च) निम्न कथनों में सही विकल्प चुने

क) समुद्री जीव अपने पर्यावरण में (आयन/पानी) मुक्त करते है और (आयन/पानी) प्राप्त करते है ।

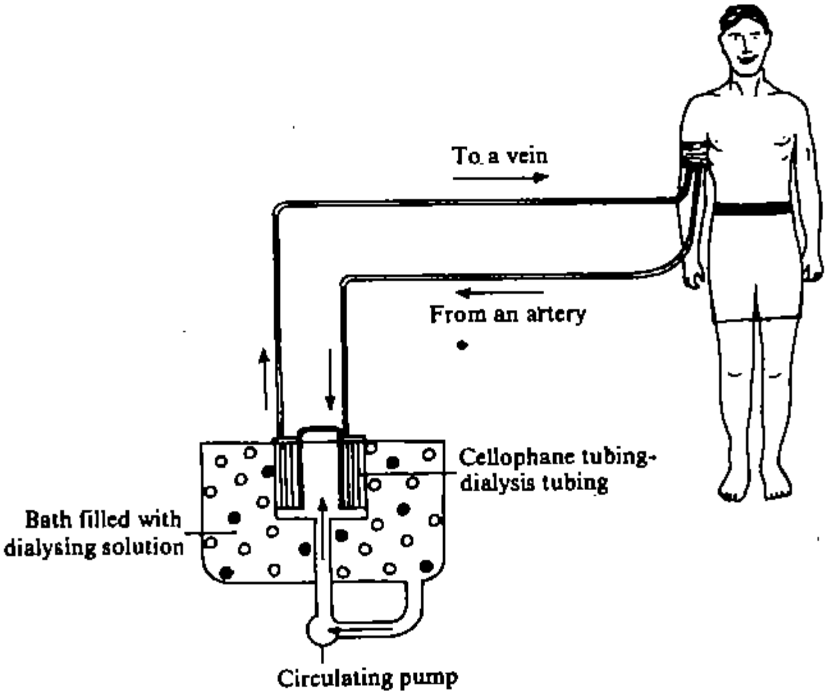
ख) अलवण जलीय प्राणी बाहर से पानी (लेते/निकालते) हैं ।

11.3.4 अपोहन

इस प्रक्रिया का तात्पर्य झिल्ली से, पानी के अलावा आयनों और छोटे अणुओं की गति से है । ऐसी झिल्ली को अपोहन झिल्ली (dialysing membrane) कहते हैं । कोशिकाओ की झिल्लियां ऐसी ही होती हैं ।

टिप्पणी : आपके काउंसलर अपोहन पर प्रयोग दिखा सकते है ।

आप जानते होंगे कि दोनों गुर्दे बेकार हो जाने पर रोगी को अपोहन यानि डायलिसिस पर रखते हैं । डायलिसिस उपकरण एक कृत्रिम गुर्दे की तरह काम करता है । किसी भुजा की धमनी से रक्त को अपोहन विलयन (dialysing solution) में डूबी अपोहन नलिका में प्रवाहित करते हैं । यहां रक्त की अशुद्धियां विलयन में आ जाती हैं और यह रक्त भुजा की शिरा में लौट जाता है ।



चित्र 11.6 : कृत्रिम गुर्दा रक्त को छानने के लिए डायलिसिस नलिका का इस्तेमाल करता है । रोगी की भुजा की धमनी से रक्त सेलोफेन की अपोहन नलिका में पंप की जाती है जो विशेष अपोहन विलयन में डूबी होती है । अशुद्धियां रक्त से निकलकर अपोहन विलयन में चली जाती है । शुद्ध रक्त भुजा की एक शिरा में पहुँचा दिया जाता है ।

गड्ढा संख्या	यौगिक समूह	गति करने वाले समूह	इस समूह का लगभग अणु भार
1.	1 M NaCl	Cl^-	35
2.	1 M KBr	Br^-	80
3.	1 M $(K_3 (Fe(CN)_6)$	$Fe(CN)_6^{3-}$	212
4.	1 M $AgNO_3$	NO_3	62

यौगिक डालने के तुरंत बाद प्रत्येक गड्ढे का व्यास नापें। फिर एक घंटे तथा दो घंटे के बाद व्यास नापें।

बोध प्रश्न 2

क) कौन सा अभिगामी समूह सबसे ज्यादा तेज गति करता है ?

....

ख) कौन सा समूह सबसे कम गति करता है ?

....

ग) अभिगामी समूह के अणुभार और उनके विसरण की दर में क्या संबंध है ?

....

....

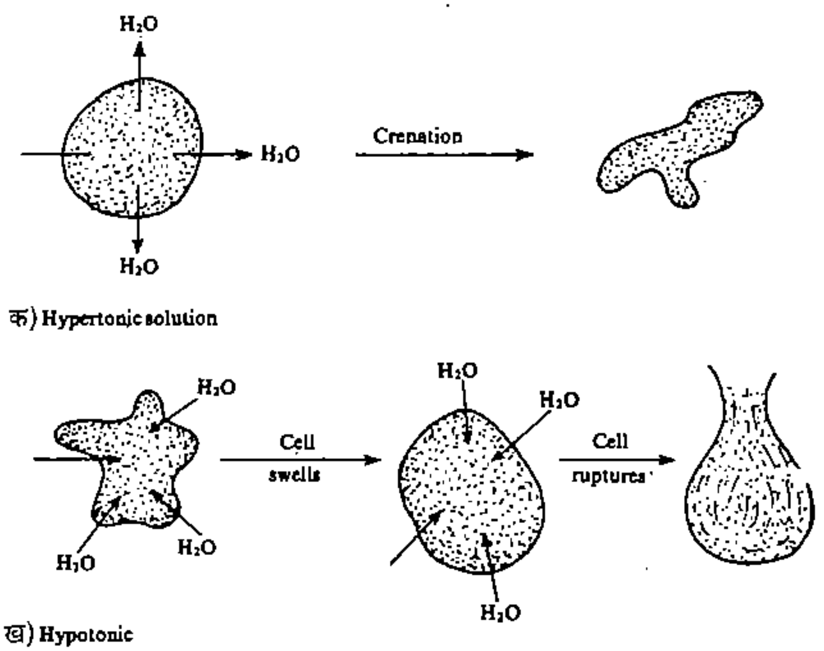
....

....

11.3 परासरण

अधिकांश अणु मलमल या पनीर छानने वाले कपड़े (cheese cloth) के आर पार जा सकते हैं परन्तु प्लैज़्मा झिल्ली से कुछ ही अणु कोशिका में और कोशिका से बाहर विसरित हो सकते हैं क्योंकि यह अर्द्धपारगम्य झिल्ली होती है। परासरण की परिघटना एक विशेष प्रकार का विसरण है। इस प्रक्रिया में विलायक के अणु अर्द्ध पारगम्य झिल्ली से उच्च सांद्रता वाले क्षेत्र से कम सांद्रता वाले क्षेत्र में गति करते हैं। क्योंकि जैव पदार्थों में पानी ही सर्वव्यापक विलायक होता है अतः इनमें परासरण का तात्पर्य पानी के विसरण से ही होता है। किसी कोशिका में द्रव का अनुपात आस पास के वातावरण से कम, ज्यादा अथवा समान हो सकता है। अगर कोशिका के आस पास समान सांद्रता का **(समपरासारी–isotonic)** विलयन हो तो पानी की नेट गति नहीं होगी। अगर कोशिका के बाहर विलयन में विलेय अणुओं की सांद्रता कम होगी (अर्थात् यह **अल्पपरासारी** (hypotonic) विलयन हो) तो कोशिका में पानी का नेट प्रवाह होगा। इससे कोशिका फूलने लगेगी और अंत में फट जाएगी। कोशिका से कुल मिलाकर बाहर की ओर पानी का प्रवाह तब होता है जब उसके चारों ओर जो घोल है उसमें विलेय अणुओं की सांद्रता कोशिका से अधिक हो, अर्थात् यह **अतिपरासारी** (hypertonic) विलयन हो। इस स्थिति में पानी के बाहर निकलने

से कोशिका सिकुड जाएगी । पानी के निकल जाने से कोशिका के सिकुडने को कुंठदंतन (crenation) कहते हैं । इस प्रक्रिया को द्रव्य कुंचन (plasmolysis) कहते हैं ।



चित्र 11.3 : कोशिका में परासरण । क) अगर कोशिका अल्पपरासारी विलयन से घिरी होती है तो यह फट जाती है । ख) अगर कोशिका अतिपरासारी विलयन से घिरी है तो क्रेनेशन (crenation) हो जाता है

अब आप जीवद्रव्य कुंचन, जीव द्रव्य विकुंचन और रूधिरलयन का अध्ययन करेंगे ।

11.3.1 जीवद्रव्य कुंचन

सामग्री

लाल प्याज़ का शल्क कंद

माइक्रोस्कोप

माइक्रोस्कोप की स्लाइडें

कवर स्लिप

बीकर

दो ड्रॉपर

ब्लेड

फ़िल्टर पेपर

टिशु पेपर

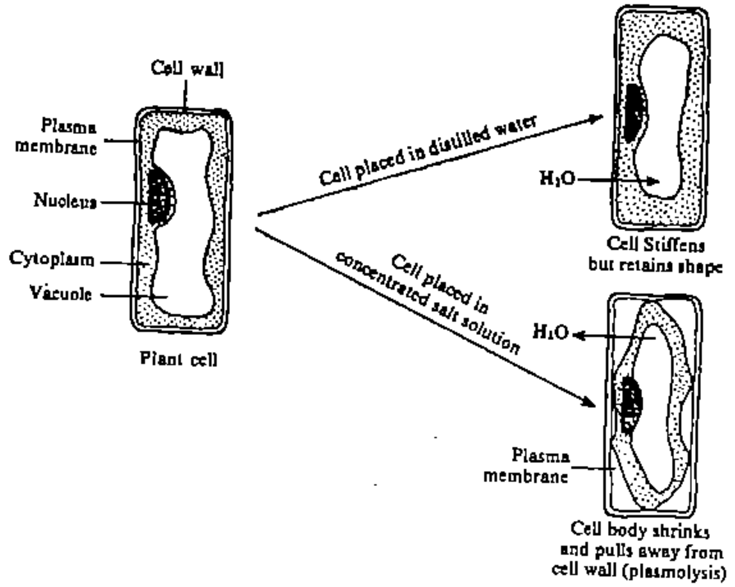
10% और 20% सुक्रोज का 5-5 ml विलयन

विधि

रसीले प्याज़ की एक परत लें । बाह्यत्वचा को छील लें या इसके समांतर एक पतला टुकड़ा काटें । करीब दो मिलीमीटर का वर्गाकार टुकड़ा तेज ब्लेड से काट कर स्लाइड पर रखें । इस टुकड़े को पानी की कुछ बूंदों के साथ माइक्रोस्कोप की स्लाइड पर लगाएं ।

ऊपर कवर स्लिप चढ़ा दें। इसे माइक्रोस्कोप की कम और अधिक आवर्धन क्षमता में देखें। किनारों वाली कोशिकाएं अधिक पतली होती हैं इसलिए उनको अधिक स्पष्टता से देखा जा सकता है।

कोशिका भित्ति, प्लैज़्मा झिल्ली, कोशिकाद्रव्य, केन्द्रक और रसधानी को पहचाने। अपनी पुस्तिका में इन कोशिकाओं का चित्र बनाएं। अब कवर स्लिप के एक ओर से पानी निकाल लें और दूसरी ओर से 10% सुक्रोज के विलयन की कुछ बूंदे डाले अथवा आप दूसरी स्लाइड पर अलग से भी 10% सुक्रोज में घोल की बूंदों में प्याज के टुकड़े का नमूना बना सकते हैं। इसे 10 मिनट ऐसे ही रहने दें। फिर माइक्रोस्कोप से देखें। अगर स्पष्ट परिवर्तन नजर न आएं तो 20 मिनट बाद देखें। परिवर्तित स्वरूप वाली कोशिकाओं का चित्र बनाएं।



चित्र 11.4 : जीवद्रव्य कुंचन और जीवद्रव्य विकुंचन

टिप्पणी : आप देखेंगे कि कोशिका के प्रोटोप्लास्ट का समान रूप से जीवद्रव्य विकुंचन नहीं हुआ है और कुछ स्थानों पर कोशिकाद्रव्य, कोशिका–भित्ति से मजबूती से जुड़ा हुआ लगता है। ऐसा कोशिका द्रव्यी तंतुओं की मजबूत पकड़ के कारण होता है — खास तौर से प्लैज़्मोडेस्मेटा बंधो पर। इसलिए प्लैज़्मा विसरण के बाद प्रोटोप्लास्ट विभिन्न आकारों का दिखता है।

11.3.2 जीवद्रव्य विकुंचन

इस नमूने की कवर स्लिप निकाल लें। चिमटी से नमूना (प्याज़ का टुकड़ा) निकाल कर पानी से धो लें। फ़िल्टर पेपर से सुखा कर तुरंत पानी की कुछ बूंदो के साथ स्लाइड पर लगाएं। ऊपर कवर स्लिप चढ़ाएं। 20 मिनट के बाद देखें। अपने प्रेक्षण नोट करें।

बोध प्रश्न 3

क) वनस्पति कोशिका को 10% अथवा 20% सुक्रोज के विलयन में रखने से उसमें आने वाले परिवर्तनों को सूचीबद्ध करें।

....

....

....

....

ख) पानी में रखने पर वनस्पति कोशिका फटती क्यों नही है ?

....

....

ग) वनस्पति कोशिकाओं में जीवद्रव्य कुंचन और जीवद्रव्य विकुंचन के दैनिक अनुभवों से दो उदाहरण दें ।

....

....

11.3.3 रुधिरलयन

सामग्री

माइक्रोस्कोप

स्लाइड

कवर स्लिप

5 परखनलियां

0.9% NaCl विलयन

रक्त का नमूना

विधि

पांच परखनलियां लेकर उन्हें 1 से 5 तक संख्या दें । प्रत्येक में निम्न तालिका के अनुसार अभिकर्मक डालें :

संख्या	अभिकर्मक	NaCl का सांद्रण सामान्य प्लैज़्मा के प्रतिशत के रूप में
1.	5.0 ml आसवित पानी	0%
2.	0.5 ml NaCl (.09%)+ 4.5 ml आसवित पानी	10%
3.	1.0 ml NaCl (.09%) + 4 ml आसवित पानी	20%
4.	3.0 ml NaCl (0.09%) + 2ml आसवित पानी	60%
5.	5 ml 0.9% NaCl	100%

iv) इसे अपनी जगह स्थिर रहने दें। 5 मिनट, एक घंटे और 6 घंटे बाद परिवर्तनों को देखें। इन प्रयोगों को नोट करें।

11.2.2 विसरण की दर का अध्ययन

निम्न में से कोई एक (क) अथवा (ख) प्रयोग करें।

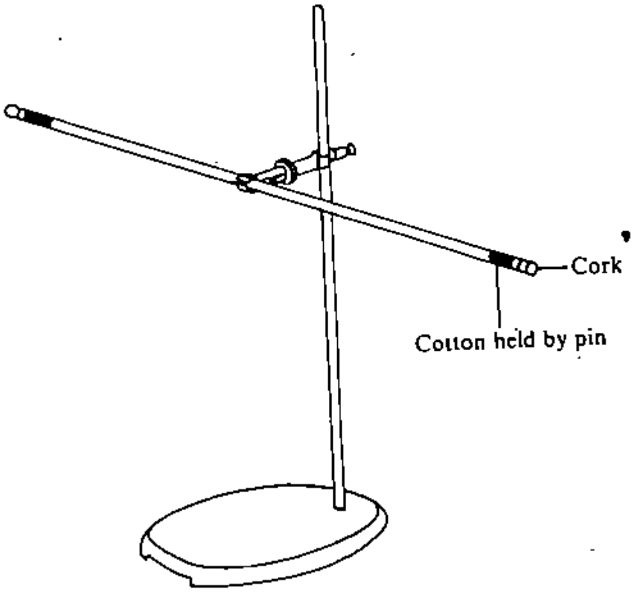
प्रयोग क

सामग्री

30 सेंटीमीटर लंबी और 2 सें. मी. व्यास की शीशे की नली
इस नली में फिट हो जाने वाले दो कार्क
रूई (अगर नली में फिट हो सके तो आप जॉन्सन कॉटन स्वेब इस्तेमाल कर सकते हैं)।
ब्यूरेट क्लैम्प स्टैंड
सांद्र HCl
सांद्र NH_4OH
सिलिंडर
शीशे की छड़

विधि

ब्यूरेट क्लैम्प में 30 cm लम्बी 2 cm व्यास वाली शीशे की नली कस लें (चित्र 11.1)। प्रत्येक कॉर्क में पिन की मदद से रूई लगा लें। चिमटी से एक कॉर्क को पकड़ कर रूई को सांद्र HCl में भिगो लें। दूसरे कॉर्क की रूई को NH_4OH में भिगो लें। ध्यान रहे कि दोनों कॉर्क अलग-अलग रहे। अगर ज्यादा HCl अथवा NH_4OH हो तो उसे फिल्टर पेपर से पोछ लें। दोनों कार्को को शीशे की नली के अलग अलग सिरों पर लगाएं। प्रेक्षणों को नोट करें।



चित्र 11.2 : विसरण का अध्ययन करने के लिए उपकरण

बोध प्रश्न 1

क) नली में दो गैसों के मिलने से क्या होता है ?

....

....

ख) नली में दिखने वाले पदार्थ का नाम बताइए ।

....

ग) यह कब दिखाई देता है ?

....

घ) यह कहां दिखाई देता है ?

....

ड.) सफेद वलयाकार पटटी के बनने के स्थान का HCl और NH_3 के गुण भार से संबंध बताएं ।

....

....

....

च) दोनों में से किसकी गति ज्यादा थी ?

....

प्रयोग ख

सामग्री

1 M सोडियम क्लोराइड ($NaCl$) का घोल

1 M पोटैशियम ब्रोमाइड (KBr) का घोल

1 M पोटैशियम फैरीसायनाइड [$K_3Fe(CN)_6$] अथवा सिल्वर नाइट्रेट ($AgNO_3$) का घोल

विधि

जिलैटिन को एक पैट्रीडिश में ठोस होने दें । पाश्चर पिपेट अथवा ऐसे ही किसी उपकरण से करीब एक सें. मी. व्यास के चार गडढ़े समान दूरी पर बनाएं और उन्हें 1 से 4 तक नंबर दें । हर गडढ़े में एक यौगिक भरे । प्रत्येक यौगिक से निकल कर जाने वाले ग्रुप के अणुभार नीचे दिए गए हैं ।

प्रयोग 11 पदार्थों का कोशिकाओं में संचलन—विसरण तथा परासरण

रूपरेखा

11.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
11.2 विसरण
विसरण का प्रदर्शन
विसरण की दर का अध्ययन
11.3 परासरण
जीवद्रव्य कुंचन
जीवद्रव्य विकुंचन
रुधिरलयन
अपोहन

11.1 प्रस्तावना

कोशिका और उसके पर्यावरण के बीच गैसों, पानी, खाद्य सामग्री और उत्सर्ग किए जाने वाले पदार्थों का आदान प्रदान विसरण और परासरण परिघटना के जरिए होता है । आपने पढ़ा है कि पत्तियों की श्वांस रंध्र गुहिका (stomatal cavity) में मध्यम पर्ण कोशिकाओं से ऑक्सीजन और कार्बन डाईआक्साइड का विसरण होता है । वायु की आक्सीजन फेफड़ों अथवा गलफड़ों की भीतरी श्वसन सतह की नम कोशिकाओं में विसरण द्वारा प्रवेश करती है और फिर कोशिकाओं में पहुँचती है । पानी तथा छोटे आवेश रहित अणुओं का कोशिकाओं में भीतर और बाहर विसरण होता है । उदाहरणार्थ, रक्त प्लैज़्मा के ज्यादातर पानी का विसरण, रक्त कोशिकाओं में प्रवाह के दौरान बाहर विसरित हो जाता है । फिर इसका विसरण खुले सिरों वाली लसीका कोशिकाओं (lymph capillaries) में होता है । किसी एक कोशिका अथवा ऊतकों में विलेयशील पदार्थों की सांद्रता में अक्सर परिवर्तन हो जाते हैं । परासरण और विसरण की परिघटना के द्वारा कोशिकाएं निरंतर परिवर्तनशील पर्यावरण में समस्थिति (homeostasis) बनाए रखती है । इस प्रयोगशाला अभ्यासों में आप विसरण तथा परासरण की परिघटना का प्रायोगिक अध्ययन करेंगे ।

उद्देश्य

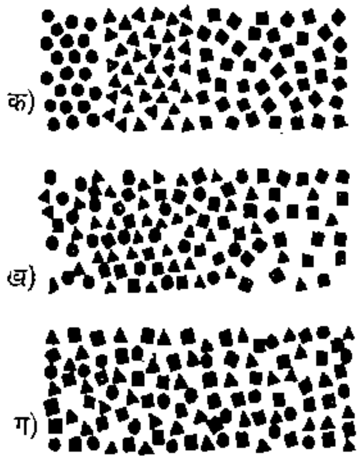
प्रयोगशाला में इन प्रयोगों को करने के बाद आप :

- विसरण और परासरण की परिघटनाओं को प्रदर्शित कर सकेंगे और
- जीवद्रव्य कुंचन (plasmolysis) जीवद्रव्य विकुंचन (deplasmolysis) और रुधिरलयन (haemolysis) में अंतर प्रयोगो द्वारा दिखा सकेंगे ।

11.2 परासरण

समरूप वितरण के लिए विलयन में अणुओं और आयनों तथा वायुमंडल में गैसों के विसरित होने की प्रवृत्ति विसरण कहलाती है । सभी अणु और आयन अंतर्निहित गतिज ऊर्जा

(inherent kinetic energy) के कारण निरंतर यादृच्छिक (random) गति करते रहते हैं । ठोस पदार्थों में आण्विक गति बहुत कम होती है पर द्रवों और गैसों में काफी अधिक होती है । इस यादृच्छिक गति के कारण अणुओं की गति कम संकेन्द्रण वाले क्षेत्रों की तरफ होती है । हम कह सकते हैं कि अणु आस पास के रिक्त स्थान को खोजते रहते है और समरूपता न होने तक विसरित होते रहते है । विसरण निष्क्रिय प्रक्रिया होती है । इसके लिए किसी प्रकार के विलोडन या संवहनी विक्षोभ की आवश्यकता नहीं होती ।



चित्र 11.1 : विसरण : क) तीन सांद्रित पदार्थ । ख) यादृच्छिक और स्वतंत्र विसरण । ग) पूरे तंत्र में समरूप वितरण ।

समान गतिज ऊर्जा लेकिन अलग–अलग द्रव्यमान वाले दो अणुओ की किसी स्थिर ताप पर गति अलग–अलग होती है । छोटे अणुओं (कम अणु भार वाले) की गति बड़े अणुओं (ज्यादा अणु भार वाले) की गति से तेज होती है । दूसरे शब्दों में, पदार्थों के आपेक्षिक विसरण की गति उनके अणुभार पर निर्भर करती है ।

11.2.1 विसरण का प्रदर्शन

सामग्री

1. $KMnO_4$ के क्रिस्टल
2. NH_4OH
3. सांद्र HCl

विधि

निम्न प्रयोग करें ।

i) एमोनियम हाइड्रॉक्साइड (NH_4OH) की बोतल सावधानी से खोलें और 30 सेकेंड तक खुली रहने दें । परिणाम नोट करें ।

ii) एक शीशे की छड़ को सांद्र HCl में डुबो कर बोतल के ऊपर लाने पर क्या होता है ?

iii) पानी से भरे बड़े सिलिंडर में $KMnO_4$ का क्रिस्टल डालें ।

$NADH_2$ अथवा $NADPH_2$ से प्राप्त इलेक्ट्रॉनों से क्रिया करके पानी बनाता है इसलिए इन्हें मिश्रित प्रकार्य आक्सीडेज़ कहते है। फ़ीनोलेज़ कॉम्पलैक्स, कैटालेज़ और पैरोक्सिडेज़ इस वर्ण के उदाहरण हैं।

iii) एंज़ाइम, जो ऑक्सीजन के दोनों परमाणुओ का सबस्ट्रेट को अंतरण कर देते हैं ऑक्सीजेनेज़ कहलाते है। इस वर्ग के उदाहरण हैं –
लाइपोक्सीडेज़, और ट्रिप्टफ़ान पाइरोलेज़ आदि।

$$X + O_2 \longrightarrow XO_2$$
सबस्ट्रेट

रेडॉक्स सूचक (Redox Indicator)

कुछ रंजक पदार्थ (dyes) एंज़ाइमी रेडॉक्स अभिक्रिया के दौरान सबस्ट्रेट से इलेक्ट्रॉन प्राप्त करते हैं। अपचयन होने पर रंजक पदार्थ का रंग बदल जाता है और इस प्रकार यह रासायनिक अभिक्रिया के सूचक (redox indicator) होते है। ऑक्सीडोरिडक्टेज़ एंज़ाइमों की अभिक्रिया के अध्ययन के दौरान, ऐसे कृत्रिम इलेक्ट्रॉन ग्रहियों को प्रायः इस्तेमाल किया जाता है। उदाहरण के लिए, मेथिलीन ब्ल्यू और डाइक्लोरोफ़ीनोल इंडोफ़ीनोल (DCPIP) ऑक्सीकृत स्थिति में नीले होते हैं, पर अपचित होकर रंगहीन हो जाते हैं।

$$MB + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow MB(H)_2$$

मेथिलीन ब्ल्यू	मेथिलीन ब्ल्यू
ऑक्सीकृत	अपचित
(नीला)	(रंगहीन)

12.2.1 ज़ैन्थीन ऑक्सीडेज

यह एंज़ाइम दूध में होता हैं। यह जलयोजित (hydrated) एल्डिहाइडों, जैसे फ़ॉर्मेल्डीहाइड से ऑक्सीजन (O_2) को अथवा मेथिलीन ब्ल्यू जैसे रंजकों को इलेक्ट्रॉनों (और H_2) का अंतरण करता है।

$$HCHO + H_2O \longrightarrow HCH(OH)_2 + MB \longrightarrow HCOOH + MBH_2$$

फॉर्मेल्डीहाइड	जलयोजित फॉर्मेल्डीहाइड	मेथिलीन ब्ल्यू	फॉर्मिक एसिड	रंगहीन

सामग्री

1. अपास्तेरीकृत दूध
2. 0.02% मेथिलीन ब्ल्यू विलयन
3. 0.4% फॉर्मेल्डीहाइड विलयन
4. पैराफिन ऑइल

विधि

तीन परखनलियों को 1 से 3 तक अंकित करें। प्रत्येक में 5 ml पास्तेरीकृत दूध डालें। परखनली 1 को 2 मिनट तक उबाल कर ठंडा करें। प्रत्येक परखनली में एक–एक ml 0.02% मेथिलीन ब्ल्यू विलयन डालें। इसके बाद परखनली 1 और 2 में 0.4% फॉर्मेल्डीहाइड विलयन डालें। लेकिन परखनली 3 में नही डालें। परखनलियों को धीरे–धीरे हिला कर विलयनों को मिलाएं, इनमें 1-2 ml पैराफिन ऑइल डालें और 40 सैल्सियस ताप पर रखें, प्रेक्षणों को नोट करें।

परखनली संख्या	परखनली की सामग्री	रंजक के रंग में परिवर्तन
1.	उबालकर ठंडा किया दूध+ मेथिलीन ब्ल्यू + फॉर्मेल्डीहइड	
2.	बिना उबला दूध + मेथिलीन ब्ल्यू + फॉर्मेल्डीहाइड	
3.	बिना उबला दूध + मेथिलीन ब्ल्यू	

बोध प्रश्न 1

क) हम अपास्तेरीकृत दूध क्यों इस्तेमाल करते है ?

....

....

ख) इस क्रिया में सबस्ट्रेट क्या है ?

....

....

ग) पैराफिन ऑइल का इस्तेमाल क्यों जरूरी है ?

....

12.2.2 फ़ीनोलेज़ कॉम्पलैक्स

यह एंज़ाइम प्राकृतिक फ़ीनोलों को ऑक्सीकृत कर क्विनोन बनाता है । जिसका बहुलीकरण (polymerisation) होकर भूरा–काला यौगिक बनता है । इसी क्रिया से छिले हुए फल और कटे हुए आलू भूरे रंग के हो जाते हैं ।

$$\text{Monohydric phenol} + 2e^- + O^{2-} \longrightarrow \text{O-Diphenol} + O^{2-}$$

$$2\ \text{O-Diphenol} + O_2 \longrightarrow 2\ \text{O-Quinone} + 2H_2O$$

$$\text{sum : Monohydric phenol} + O_2 \longrightarrow 2\ \text{O-Quinone} + 2H_2O$$

सामग्री

1. पिसे हुए आलू अथवा सेब के पतले–पतले टुकड़े
2. चीज क्लॉथ (Cheese cloth)
3. 1% कैटेचॉल (catechol) विलयन

विधि

करीब 5 ग्राम का आलू का टुकड़ा लें और उसे 10 ml आसवित पानी के साथ खरल–मूसल (mortar and pestle) में पीस लें। चीज क्लॉथ से फिल्टर कर के 5 ml आलू के सारसत्त में तुरंत 1% कैटेचॉल की 10 बूंदें डालकर अच्छी तरह मिलाएं। रंग में होने वाले परिवर्तन को देखें। इसके बाद उबलते पानी में 5 मिनट तक रखे गए आलू के टुकड़े के साथ यह प्रयोग दोहराएं।

बोध प्रश्न 2

क) आलू के सारसत्त का तुरंत इस्तेमाल क्यों जरूरी है ?

....

....

ख) अगर ताजा कटे सेब के टुकड़ों पर नींबू का रस डाल दिया जाए तो वे भूरे नहीं होते। क्या आप इसका कारण समझा सकते हैं ?

....

....

12.2.3 कैटालेज़

हाइड्रोजन परॉक्साइड जीवद्रव्य के लिए विषैला रसायन है जो सक्रिय रूप से उपापचय (metabolism) करने वाले वायुजीवी (aerobic) ऊतकों में पैदा होता है। डिहाइड्रोजेनेज़ एंज़ाइमों की मदद से इलेक्ट्रॉनों का अंतरण अंत में ऑक्सीजन को कर दिया जाता है। कैटालेज़ एंज़ाइम H_2O_2 के विखंडन से O_2 के मुक्त होने की गति को तेज करके ऊतकों (tissue) में विष फैलने से रोकता है।

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2$$

यह एक ऑक्सीकरण–अपचयन अभिक्रिया है जिसमें हाइड्रोजन परॉक्साइड का एक अणु ऑक्सीकृत होकर आक्सीजन मुक्त करता है और एक अन्य अणु के अपचयन से पानी बनाता है।

सामग्री

1. प्राणी ऊतक (यकृत अथवा पेशी) अथवा
   वनस्पति ऊतक (आलू अथवा सेब)
2. हाइड्रोजन परॉक्साइड
3. pH 6.8 का प्रतिरोधक (buffer) विलयन

विधि

चार परखनलियां लेकर उन्हें 1 से 4 अंकित करें। प्रत्येक में 5 ml प्रतिरोधक घोल डालें। 10 ग्राम यकृत (liver) अथवा आलू के छोटे–छोटे टुकड़े करें। इसके दो भाग करें और इन्हें परखनली संख्या 2 और 3 में डालें। परखनली संख्या 2 की सामग्री को दो मिनट तक

उबाल कर ठंडा होने दें। 5 ग्राम यकृत अथवा आलू के टुकड़ों को खरल-मूसल में मसृण (macerate) कर परखनली संख्या 4 में डालें। प्रत्येक परखनली में 5 ml H_2O_2 डालें और अपने प्रेक्षणों को निम्न तरीके से नोट करें।

प्रेक्षण	प्रेक्षण-चिन्ह
कोई बुदबुदन नही	O
हल्की बुदबुदन	+
काफी बुदबुदन	+ +
बहुत अधिक बुदबुदन	+ + +

परखनली संख्या	परखनली की सामग्री	रंजक के रंग में परिवर्तन
1.	प्रतिरोधक घोल + H_2O_2	
2.	प्रतिरोधक घोल + यकृत के टुकड़े (उबले हुए) H_2O_2	
3.	प्रतिरोधक घोल + यकृत के टुकडे + H_2O_2	
4.	प्रतिरोधक घोल + यकृत के मसले हुए टुकडे + H_2O_2	

बोध प्रश्न 3

क) क्या यकृत के कटे टुकड़ो और मसृण किये हुए टुकड़ों के साथ अभिक्रिया में कोई अंतर पाया गया ?

....

....

....

....

ख) परखनली 2 में रासायनिक क्रिया के परिणाम परखनली 3 से क्यों भिन्न हैं ?

....

....

12.2.4 डिहाइड्रोजेनेज़

ये श्वसन उपापचय (respiratory metabolism) से जुड़े महत्वपूर्ण समूह के एंज़ाइम हैं। इनके उदाहरण है - क्रेब साइकिल से जुड़ा सक्सिनिक एसिड डिहाइड्रोजेनेज़, किण्वन से जुड़ा ऐल्कोहॉल डिहाइड्रोजेनेज़ और इलेक्ट्रॉन अंतरण श्रृंखला का NADH डिहाइड्रोजेनेज़। आप खमीर अर्थात यीस्ट (yeast) के डिहाइड्रोजेनेज़ का अध्ययन करेंगे।

मग्री

चार परखनलियां (15 ml)

रबड़ के चार साफ स्टॉपर

चार पिपेट

5% ग्लूकोज़ विलयन

2% स्टार्च विलयन

0.05% मेथिलीन ब्ल्यू विलयन

फॉर्मेल्डीहाइड

ध

रैक में चार परखनलियां लगाएं और इन्हें 1 से 4 तक संख्या दें। इन परखनलियों में
ा सूची के अनुसार सामग्री रखें।

खनली ंख्या	आसवित पानी	ग्लूकोज	स्टार्च	फॉर्मेल्डीहाइड	एक्टिव यीस्ट	मैथिलीन ब्ल्यू
1.	10 ml	x	x	x	5ml	√
2.	5 ml	5 ml	x	x	5 ml	√
3.	5 ml	x	5 ml	x	x	√
4.	x	5 ml	x	5 ml	5 ml	√

ट सबसे अंत में डालें। सभी परखनलियों को ऊपर तक भरें। जरूरी होने पर आसवित
ी से भर लें। अब हर परखनली में दो-दो बूंदें मैथिलीन ब्ल्यू की डालें। परखनलियों
मुख पर अंगूठा लगाकर पलट दें ताकि सामग्री आपस में मिल जाए। यह सुनिश्चित करें
शुरू में सभी परखनलियों में एक जैसा रंग हो। हर परखनली में स्टॉपर लगाकर रैक
रख दें। परखनलियों से द्रव बहने दें। 20, 40, और 60 मिनट और दो घंटे बाद
गों को रिकार्ड करें। रंग की तीव्रता को निम्न चिन्हों के अनुसार श्रेणी दें। गैस बनने
भी नोट करें और अपने परिणामों की व्याख्या करें।

रंग	तीव्रता श्रेणी
रंगहीन	O
फीका रंग	+
हल्का नीला	+ +
सामान्य हल्का नीला	+ + +
गहरा नीला	+ + + +

बोध प्रश्न 4

क) प्रत्येक परखनली की सामग्री को ध्यान में रखते हुए रंग की तीव्रता के आधार पर परिणामों की व्याख्या करें।

....

....

ख) इस रासायनिक अभिक्रिया में कौन सी गैस निकलती है ?

....

12.3 हाइड्रोलेज़

ये एंज़ाइम बड़े अणुओं को लघु इकाइयों में विखंडित करते हैं। इस वर्ग के सबसे सामा: एंज़ाइम पाचक एंज़ाइम हैं। इनमें एमिलेज़ स्टार्च को, लाइपेज़ लिपिडों को और प्रोटीनेज़ प्रोटीनों को विखंडित करते है।

12.3.1 लार एमिलेज

यह अधिकांश स्तनधारियों की लार (saliva) में पाया जाता है। यह स्टार्च का आरंभिक जलापघटन (hydrolysis) करता है।

सामग्री

1. स्टार्च (फीकेबिस्कुट - crackers)
2. बेनेडिक्ट्स विलयन
3. आयोडीन विलयन
4. 3 ml लार
5. पैराफिन मोम

विधि

पैराफिन मोम का एक टुकडा चबाकर3 ml लार निकालें। चार परखनलियां लेकर उन्हें 1 से 4 तक संख्या दें। निम्न तालिका के अनुसार उनमें अभिकर्मक डालें।

परखनली संख्या	स्टार्च	पानी	आयोडीन	बेनेडिक्टस विलयन	लार	प्रेक्षण
1.	x	10 ml	10 बूंदें	5 ml	x	
2.	√	10 ml	10 बूंदें	x	5 ml	
3.	√	10 ml	x	5 ml	x	
4.	√	10 ml	x	5 ml	5 ml	

बेनोडिक्ट्स विलयन डालने के बाद ज्वाला पर गर्म करें, जब तक हल्का उबलने न लगे। अगर अपचायी शर्कराएं मौजूद हों, तो बेनोडिकट्स विलयन सकारात्मक प्रतिक्रिया देते हैं।

शेष प्रश्न 5

क) अपने प्रयोग के परिणाणों की व्याख्या करें।

....

....

प्रयोग 13 मनकों का उपयोग करके एकसंकर मेंडलीय अनुपात का सत्यापन एवं काई-वर्ग परीक्षण

रूपरेखा

13.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

13.2 आवश्यक सामग्री

13.3 कार्यविधि

13.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

13.5 परिणामों का विवेचन

13.6 χ^2 विश्लेषण

13.1 प्रस्तावना

LSE-03 के इकाई 1 में आप मेंडल के वंशागति के नियमों के विषय में पढ़ चुके हैं अथ पृथक्करण का नियम एवं स्वतंत्र अपव्यूहन के नियम के विषय में । इस अभ्यास में तथा इससे अगले अभ्यास में इन्हीं दो नियमों के विषय में चर्चा की जायेगी । अभ्यास को प्रार करने से पूर्व आइए विसंयोजन नियम के एक बार फिर से दोहरा लें । आपको याद होगा कि मेंडल ने उद्यान मटर (*Pisum sativum*) की ऐसी किस्में अर्थात् ऐसे वंशक्रम लिए थे जिनमें विपरित लक्षणों के जोड़े दिखाई पड़ते थे, जैसे लम्बे स्तम्भ वाले वंशक्रम (अर्थात् ऊंचे पौधे) और छोटे स्तम्भ वाले वंशक्रम (अर्थात् छोटे पौधे), ऐसे पौधे उसके संकरणों में जनक (P पीढ़ी) थे । प्रत्येक वंशक्रम में शुद्ध प्रजनन होता था, यानी वंशक्रम में अध्ययन किया जा रहा लक्षण सदैव यर्थात् रहता था, अर्थात् ऊंचा x ऊंचा करने पर केवल ऊंची ही संतति पैदा होती थी । जब दो विपरित लक्षणों वाली किस्मों में संकरण कराया जाता था (जैसे ऊंचा x छोटा) तो उससे प्रथम संतानीय पीढ़ी में सभी संतानें एक ही फीनोटाइप (लक्षणप्ररूप) की होती थीं, यह फ़ीनोटाइप वही होता था जो जनकों (अर्था ऊंचे पौधों) का था । इस लक्षण को प्रभावी (dominant) कहा गया तथा जो लक्षण F_1 में प्रकट नहीं हुआ (अर्थात् छोटा) उसे अप्रभावी (recessive) कहा गया । इन दो लक्षणों का मिश्रण नहीं हुआ । जब F_1 के पौधों में स्वप्रजनन कराया गया तो अगली पीढ़ी F_2 की संततियां लगभग 3 प्रभावी और 1 अप्रभावी फीनोटाइपों (जैसे 3 ऊंचे : 1 छोटा) के अनुपात में पायी गयीं । इन प्रयोगों से मेंडल ने क्या निष्कर्ष निकाले ?

i) प्रत्येक जनक में दो इकाई कारक (जीन) पाए जाते हैं जिनमें से एक कारक F_1 संततियों के प्रत्येक सदस्य में पहुंचता है ।

ii) प्रत्येक जीन दो विकल्पी स्वरूपों अर्थात् ऐलीलों के रूप में पाया जा सकता है जिनमें से एक तो प्रभावी लक्षण के लिए था (अर्थात् T) जो F_1 के फीनोटाइप का अभिनिर्धारण करता था तथा दूसरा ऐलील (अर्थात् t) अप्रभावी लक्षण के लिए था ।

iii) F_1 के प्रत्येक सदस्य में प्रत्येक ऐलील का एक-एक ऐलील था (अर्थात् Tt) और वह सदस्य विषमयुग्मजी (heterozygous) था, जबकि इनके प्रत्येक जनक में दो समान ऐलील थे (ऊंचे जनक में TT, तथा छोटे जनक में tt), और वे दोनों जनक समयुग्मजी (homozygous) थे ।

iv) इस प्रकार प्रभावी फीनोटाइप (ऊंचा) या तो दो भिन्न जीनोटाइपों—समयुग्मजी (TT) से या विषमयुग्मजी (Tt) से प्राप्त होता था, जबकि अप्रभावी फीनोटाइप केवल एक समयुग्मजी जीनोटाइप (tt) से प्राप्त होता था।

v) जब F_1 पौधों में पराग तथा अण्ड कोशिकाएं बनती थीं तब वे स्पष्टतः दो प्रकार की होती थीं—इनमें या तो एक ऐलील प्रभावी लक्षण (T) का होता था या ऐलील अप्रभावी लक्षण (t) का होता था, जनन कोशिकाओं के ये दो प्रकार समान बारंबारता में बनते थे। इसका यह अर्थ हुआ कि F_1 में जब गैमीट (युग्मक) बनते थे तब उनमें F_1 के दोनों ऐलील स्पष्टतः एक दूसरे से पृथक हो जाते थे।

(vi) दोनों जीनोटाइपों T तथा t के पराग तथा अण्ड-केंद्रक यादृच्छिक रूप से संयोजित होकर F_2 के युग्मनज (zygotes) बनाते हैं। इस प्रकार F_2 जीनोटाइप तीन प्रकार के होंगे—एक तो प्रभावी लक्षण के ऐलीलों के लिए समयुग्मजी, दूसरे विषमयुग्मजी, और तीसरे अप्रभावी के ऐलीलों के लिए समयुग्मजी, और इन तीनों का अनुपात होगा — 1 : 2 : 1 (1TT : 2Tt : 1tt)। इससे 3 प्रभावी : 1 अप्रभावी (3 ऊंचे : 1 छोटा) का F_2 फीनोटाइप अनुपात प्राप्त होता है तो आइए अब अभ्यास की शुरुआत करें। इस अभ्यास के लिए पहले से पठनीय सामग्री इस प्रकार है :

1. इकाई 1, अनुवंशिकी (LSE-03)
2. इकाई 16, गणितीय विधियां (MTE-03)

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास को करने के बाद आप इस योग्य होने चाहिए कि आप :

- एक एकसंकर संकरण में मेंडल के पृथक्करण के नियम को प्रदर्शित कर सकें;
- प्रयोग के विविध चरणों का प्राकृतिक प्रक्रियाओं के साथ सहसंबंध दर्शा सकें;
- काइ-वर्ग परीक्षण का इस्तेमाल करके प्राप्त अनुपात का उसकी समंजन सुष्ठुता का विश्लेषण कर सकें।

13.2 आवश्यक सामग्री

1) 3 पात्र अथवा 250 ml के प्लास्टिक बीकर
2) 50 लाल मनके
3) 50 पीले मनके

13.3 कार्यविधि

इस परीक्षण के लिए आपको दो-दो के जोड़े बनाकर काम करना होगा।

चरण 1 : एक पात्र में 50 लाल मनके रखिए, इन्हें ऊंचे जनक (T) के युग्मक का प्रतिदर्श समझिए। दूसरे पात्र में 50 पीले मनके रखिए, ये बौने जनक (t) के युग्मकों के प्रतिदर्श हैं। हम यह मान कर चलते हैं कि ये दोनों युग्मक ऐसे जनकों से आए हैं जिनमें इस लक्षण (स्तम्भ की ऊंचाई), के लिए विशुद्ध

चित्र 13.1 (a) देखें (पृष्ठ संख्या 103)

प्रजनन होता है, और इस प्रयोग में हम इसी की वंशागति का अध्ययन करेंगे।

चित्र 13.1 (b)

चरण 2 : प्रत्येक पात्र में से एक-एक मनका निकालिए। निकाला गया प्रत्येक मनका एक युग्मक दर्शाता है जिसके भीतर उस लक्षण जोड़े का केवल एक ही ऐलील है। इन मनकों को एक साथ रखिए। यह निषेचन की प्रक्रिया का प्रतिदर्श है जिसके द्वारा संतान में जीनों के युग्मित ऐलील पुनः स्थापित हो जाते है।

चित्र 13.1 (c)

चरण 3 : जैसा कि आपने चरण 2 में किया था, उसी प्रकार मनकों के जोड़े निकालते जाइए और उन्हें मेज पर लगाइए। बताइए कि F_1 पीढ़ी की व्यष्टियों का जीनोटाइप क्या होगा ?

चित्र 13.1 (d)

चरण 4 : इस F_1 पीढ़ी के युग्मकों का अनुरूपण दर्शाने के वास्ते प्रत्येक पात्र में 50 मनके (25 लाल और 25 पीले) रखिए। एक पात्र F_1 पीढ़ी द्वारा बनने वाले मादा युग्मकों का प्रतिदर्श है इसी प्रकार दूसरा पात्र नर युग्मकों का।

चरण 5 : प्रत्येक पात्र को 30 सेंकड तक खूब हिलाइए ताकि मनके गड्ड-मड्ड हो जाएं, पर ध्यान रखिए कि कोई मनका पात्र से बाहर न गिरे।

चित्र 13.1 (e, f)

चरण 6 : F_2 पीढ़ी के बनाने के वास्ते आप अपनी आंख बंद करके दोनों पात्रों में से एक-एक मनका निकालिए और उन्हें एक साथ मिलाकर रखिए। आपके साथी को चाहिए कि वह इस प्रकार प्राप्त जोड़ों को नोट करता जाए।

चरण 7 : प्रत्येक जोड़े का जीनोटाइप नोट करने के बाद मनकों के इन जोड़ों को एक अतिरिक्त खाली पात्र में डालते जाइए।

चरण 8 : छठे तथा सातवें चरण को तब तक दोहराते जाइए जब तक कि सभी मनकों के जोड़े बना कर उनके जीनोटाइप नोट न कर लिया जाए।

चरण 9 : F_2 की व्यष्टियों के *फीनोटाइपों* का अनुपात निकालिए।

चरण 10 : अपने बैच की अन्य टोलियों द्वारा प्राप्त अनुपातों को भी रिकार्ड कीजिए तथा उन सबका एक औसत निकाल लीजिए।

13.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

A. F_1 पीढ़ी

a) F_1 व्यष्टियों की कुल संख्या ....

b) F_1 व्यष्टियों के फीनोटाइप ....

c) F_1 व्यष्टियों के जीनोटाइप ....

B. F_2 पीढ़ी

a) F_2 व्यष्टियों की कुल संख्या ....

b) F_2 व्यष्टियों की संख्या ....

c) प्रत्येक फीनोटाइप वर्ग में व्यष्टियों की संख्या

d) फीनोटाइप अनुपात ....

e) F_2 व्यष्टियों के जीनोटाइप ....

f) प्रत्येक फीनोटाइप वर्ग में व्यष्टियों की संख्या ....

g) जीनोटाइप अनुपात ....

	फीनोटाइप वर्ग	
	T–	tt
समूह औसत		
समूह 1	....	....
समूह 2	....	....
समूह 3	....	....
....	....	....
....	....	....
समूह n	....	....
कुल	....	....
औसत	....	....

13.5 परिणामों का विवेचन

1) ऊपर किए गए अभ्यास में कौन सा लक्षण प्रभावी था ?

....

....

2) F_1 संतति कैसी थी—समयुग्मजी अथवा विषमयुग्मजी ?

....

....

3) जब F_1 पौधों का स्वपरागण कराया गया तो पराग तथा अण्ड केंद्रक कितने प्रकार के बने थे ? इनके जीनोटाइप क्या थे तथा इनके जीनोटाइपों की बारंबारताएं क्या थीं ?

....

....

4) चरण 5 में मनकों को हिलाया क्यों गया, तथा चरण 6 में उन्हें आंख बंद करके क्यों निकाला गया ?

....

....

5) आपका अनुपात तथा समूह का अनुपात किस प्रकार मेंडल की प्रागुक्तियों से मेल खाता है ? कोई अंतर हो तो उसका स्पष्टीकरण कीजिए।

....

....

....

....

....

6) $F_1 \times F_1$ संकरण के परिणाम को दर्शाने के लिए एक पनेट वर्ग (Punnett square) बनाइए।

7) इसे एकसंकर संकरण क्यों कहते हैं ?

....

....

8) इस प्रयोग में लिए गए उदाहरण का एकसंकर परीक्षण-संकरण (टेस्ट क्रॉस) क्या होगा ?

9) इस प्रयोग में लिए गए उदाहरण का " बैक-क्रास " (संकर-पूवर्ज-संकरण) क्या होगा ?

10) क्या आप परिणामों को किसी और प्रकार से रिकार्ड एवं प्रस्तुत कर सकते हैं ?

11) यह प्रयोग मटर में प्रजनन एवं वंशागति के निदर्श (मॉडल) का किस प्रकार से कार्य करता है, समझाइए ।

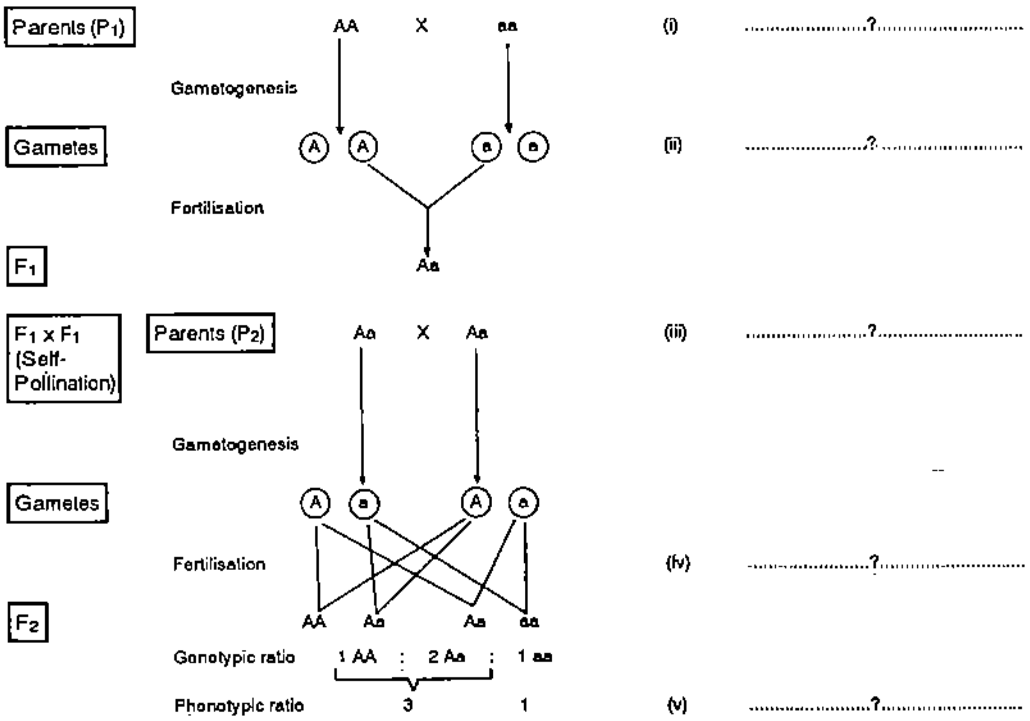
....

....

....

....

12) नीचे दिए गए आरेख में उस-उस चरण का (जो कि ऊपर दी गयी प्रयोग-कार्यविधि में वर्णित है) नाम लिखिए जो नीचे दी गयी अवस्थाओं के अनुरूप हैं ।



13) मान लीजिए कि F_2 बीजों के एक यादृच्छिक प्रतिचयन के बीजों को बोया गया और उनके परिपक्व पौधों में स्वप्रजनन कराया गया । बताइए कि निम्न पौधों के क्या-क्या अनुपात प्राप्त होंगे ?

i) केवल ऊंचें पौधे (समयुग्मजी) ।

ii) केवल बौने पौधे (समयुग्मजी) ।

iii) ऊंचे एवं बौनेपन के लिए मिश्रित पौधे (विषमयुग्मजी) ।

....

....

13.6 χ^2 विश्लेषण

ग्रीक अक्षर χ (" काई ") को लेकर χ^2 परीक्षण का उपयोग करके आप इस प्रयोग के परिणामों का विश्लेषण कर सकते हैं । यह एक साख्यिकीय परीक्षण है जिसे यह निर्धारण करने के वास्ते अक्सर ही उपयोग में लाया जाता है कि प्रयोग द्वारा प्राप्त हुए आंकड़े प्रत्याशित अथवा सैद्धांतिक आंकड़ों से समंजन सुष्ठुता दर्शाते हैं (good fit) यानी सही–सही पूरा फिट बैठते ही या कि केवल एक सन्निकटन (approximation) हैं । मूलतः इस परीक्षण से यह अभिनिर्धारित किया जा सकता है कि क्या प्रत्याशित मानों से होने वाला विचलन किसी संयोग के कारण तो नहीं हुआ । आनुवंशिक संकरण में वास्तविक देखा गया अनुपात परिकलित अनुपात से अगर अलग आता है तो उसका केवल एक ही कारण हो सकता है वह है संयोग । उदाहरण के लिए, किसी एकसंकर संकरण में बिल्कुल सही–सही 3:1 का अनुपात बहुत ही विरलतः पाया जाता है । प्रेक्षित परिणाम भिन्न होते हैं, लेकिन एक ऐसा बिंदु आता है जब अंतर इतना ज्यादा होता है कि प्रेक्षित आंकड़े प्रत्याशित आंकड़ों से मेल नहीं खाते । काई–वर्ग परीक्षण इस बिंदु का संकेत देता है । उदाहरण के लिए, इस अम्यास में यह परिकल्पना बनायी गयी है कि F_2 आंकड़े 3 : 1 अनुपात से किसी महत्वपूर्ण रूप में भिन्न नही हैं । इस प्रकार के सूत्रण को *निराकरणीय परिकल्पना* (null hypothesis) कहते हैं क्योंकि हम परीक्षण करेंगे कि ऐसा कुछ नहीं हुआ जिससे प्रत्याशित अनुपात किसी महत्वपूर्ण रूप में विक्षुब्ध हुआ हो । एक दूसरी वैकल्पिक परिकल्पना को लीजिए, जैसे कि F_2 आंकड़े 3 : 1 अनुपात से खासे भिन्न है क्योंकि विभिन्न जीनोटाइप असमान संख्याओं में बनते हैं । इस प्रकार की परिकल्पना परिशुद्ध नहीं कही जाएगी और इसके द्वारा कोइ सही–सही संख्यात्मक पूर्वघोषणा नहीं की जा सकती । इस उदाहरण से स्पष्ट हो जाएगा की परीक्षण के लिए परखी जा रही निराकरणीय परिकल्पना हमेशा ही नियत की जानी चाहिए ।

इस परीक्षण के लिए सूत्र इस प्रकार है :

$$\chi^2 = \frac{(o - e)}{e} \text{ or } \frac{d^2}{e}$$

χ^2 = काई–वर्ग

Σ = जो योग है

d = प्रत्याशित एवं देखे गए परिणामों के बीच का अंतर, जिसे प्रायः विचलन कहा जाता है (o – e)

e = प्रत्याशित परिणाम

o = देखे गए परिणाम

आइए देखें कि सूत्र किस प्रकार लगाया जा सकता है । जैसा कि आप जानते हैं एकसंकर संकरण में, 3 : 1 का अनुपात प्रत्याशित होता है । मान लिया की आपको F_1 संतति में कुल 160 पौधें प्राप्त होते हैं, जिनमें से 120 ऊंचे हैं और 40 बौने हैं । लेकिन एक अन्य विद्यार्थी को 116 ऊंचे तथा 44 बौने पौधे प्राप्त होते हैं ऐसी स्थिति में काई–वर्ग परीक्षण का परिकलन सारणी 13.1 में जैसा दर्शाया गया है वैसा किया जाएगा ।

सारणी 13.1 : काई–वर्ग मान का परिकलन

फीनोटाइप	देखी गई संख्या (o)	प्रत्याशित संख्या (e)	अन्तर (d = o – e)	d^2	आंशिक काई वर्ग d^2/e
ऊंचे	116	120	4	16	16/120 = .133
बौने	44	40	4	16	16/40 = .400
					$\Sigma \frac{d^2}{e}$ = .533 χ^2 = .533

अगला चरण है इस काई–वर्ग (χ^2) मान को सारणी 13.2 में देखना जो इस बात का संकेत देता है कि क्या संभाव्यता (P) इस बात की है कि पाये गए अंतर किसी यादृच्छिक प्रतिचयन त्रुटि (random sampling error) के कारण हैं अथवा यह कि परिणामों का स्पष्टीकरण किसी अन्य प्रागुक्ति अथवा परिकल्पना के आधार पर करना बेहतर रहेगा ।

सारणी 13.2: 1–30 अंशों के स्वातंत्र्य के लिए जिसे विशिष्ट संभाव्यताओं (P) के साथ अथवा अधिक कर दिया जाता है, के लिए काई–वर्ग के क्रांतिक मान । सारणी के शीर्ष पर दी गयी संख्याएं महत्व के स्तर दर्शाती हैं ।

df	.99	.98	.95	.90	.80	.70	.50	.30	.20	.10	.05	.02	.01	.001
1	.00016	.00063	.0039	.016	.046	.15	.46	1.07	1.64	2.71	3.84	5.41	6.64	10.83
2	.02	.04	.10	.21	.45	.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	7.82	9.21	13.82
3	.12	.18	.35	.58	1.00	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	9.84	11.34	16.27
4	.30	.43	.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	11.67	13.28	18.46
5	.55	.75	1.14	1.61	2.34	3.00	4.35	6.06	7.29	9.24	11.07	13.39	15.09	20.52
6	.87	1.13	1.64	2.20	3.07	3.83	5.35	7.23	8.56	10.64	12.59	15.03	16.81	22.46
7	1.24	1.56	2.17	2.83	3.82	4.67	6.35	8.38	9.80	12.02	14.07	16.62	18.48	24.32
8	1.65	2.03	2.73	3.49	4.59	5.53	7.34	9.52	11.03	13.36	15.51	18.17	20.09	26.12
9	2.09	2.53	3.32	4.17	5.38	6.39	8.34	10.66	12.24	14.68	16.92	19.68	21.67	27.88
10	2.56	3.06	3.94	4.86	6.18	7.27	9.34	11.78	13.44	15.99	18.31	21.16	23.21	29.59
11	3.05	3.61	4.58	5.58	6.99	8.15	10.34	12.90	14.63	17.28	19.68	22.62	24.72	31.26
12	3.57	4.18	5.23	6.30	7.81	9.03	11.34	14.01	15.81	18.55	21.03	24.05	26.22	32.91
13	4.11	4.76	5.89	7.04	8.63	9.93	12.34	15.12	16.89	19.81	22.36	25.47	29.69	34.53
14	4.66	5.37	6.57	7.79	9.47	10.82	13.34	14.22	18.15	21.06	23.68	26.87	29.14	36.12
15	5.23	5.98	7.26	8.55	10.31	11.72	14.34	17.32	19.31	22.31	25.00	28.26	30.58	37.70
16	5.81	6.61	7.96	9.31	11.15	12.62	15.34	18.42	20.46	23.54	26.30	29.63	32.00	39.29
17	6.41	7.26	8.67	10.08	12.00	13.63	16.34	19.51	21.62	24.37	27.59	31.00	33.41	40.75
18	7.02	7.91	9.39	10.86	12.86	14.44	17.34	20.60	22.76	25.99	28.87	32.35	34.80	42.31
19	7.63	8.57	10.12	11.65	13.72	15.35	18.34	21.69	23.90	27.20	30.14	33.69	36.19	43.82
20	8.26	9.24	10.85	12.44	14.58	16.27	19.34	22.78	25.04	28.41	31.41	35.02	37.57	45.32
21	8.90	9.92	11.59	13.24	15.44	17.18	20.34	23.86	26.17	29.62	32.67	36.34	38.93	46.80
22	9.54	10.60	12.34	10.04	16.31	18.10	21.34	24.94	27.30	31.81	33.92	37.66	40.29	48.27
23	10.20	11.29	13.09	14.85	17.19	19.02	22.34	26.02	28.43	32.01	35.17	38.97	41.64	49.73
24	10.86	11.99	13.85	15.66	18.06	19.94	23.34	27.10	29.55	33.20	36.42	40.27	42.38	51.18
25	11.52	12.70	14.61	16.47	18.94	20.87	24.34	28.17	30.68	34.38	37.65	41.57	44.21	52.62
26	12.20	13.41	15.38	17.29	19.82	21.79	25.34	29.25	31.80	35.56	38.88	42.86	45.64	54.06
27	12.88	14.12	16.15	18.11	20.70	22.72	26.34	30.32	32.91	36.74	40.11	44.14	46.96	55.48
28	13.56	14.85	16.93	18.94	21.59	23.65	27.34	31.39	34.03	37.93	41.34	45.42	48.28	56.89
29	14.26	15.57	17.71	19.77	22.48	24.58	28.34	32.46	35.14	39.09	42.56	46.69	49.53	58.30
30	14.95	16.31	18.49	20.60	23.36	25.51	29.34	33.53	36.25	40.26	43.77	47.96	50.89	59.70

सारणी 13.2 में df का संकेत स्वातंत्र्य कोटि (degree of freedom) दर्शाता है जो इस प्रयोग के अध्ययन किए गए फीनोटाइप–लक्षणों की संख्या के द्वारा अभिनिर्धारित होगा । हमारे उदाहरणों में दो वर्ग आते है—एक तो ऊंचे पौधे और दूसरे बौने पौधे । जैसा कि सारणी में df के मान के लिए दिखाया गया है, अर्थात् हमें C–1 का मान जानना जरूरी है । आपने

सुना होगा कि स्वातंत्र्य कोटि (df) को सूत्र C–1 का उपयोग करके परिकलन किया जाता है, जिसमें C वर्गों की कुल संख्या होती है । इस उदाहरण में C, 2 है अतः df बराबर है 1 के (यानी 2–1 = 1) । अतः आपको χ^2 के मान को सारणी 13.2 की पहली पंक्ति में देखना चाहिए (अर्थात् 1 में) । .533 मान, .50 तथा .30 की संभाव्यता मानों के बीच में आता है । इसका अर्थ यह हुआ कि यादृच्छिक संयोग के द्वारा वास्तविक गणना तथा प्रत्याशित गणना के बीच का अंतर 30 तथा 50% अवधि के बीच होना चाहिए ।

जीव-विज्ञान में प्रायः स्वीकार किया जाता है कि 0.05 से अधिक का P मान स्वीकार्य है जबकि 0.05 से कम के P मान से संकेत मिलता है कि परिणाम यादृच्छिक प्रतिचयन के कारण नहीं है और इसलिए वे मूल पूर्वघोषणा (परिकल्पना) से साथ मेल खाए हुए नहीं होते ।

सारणी 13.3 को भरकर अपने परिणामों का काई-वर्ग विश्लेषण कीजिए ।

सारणी 13.3: परिणामों का काई-वर्ग विश्लेषण

फीनोटाइप	देखी गई संख्या (o)	प्रत्याशित संख्या (e)	अन्तर (d = o – e)	d^2	आंशिक काई वर्ग d^2/e
					$\Sigma \frac{(d)^2}{e}$ =

χ^2 = ...

C–1 = ...

P (सारणी 13.2) से= ....

क्या आपके परिणाम मेंडल की प्रागुक्ति का समर्थन करते हैं ?....................................

यदि नहीं, तो क्या आप इसका कोई कारण बता सकते हैं ?....................................

B) अपनी पूरी टोली के लिए काई-वर्ग विश्लेषण कीजिए ।

फीनोटाइप	देखी गयी संख्याएं					
	टोली 1	टोली 2	टोली 3	------	टोली n	योग
ऊंचे						
बौने						

व्यष्टियों की कुल संख्या...........................

काई-वर्ग विश्लेषण

फीनोटाइप	देखी गई संख्या (o)	प्रत्याशित संख्या (e)	अन्तर (d = o – e)	d^2	आंशिक काई-वर्ग d^2/e
ऊंचे					
बौने					
					$\Sigma \frac{(d)^2}{e}$ =

χ^2 = ...

C–1 = ...

P (सारणी 13.2 से) = ...

क्या ये परिणाम मेंडल की प्रागुक्ति का समर्थन करते हैं ?

....

....

ऊपर कहे गए परिणामों पर टिप्पणी कीजिए ?

....

....

....

....

....

एक बड़ा प्रतिचयन लेने के क्या लाभ हैं ?

....

....

....

....

प्रयोग 14 मनकों का उपयोग करके द्विसंकर मेंडलीय अनुपात का सत्यापन एवं काई-वर्ग परीक्षण

रूपरेखा

14.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
14.2 आवश्यक सामग्री
14.3 कार्यविधि
14.4 प्रेक्षण तथा परिणाम
14.5 परिणामों का विवेचन

14.1 प्रस्तावना

यह प्रयोग मेंडल के वंशागति के दूसरे नियम से संबंधित है, अर्थात्, स्वतंत्र अपव्यूहन के नियम से । मेंडल ने दो जोड़ी विपरीत लक्षणों वाले पौधों को लेकर प्रमाण प्रस्तुत किया कि कारकों के वैकल्पिक स्वरूप स्वतंत्र रूप से अपव्यूहित होते हैं और पुनः संयोजित होकर 9 : 3 : 3 : 1 का द्विसंकर अनुपात प्रदान करते हैं । दूसरे रूप में हम कह सकते हैं कि एक जीन जोड़े का पृथक्करण दूसरे जीन जोड़े के पृथक्करण से स्वतंत्र है और वह वही समान अनुपात प्रदान करेगा (3 : 1 x 3 : 1) । इस प्रयोग में आप सीखेंगे कि विभिन्न रंग के मनकों का इस्तेमाल करके किस प्रकार मेंडल के द्विसंकर अनुपात का प्रदर्शन किया जा सकता है तथा उपलब्ध परिणामों का परिक्षण काई-वर्ग नामक सांख्यिकीय कार्यविधि द्वारा किस प्रकार किया जा सकता है ।

इस प्रयोग के करने से पहले निम्न सामग्री पढ़िए :

1. इकाई 1, आनुवंशिकी (LSE-03)
2. इकाई 16, गणितीय विधियां (MTE-03)
3. इस पाठ्यक्रम का प्रयोग 13 ।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास को करने के बाद आप इस योग्य होने चाहिए कि आप :

- द्विसंकर संकरण में मेंडल के स्वतंत्र अपव्यूहन के नियम को प्रदर्शित कर सकें;
- प्रयोग-चरणों का प्राकृतिक प्रक्रियाओं के साथ सहसंबंध बता सकें;
- काई वर्ग परीक्षण का इस्तेमाल करके प्राप्त अनुपात की समंजन सुष्ठुता का विश्लेषण कर सकें ।

14.2 आवश्यक सामग्री

1) 5 पात्र

) 48 हरे मनके

) 48 पीले मनके

) 48 काले मनके

) 48 सफेद मनके

) 1 पैकेट मॉडल बनाने की मिट्टी (modelling clay)

4.3 कार्यविधि

स प्रयोग के लिए आपको दो–दो के जोड़ों में काम करना होगा।

रण 1 : लाल, पीले, काले तथा सफेद 48–48 मनकों को अलग–अलग पात्रों में रखिए।

चित्र 14.1 (a) देखिए (पृष्ठ संख्या 103)

काले मनके चिकने बीजावरण (S) के प्रभावी लक्षण को दर्शाते हैं,

सफेद मनके झुर्रीदार बीजावरण (s) के अप्रभावी लक्षण को दर्शाते हैं,

पीले मनके बीजों के पीले रंग (Y) के प्रभावी लक्षण को दर्शाते हैं, और

हरे मनके बीजों के हरे रंग (y) के अप्रभावी लक्षण को दर्शाते हैं।

रण 2 : चिकने, पीले तथा झुर्रीदार, हरे फीनोटाइपों वाले जनकों के बीच संकरण करिए।

चित्र 14.1 (b)

रण 3 : प्रत्येक जनक द्वारा किस प्रकार के युग्मक बनेंगे ?

....

....

चित्र 14.1 (c) से अपने उत्तर का मिलान किजिए।

रण 4 : सफेद, हरे, काले तथा पीले रंग के एक–एक मनके को एक साथ मिलाकर रखिए। वह प्रक्रिया निषेचन की प्रतिदर्श है। F_1 व्यष्टियों के फीनोटाइप तथा जीनोटाइप लिखिए।

....

....

चित्र 14.1 (d)

ण 5 : अगले चरण में F_1 व्यष्टियों के बीच संकरण कीजिए। ऊपर प्राप्त F_1 व्यष्टियों में किस प्रकार के युग्मक बनेंगे ?

....

चित्र 14.1 (e) से अपने उत्तर को मिलान कीजिए।

इस F_1 पीढ़ी के युग्मकों की अनुरूपण के लिए 24–24 मनके (यानी 24 सफेद, 24 काले, 24 हरे तथा 24 पीले) दोनों यानि कि प्रत्येक पात्र में रखिए। एक पात्र F_1 जनकों से बने मादा युग्मकों का प्रतिदर्श है और दूसरा पात्र नर युग्मकों का प्रतिदर्श हैं।

ण 6 : चारों प्रकार के युग्मकों की पहचान को स्पष्ट करने के लिए मॉडलिंग मिट्टी की एक बहुत छोटी सी गेंद लीजिए। जिससे F_1 युग्मक दर्शाने वाली दो मनकों को जोड़ीये। उदाहरण के लिए, एक सफेद तथा एक हरा मनका लीजिए और मॉडलिंग मिट्टी की थोड़ी सी मात्रा लेकर उन्हें परस्पर जोड़

चित्र 14.1 (f, g)

लीजिए। इसी प्रकार एक सफेद तथा एक पीले मनके का, और एक सफेद तथा हरे मनके का, एक काले तथा एक हरे मनके का और एक काले तथा एक पीले मनके का जोड़ा बनाइए। इस प्रकार दोनों पात्रों के सभी मनकों ं जोड़े बना लीजिए।

चरण 7 : दोनों पात्रों को (जिनमें से प्रत्येक में चार प्रकार के युग्मक हैं) 30 सेकेंड तक हिलाइए।

चरण 8 : F_2 पीढ़ी बनाने के वास्ते अपनी आंखों को बंद करके प्रत्येक पात्र में से एक-एक मनका-जोड़ा निकालिए और उन्हें परस्पर एक साथ रखिए। इस प्रकार प्राप्त होने वाले जीनों के संयोजन आपका साथी नोट करता जाए। यह संयोजन F_2 व्यष्टियों के फीनोटाइपों तथा जीनोटाइपों को दर्शाता है।

चित्र 14.1(b)

चरण 9 : प्रत्येक जोड़े का फीनोटाइप तथा जीनोटाइप नोट करने के बाद मनकों के जोड़े को एक खाली पात्र में डालते जाइए।

चरण 10 : चरण 8 तथा 9 को तब तक बार-बार करते चले जाइए जब तक कि दोनो पात्रों के सभी मनकों के जोड़ों का उपयोग नहीं हो जाता और उनके संयोजनों को नोट नहीं कर लिया जाता।

चरण 11 : F_2 व्यष्टियों के फीनोटाइप के अनुपात का परिकलन कीजिए।

चरण 12 : अपने बैच की अन्य टोलियों द्वारा प्राप्त अनुपातों को भी रिकार्ड कीजिए तथ औसत अनुपात निकाल लीजिए।

चरण 13 : अपने परिणामों का तथा टोली औसत अनुपात का काई-वर्ग का उपयोग करके जिसे आपने पिछले प्रयोग में इस्तेमाल किया था, अलग-अलग विश्लेषण कीजिए ताकि इन अनुपातों की संमजन-सुष्ठुता पता चल सके।

14.4 प्रेक्षण तथा परिणाम

I. व्यष्टिगत प्रेक्षण

F_1 पीढ़ी

a) व्यष्टियों की कुल संख्या ....

b) फीनोटाइप ....

c) जीनोटाइप ....

F_2 पीढ़ी

a) व्यष्टियों की कुल संख्या ....

b) फीनोटाइप ....

c) प्रत्येक फीनोटाइप वर्ग में व्यष्टियों की संख्या :

....

....

....

....

d) फीनोटाइप अनुपात ....

e) जीनोटाइप ....

f) प्रत्येक जीनोटाइप वर्ग में व्यष्टियों की संख्या :

....	....
....	....
....	....
....	....

g) जीनोटाइप अनुपात ....

II. टोली औसत

फीनोटाइप वर्ग में व्यष्टियों की संख्या

टोली 1	....	....	....	....
टोली 2	....	....	....	....
टोली 3	....	....	....	....
टोली 4	....	....	....	....
टोली n	....	....	....	....
योग	....	....	....	....
औसत	....	....	....	....

14.5 परिणामों का विवेचन

1) द्विसंकर अनुपात क्यों कहा जाता है ?

....

....

2) अपने अनुपात और टोली औसत अनुपात को मेंडल की प्रागुक्ति से तुलना कीजिए। कोई अंतर अगर हों तो उनका स्पष्टीकरण कीजिए।

....

....

....

....

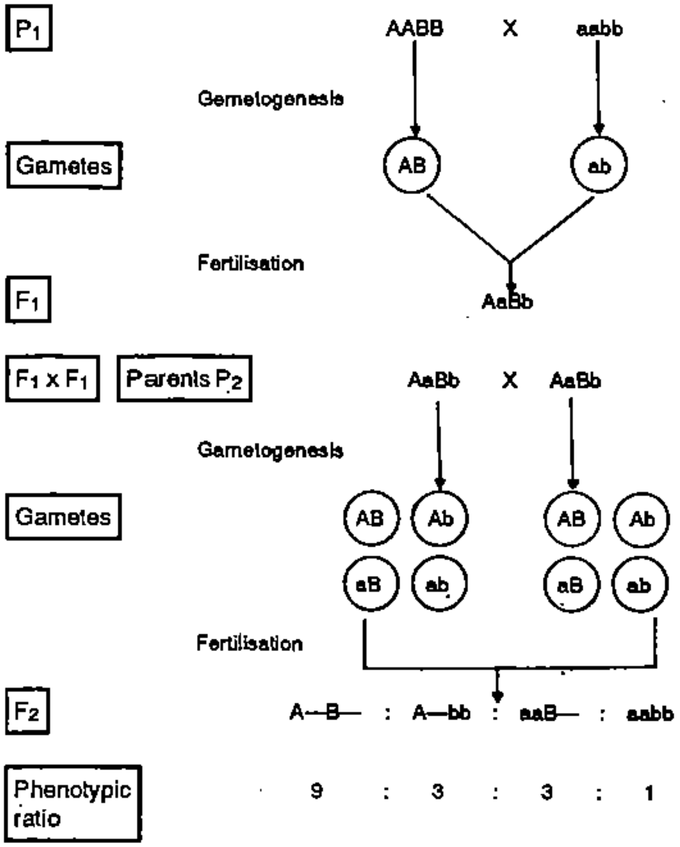
....

3) $F_1 \times F_2$ संकरण के नतीजे को दर्शाने हेतु पनेट वर्ग अथवा शाखा आरेख बनाइए।

4) इस प्रयोग में लिए गए उदाहरण का द्विसंकर परीक्षण संकरण (टेस्ट–क्रास) क्या होगा ?

5) क्या आप अपने परिणामों को किसी अन्य तरीके से रिकार्ड कर प्रस्तुत कर सकते हैं ?

6) नीचे दिए गए आरेख का कौन सा चरण (14.3 में) दिए गए प्रक्रम के अनुरूप है ?



(i) ....?..........................

(ii) ....?..........................

(iii) ....?..........................

(iv) ....?..........................

(v) ....?..........................

(vi) ....?..........................

(vii) ....?..........................

(viii) ....?..........................

(ix) ....?..........................

) अपने परिणामों का काई–वर्ग विश्लेषण कीजिए ?

फीनोटाइप	देखी गयी संख्या (o)	प्रत्याशित संख्या (e)	अंतर (d = o – e)	d^2	आंशिक काई–वर्ग d^2/e
					$\Sigma \frac{(d)^2}{e} =$ $\chi^2 =$

8) औसत मानों का उपयोग करके अपनी टोली का काई–वर्ग विश्लेषण कीजिए ?

फीनोटाइप	देखी गयी संख्या (o)	प्रत्याशित संख्या (e)	अंतर (d = o – e)	d^2	आंशिक काई–वर्ग d^2/e
					$\Sigma \frac{(d)^2}{e} =$ $\chi^2 =$

FIG. 13.1

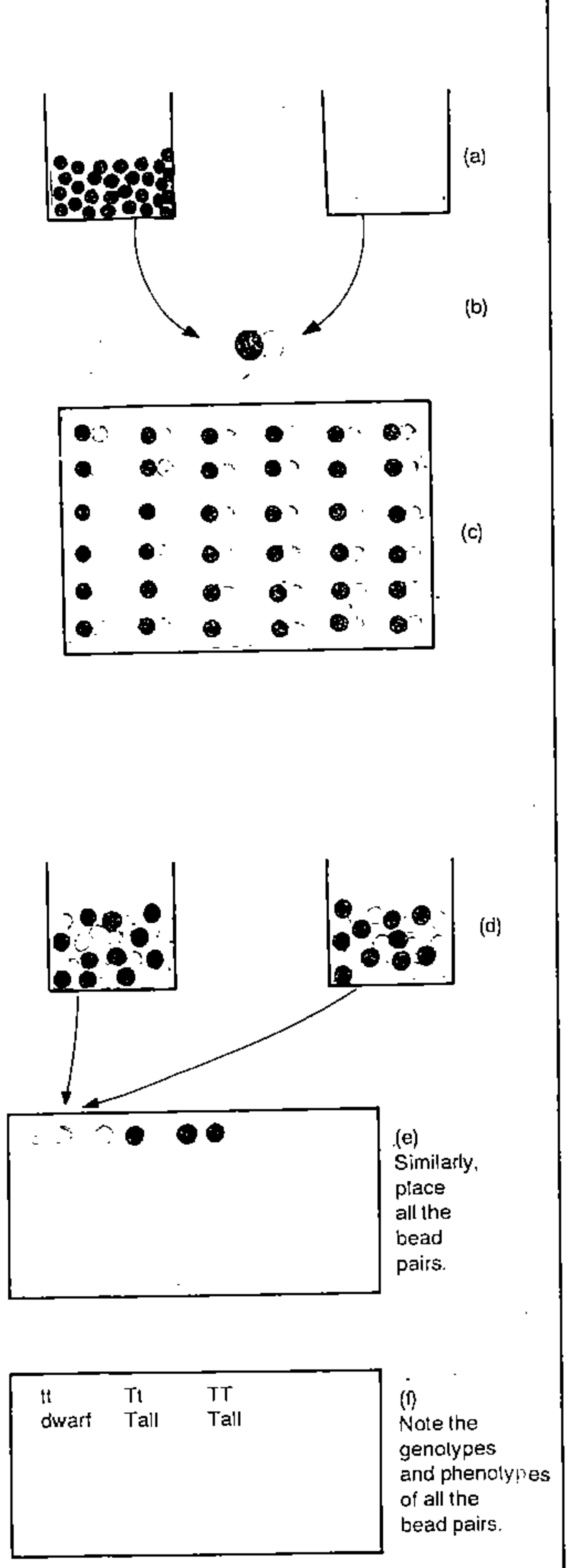
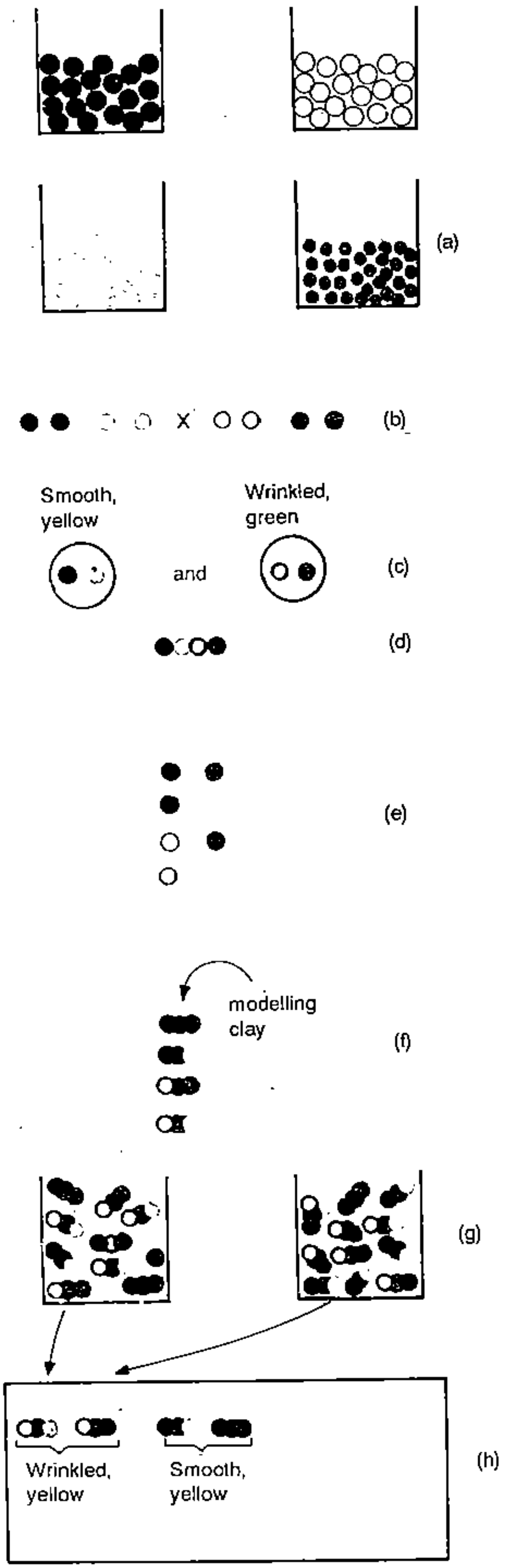


FIG. 14.1



Place all the bead pairs and note their genotypes and phenotypes

प्रयोग 15 मानव के मेंडलीय लक्षणों का अध्ययन

रूपरेखा

15.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

15.2 आवश्यक सामग्री

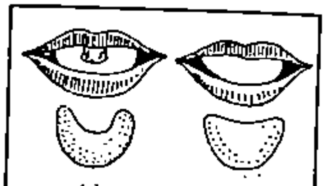
15.3 कार्यविधि

15.4 प्रेक्षण एवं परिणाम

15.5 परिणामों का विवेचन

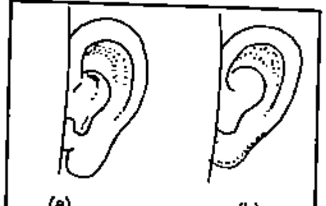
15.1 प्रस्तावना

इस अभ्यास में आप कुछ ऐसे मानव लक्षणों के विषय में सीखेंगे जिनमें साधारण प्रभावी–अप्रभावी संबंध पाए जाते हैं और जिनमें वही वंशागति विधि पायी जाती है जो मेंडल ने सूत्रबद्ध की थी । इस अध्ययन के लिए हमने पांच आसानी से पहचाने जा सकने वाले लक्षणों को चुना है :



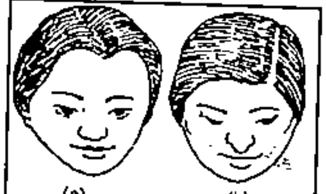
(a) roller (b) non-roller

FIG. 15.1



(a) free-lobe (b) attached-lobe

FIG. 15.2



(a) widow's peak (b) straight hair line

FIG. 15.3

(a) Hitchhiker's thumb (b) Straight thumb

FIG. 15.4

i) जीभ की नलकी बनाना,

ii) जुड़ी हुई कर्ण–पालि,

iii) विडोज़ पीक,

iv) हिचिकर–अंगूठा, तथा

v) PTC स्वादन

i) **जीभ की नलकी बनाना** (Tongue rolling) जीभ को एक U की आकृति में नलकी बनाने की क्षमता एक प्रभावी ऐलील (R) के नियंत्रण में होती है । नलकी न बना सकना एक अप्रभावी लक्षण (r) होता है (देखिए चित्र 15.1) ।

ii) **कर्ण–पालि का जुड़ा होना** (Attached ear lobe) जहां कान शीर्ष से जुड़े होते हैं वहां से नीचे को लटकी हुई जो पालियां होती है उन्हें मुक्त कहा जाता है । यह दशा प्रभावी होती है और इसे ऐलील F से दर्शाया जाता है । जुड़ी हुई अप्रभावी (f) होती है देखिए (चित्र 15.2) ।

iii) **विडोज़ पीक** (Widow's peak) इस लक्षण में माथे पर बीचों–बीच सिर के बालों की रेखा एक नुकीले रूप में नीचे को आयी हुई होती है (देखिए चित्र 15.3 a) । यह लक्षण (W) (देखिए चित्र 15.3 b) सीधी केश–रेखा (w) पर प्रभावी होता है ।

iv) **हिचिकर–अंगूठा** (Hitchhiker's thumb) कुछ लोगों में अपने हाथ के अंगूठे के आखिरी (नाखून वाले) जोड़ को पीछे की ओर को ज्यादा मोड़ सकने की क्षमता होती है; यह क्षमता एक अप्रभावी ऐलील (n) के कारण होती है । सीधा अंगूठा (N) हिचिकर अंगूठे पर प्रभावी होता है (देखिए चित्र 15.4) ।

v) PTC का स्वाद (PTC tasting) फीनाइल थीयोकार्बेमाइड (PTC) का स्वाद महसूस होना (T) एक प्रभावी लक्षण है जब कि इसका स्वाद महसूस न होना (t) एक अप्रभावी लक्षण है । आपका परामर्शदाता और इस अहानिकर रसायन में पहले से

डुबोकर सुखाए गए कागजों के टुकड़े आपको देगा। हो सकता है कि आप आश्चर्य करें कि आप इसे चखकर महसूस करते हैं या नहीं करते, इसका स्वयं अनुभव कर लीजिएगा।

उद्देश्य

इस अभ्यास को कर लेने के बाद आप इस योग्य होने चाहिए कि आप :

- महसूस कर पाएं कि मानव समष्टि में कितनी ज्यादा विभिन्नता है और यह विभिन्नता इस स्पीशीज की विविधता में योगदान कर रही है;
- ऐसे विभिन्न प्रकार के मानव-लक्षणों को पहचान सकें जो कदाचित मेंडलीय लक्षणों की श्रेणी में आते हैं क्योंकि उनमें एक साधारण प्रभावी-अप्रभावी संबंध पाया जाता है।

15.2 आवश्यक सामग्री

PTC पेपर

15.3 कार्यविधि

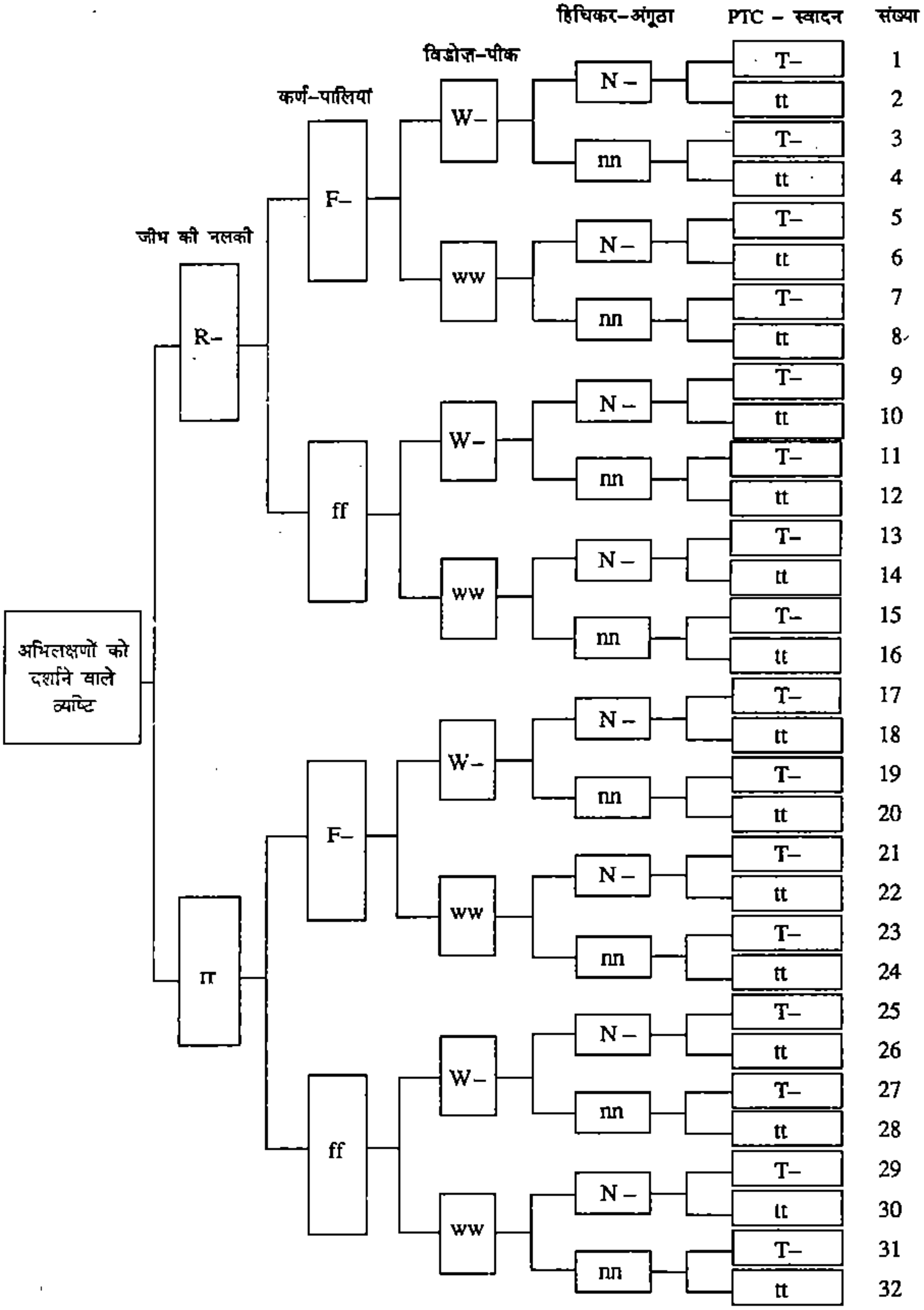
चरण 1 : क्या आपने ऊपर दिए गए विवरणों को ध्यान से पढ़ा है ? अब आप अपना फीनोटाइप तथा जीनोटाइप अभिनिर्धारित कीजिए और उसे सारणी 15.1 में रिकार्ड कीजिए। अगर आप में प्रभावी फीनोटाइप दिखायी पड़ता है तब आप उसे केवल एक ही संकेताक्षर से व्यक्त कीजिए क्योंकि आपको विशिष्ट जीनोटाइप मालूम नहीं हो सकता है। उदाहरण के लिए यदि आप PTC चख सकने वाले हैं तब आप केवल T– लिखिए।

चरण 2 : नीचे एक चार्ट दिया जा रहा है (चित्र 15.5)। इसका इस्तेमाल आप स्वयं अपने में पाए जाने वाले लक्षण-संयोजनों के वास्ते कीजिए। इसका प्रारंभ जिहवा-नलिकन (जीभ की नलकी बना सकने) से होता है। आप देखिए कि आप किस खाने में आते हैं R– में अथवा rr में। सही खाने में सही का निशान लगा दीजिए।

चरण 3 : अब जहां आपने सही का निशान लगा रखा है वहां से दाहिनी ओर के अगले बक्सों की जोड़ी की ओर चलिए। पता कीजिए कि आप F– (मुक्त कर्ण-पालि) की श्रेणी में आते हैं या की ff जुड़ी कर्ण-पालि की श्रेणी में। अब फिर से उचित बक्से में सही का निशान लगा दीजिए। इस प्रक्रिया को जारी रखते हुए अंतिम पांचवे लक्षण तक आ जाइए।

चरण 4 : अंतिम बक्से के सामने जो संख्या दी गयी है वह आप में पाए जाने वाले लक्षणों के संयोजन की संख्या है, इस संख्या के चारों ओर एक गोला बना दीजिए।

चरण 5 : उन संख्याओं को भी एकत्र कर लीजिए जो आपके सहपाठियों ने स्वयं अपने बारे में निर्धारित की है, और देखिए कि उनमें से कितनी संख्याएं समान हैं और कितनी असमान हैं। अपने प्रेक्षणों को सारणी 15.2 में भरिए।


हिचिकर-अंगूठा
PTC – स्वादन
संख्या
विडोज़-पीक
कर्ण-पालियाँ
जीभ की नलकी
अभिलक्षणों को दर्शाने वाले व्यष्टि
R–
rr
F–
ff
W–
ww
N–
nn
T–
tt
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

चित्र 15.5

15.4 प्रेक्षण एवं परिणाम

अपने परिणामों को निम्न सारणी में लिखिए :

सारणी 15.1 : ऊपर दिए गए पांच मेंडलीय लक्षणों के आधार पर आपका अपना जीनोटाइप तथा फीनोटाइप ।

लक्षण	आपका फीनोटाइप	आपका जीनोटाइप
जीभ की नलकी बना सकना		
कर्ण-पालियां		
विडोज़ पीक		
हिचिकर-अंगूठा		
PTC स्वादन		

आप किस वर्ग के अंतर्गत आते है ? ....

सारणी 15.2 : ऊपर दिए पांच मेंडलीय लक्षणों के लिए एक समष्टि प्रतिचयन (आपका समूह) ।

लक्षण	प्रभावी फीनोटाइप वालो की संख्या	अप्रभावी फीनोटाइप वालों की संख्या	जोड़	प्रभावी फीनोटाइप की बारंबारता
जीभ की नलकी बना सकना				
कर्ण-पालियां				
विडोज़ पीक				
हिचिकर-अंगूठा				
PTC स्वादन				

15.5 परिणामों का विवेचन

1) क्या आपकी कक्षा में कुछ और भी ऐसे विद्यार्थी हैं जिनका एक ही समान फीनोटाइप है और इसलिए वे उसी वर्ग में आते हैं जो चित्र 15.5 में (सुदूर दायीं ओर) दिखाया गया है । यदि ऐसा है तो आप बताइए कि वे किस प्रकार भिन्न हैं ?

....

....

....

2) 5 लक्षणों को लेकर हम 32 भिन्न फीनोटाइप बना सकते हैं और आगे प्रथक्करण करने के वास्ते मान लीजिए हम आठ भिन्न लक्षणों को लेते हैं। बताइए कि कुल फीनोटाइपों की कितनी संख्या संभव हो सकती है ? तीन अन्य लक्षणों के नाम बताइए जिन्हें आप लेना चाहेंगे।

....

....

....

3) यदि दो या अधिक लोगों की, चित्र 15.5 में दी गयी संख्या एक ही हो, तो बताइए वे लोग देखने में क्या एक जैसे दिखायी देंगे ? स्पष्ट कीजिए।

....

....

....

4) हमने जिन पांच लक्षणों को लिया है उनके संदर्भ में चित्र 15.5 की संख्या 12 का जीनोटाइप संख्या 27 से किस प्रकार भिन्न है ?

....

....

....

....

....

....

5) मेंडलीय लक्षण के लिए प्रभावी फीनोटाइप की प्रत्याशित बारंबारता क्या होगी ? समझाइए।

....

....

....

....

....

6) समूह आंकड़ों पर आधारित होकर, क्या लक्षणों की प्रेक्षित बारंबारता के अनुरूप है ? ....

यदि अनुरूप नहीं हैं, तो वे कौन सी हैं ? ....

समझाइए कि क्या वे निम्न में से किसी कारणवश हैं :

क) प्रतिचयन त्रुटियां, ख) चयन ग) सहलग्नता ?

7. मनुष्यों में विभिन्नताओं के अध्ययन के लिए क्या आप कोई अन्य प्रयोग-डिज़ाइन सुझा सकते हैं ?

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

प्रयोग 16 मानव रक्त समूहों का अध्ययन

रूपरेखा

16.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
16.2 आवश्यक सामग्री
16.3 कार्यविधि
16.4 बोधप्रश्न

16.1 प्रस्तावना

इस शताब्दी के आरंभ में लैंडस्टाइनर के अध्ययनों से मानव में विभिन्न प्रकार के रक्त समुहों की खोज हुई तथा उनकी वंशागती की विधि का पता चला । मानव समष्टियों में चार प्रकार के रक्त समूह A, B, AB, तथा O पाए जाए जाते हैं तथा उनकी अभिव्यक्ति तीन विभिन्न ऐलीलों I^A, I^B तथा I^O द्वारा नियंत्रित होती है । I^A तथा I^B दोनों ही I^O पर प्रभावी हैं तथा I^A एवं I^B स्वयं सहप्रभावी (codominant) हैं । I^A, I^B तथा I^O बहु ऐलीलों (multiple alleles) की प्रणाली दर्शाते हैं । आपको याद होगा कि जब मेंडल ने पृथक्करण (segregation) का अध्ययन किया था तब वह जीनों का अध्ययन कर रहा था, और ऐसे जीनों में प्रत्येक की केवल दो-दो वैकल्पिक अभिव्यक्तियां अर्थात दो-दो ऐलील थे । परंतु मानव के रक्त समूहों की वंशागति में एक ऐसी स्थिति झलकती है, जिसमें एक ही संस्थिति (locus) पर दो से अधिक संख्या में ऐलील हो सकते हैं । ऐसी संस्थितियों को बहुल ऐलील संस्थितियां (multiple allelic loci) कहते हैं । इस अभ्यास में हम आपको ऐंटीजन-ऐंटीबॉडी प्रतिक्रियाओं पर आधारित रक्त समूह के निर्धारण की तकनीक समझाऐंगे ।

आप आनुवंशिकी के पाठ्यक्रम से भी स्मरण कर सकते हैं कि रक्त समूह A वाले व्यक्तियों में उनके सीरम में ऐंटी B बॉडी (anti B bodies) होते हैं तथा रक्त समूह B वाले व्यक्तियों के सीरम में ऐंटी A बॉडी होते हैं । AB रक्त समूह वाले व्यक्तियों में न तो ऐंटी A बॉडी और न ही ऐंटी B बॉडी होते हैं तथा O रक्त समूह वाले व्यक्तियों के सीरम में ये दोनों ही ऐंटीबॉडी होते हैं । आप यह भी जानते हैं कि जब हम कहते हैं कि किसी व्यक्ति का कोई विशेष रक्त समूह (blood group) है, तब हमारा अभिप्राय होता है कि उस व्यक्ति के RBCs में पॉलीसैकेराइड के रूप में एक खास ऐंटीजन होता है । अतः A रक्त समूह वाले व्यक्तियों की लाल रक्त कोशिकाओं की झिल्ली में A ऐंटीजन होता है, B रक्त समूह वाले व्यक्तियों में ऐंटीजन B, AB रक्त समूह वालों में A तथा B दोनों ही ऐंटीजन और O रक्त समूह वाले में कोई भी ऐंटीजन नहीं होता । रक्त समूहों के विवरण को नीचे दी जा रही तालिका में संक्षेप में दिया गया है ।

रक्त समूह	ऐंटीजन	ऐंटीसीरम	जीन प्ररूप (जीनोटाइप)
A	A	B	I^AI^A, I^AI^O
B	B	A	I^BI^B, I^BI^O
AB	AB	—	I^AI^B
O	—	AB	I^OI^O

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने बाद आप :

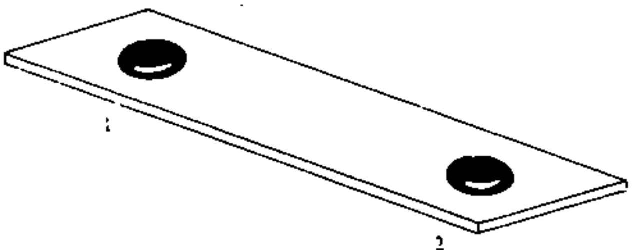
- नीचे दी गयी कार्यविधि के अनुसार ऐंटीजन-ऐंटीबॉडी प्रतिक्रियाओं के आधार पर रक्त समूह का परीक्षण कर सकेंगे,
- प्रत्येक परीक्षण के परिणामों की सही-सही व्याख्या कर सकेंगे ।

16.2 आवश्यक सामाग्री

पाश्चर पिपेट, ऐल्कोहॉल, ऐंटी A सीरम, ऐंटी B सीरम, माइक्रोस्लाइडें, टूथपिक, रूई, स्पिरिट लैम्प ।

16.3 कार्यविधि

1. रूई को ऐल्कोहॉल में भिगो कर अपनी तर्जनी उंगली अथवा बीच की उंगली के सिर को निजर्मीकृत (sterilise) कर लीजिए ।
2. उसी प्रकार एक नई तथा विना ज़ंग लगी सुई को या तो ऐल्कोहॉल से या स्पिरिट लैम्प की लौ के ऊपर रखकर निजर्मीकृत कर लीजिए ।
3. सुई की नोक से अपनी उंगली को एक बार चुभाइए । निकलने वाले खून की पहली बूंद को रूई से पोंछकर हटा दीजिए ।
4. अगली बूंद को एक साफ़ स्लाइड के ऊपर एक किनारे ले लीजिए तथा एक अन्य बूंद को दूसरे किनारे ले लीजिए जैसा कि चित्र 16.1 में दिखाया गया है । मार्कर पेंसिल के द्वारा बूंदों को 1 और 2 की संख्या दीजिए ।



चित्र 16.1

5. बूंद 1 में एक बूंद ऐंटीसीरम A को डाल कर उसे टूथपिक से अच्छी तरह मिला दीजिए । इसी प्रकार बूंद 2 में एक बूंद ऐंटीसीरम B को मिला दीजिए और उसे भी अच्छी तरह मिश्रित कर दीजिए । 2 या 3 मिनट तक ऐसे ही छोड़ दीजिए ।
6. निर्मिति को ध्यान से देखिए । अपने प्रक्षणों के आधार पर आपको निम्न निष्कर्षों पर आना है :

   क) यदि अवक्षेपण (precipitation) केवल बूंद 1 में होता है, तो इसका अर्थ है कि रक्त समूह A है ।

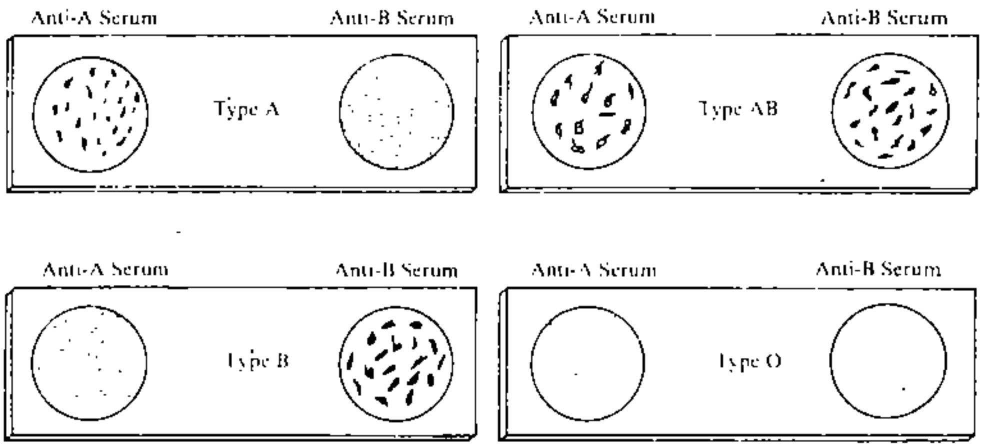
   ख) यदि अवक्षेपण केवल 2 में होता है, तो रक्त समूह है ।

ख) यदि अवक्षेपण केवल 2 में होता है, तो रक्त समूह है ।

ग) यदि अवक्षेपण 1 और 2 दोनों में होता है, तो इसका अर्थ है कि रक्त समूह AB है ।

(घ) यदि 1 और 2 दोनों में अवक्षेपण नहीं होता तो रक्त समूहO है ।

अपनी स्लाइड की तुलना चित्र 15.2 से कीजिए । सामान्यतः आप कोरी आंखों से ही अवक्षेपण अभिक्रया को अनवक्षेपण अभिक्रया से अलग स्पष्ट पहचान सकते हैं । यदि आप ऐसा नहीं कर पाते, तो आप इस ऐंटीजन–ऐंटीसीरम (antigen-antiserum) मिश्रण को माइक्रोस्कोप के नीचे देख सकते हैं ।



चित्र 16.2 । रक्त समूहों के लिए ऐंटीजन–ऐंटीसीरम अभिक्रियाएं

इन अवक्षेप के प्रेक्षण से आपको यह समझने में मदद मिली होगी कि जब भी किसी के शरीर में रक्त दिया जाता है (blood transfusion) तब यह ध्यान दिया जाता है कि चढ़ाए जाने वाले रक्त का वही समूह होना चाहिए जो कि प्रापक(recipient) का है । यदि A रक्त समूह वाले व्यक्ति के शरीर मेंB समूह वाले रक्त को चढ़ाया जाने तब दाता (donor) के सीरम में पायी जाने वाली ऐंटीबाडी प्रापक केRBCs का आश्लेषण (ऐग्लुटिनेशन– agglutination) कर देती है । आश्लोषित आर्थात् परस्पर चिपकी हुई गुच्छित कोशिकाएं प्रापक की रक्त कोशिकाओं को अवरुद्ध कर देती हैं, जिससे कभी–कभी मृत्यु तक हो जाती है । यही वह कारण है, जिससे रक्त चढ़ाने से पहले दाता और प्रापक दोनों के रक्त समूहों का निर्धारण कर लिया जाता हैं ।

बोध प्रश्न

1. चित्र 16.2 में दर्शायी गयी अवक्षेपण प्रतिक्रिया का आप किस प्रकार स्पष्टीकरण करेंगे ?

....

....

....

2. जिन चार रक्त समूहों का हमने विवेचन किया है, उनमें से संगताओं के आधार पर एक को सार्वत्रिक दाता (universal donor) और दूसरे का सार्वत्रिक प्रापक (universal recipient) कहा जाता है। क्या आप इन दोनों को बता सकते हैं और क्या यह भी स्पष्ट कर सकते हैं कि इन्हें ऐसा क्यों कहा जाता है।

3. पैतृकता के एक विवाद में दो दम्पति एक साथ एक बच्चे को अपना बच्चा होने का दावा करते हैं। इस रक्त समूह O है। एक स्त्री का रक्त समूह AB तथा दूसरी स्त्री का B समूह था। AB रक्त समूह वाली स्त्री के पति का रक्त समूह A था तथा दूसरी स्त्री के पति का रक्त समूह B था। एक आनुवंशिकीविद् के रूप में आपको प्रमाण देना है। बताइए कि बच्चा किस दम्पति का हो सकता है ?

प्रयोग 17 ऐलीलों की तथा जीनोटाइप (जीन प्ररूपों) की बारंबारताओं का निर्धारण

रूपरेखा

17.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
17.2 प्रभावी तथा अप्रभावी ऐलीलों एवं जीनोटाइपों की बारंबारताओं का निर्धारण
17.3 बहु ऐलीलों की बारंबारता का निर्धारण

17.1 प्रस्तावना

इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप कुछ ऐसे सरल परिकलनों के विषय में सीखेंगे जिनका संबंध जीवसंख्याओं में ऐलीलों तथा जीनोटाइपों की बारंबारता से है। बारंबारता का अर्थ है कि किसी एक संपूर्ण जीवसंख्या में कोई ऐलील अथवा जीनोटाइप कितनी बार प्रकट होता है। उदाहरण के लिए, मान लीजिए एक जीवसंख्या में 500 व्यक्ति है, उनमें से यदि 180 व्यक्तियों में जीनोटाइप AA हो तब उस जीवसंख्या में AA की बारंबारता 180/500 अथवा 36% अथवा 0.36 है। आप जान चुके हैं कि किसी एक जोड़ी ऐलील के लिए मेंडलीय एकसंकर (monohybird) अनुपात फीनोटाइपों के लिए 3 : 1 है तथा जीनोटाइपों के लिए 1 : 2 : 1 है। इसी प्रकार यदि दो जोड़ी ऐलील निहित हों (A तथा a और B तथा b) तो फीनोटाइप-अनुपात 9 : 3 : 3 : 1 होगा तथा जीनोटाइप अनुपात 1 : 2 : 1 : 2 : 4 : 2 : 1 : 2 : 1 होता है। ये अनुपात दर्शाते हैं कि विशिष्ट संकरणों में अन्य फीनोटाइपों तथा जीनोटाइपों के सापेक्ष कोई एक फीनोटाइप अथवा जीनोटाइप कितनी बार प्रकट होता हैं। इनसे यह नहीं पता चलता कि किसी निर्दिष्ट जीवसंख्या में जीनोटाइपों की बारंबारता क्या है। जब आप कुछ सरल बीजगणितीय अभिव्यक्तियों का उपयोग करके सीखेंगे कि उन प्रभावी एवं अप्रभावी ऐलीलों की बारंबारताओं तथा उन जीनोटाइपों की, जो इन ऐलीलों से पैदा होते हैं बारंबारताओं के परिकलन की विधि क्या है।

उद्देश्य

इस अभ्यास को कर लेने के बाद आप :

- फीनोटाइपों के लिए उपलब्ध जीवसंख्या आँकड़ों पर आधारित प्रभावी एवं अप्रभावी ऐलीलों की बारंबारता परिकलित कर सकेंगे।
- ऐलीली बारंबारताओं पर आधारित जीनोटाइपों की बारंबारताएं प्राप्त कर सकेंगे।
- इस संकल्पना को बहुऐलीली प्रणालियों पर लागू कर सकेंगे, तथा
- रक्त समूह ऐलीलों और उनसे उत्पन्न होने वाले जीनोटाइपों की बारंबारताओं का परिकलन कर सकेंगे।

17.2 प्रभावी तथा अप्रभावी ऐलीलों एवं जीनाटाइपों की बारंबारता का निर्धारण

परिकलन के उद्देश्य के लिए आइए कल्पना करते हैं कि एक निर्दिष्ट ऐलील-जोड़े A तथा a की संपूर्ण बारंबारता 1 है। यदि मान लें कि ऐलील A की बारंबारता p के बराबर है, तथा इसके अप्रभावी ऐलील की बारंबारता q के बराबर है। तब

. की बारंबारता + a की बारंबारता = p + q = 1

सेर शब्दों में A की बारंबारता = p = (1 – q) तथा a की बारंबारता = q = (1 – p)

सा कि आप जानते ही हैं, ये दोनों ऐलील मिलकर तीन जीनोटाइप AA, Aa तथा aa नाते हैं और यह भी कि ये तीन जीनोटाइप 1:2:1 के अनुपात में पाए जाते हैं (1AA : Aa : 1aa) ।

व जीनोटाइपों की बारंबारताएं ये हो सकती है :

$AA = p \times p = p^2$

$Aa = p \times q = pq$

$q \times p = pq$

$aa = q \times q = q^2$

न लेते है कि तीनों ज़ीनोटाइपों की कुल बारंबारता = 1, तो

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

इए, अब एक उदाहरण देखें । किसी कालेज में 304 विद्यार्थियों की एक जनसंख्या में 14 विद्यार्थी फ़ीनाइलथीओकार्बेमाइड (PTC—पी.टी.सी.) को कड़वा चख सकते हैं जब शेष 90 नहीं चख सकते । PTC स्वादकों के जीनोटाइप में प्रभावी ऐलील T होता जब कि अस्वादक व्यक्ति अप्रभावी समयुग्मजी होते है । दिए गए आंकड़ों के आधार पर त विद्यार्थी जनसंख्या में T तथा t ऐलीलों की बारंबारता और साथ ही जीनोटाइपों T, Tt तथा tt) की बारंबारता का भी परिकलन करें ।

विद्यार्थियों की कुल संख्या	=	304
स्वादक	=	214
अस्वादक	=	90

ादक फ़ीनोटाइपों की बारंबारता = 214/304 = 0.7

स्वादक फ़ीनोटाइपों की बारंबारता = 90/304 = 0.3

की बारंबारता $= q^2 = 0.3$

ऐलील t की बारंबारता $= \sqrt{q^2} = \sqrt{0.3} = 0.55$

ऐलील T की बारंबारता $= (1 - q) = (1 - 0.55) = 0.45$

ीील बारंबारताओं (T = 0.45 तथा t = 0.55) पर आधारित करके हम जनसंख्या की ीनोटाइप–बारंबारताओं की प्रागुक्ति (prediction) इस प्रकार कर सकते हैं ।

TT की बारंबारता $= p^2 = 0.45 \times 0.45 = 0.2025$

Tt की बारंबारता $= pq = 0.45 \times 0.55 = 0.2475$

tT की बारंबारता $= qp = 0.55 \times 0.45 = 0.2475$

tt की बारंबारता $= q^2 = 0.55 \times 0.55 = 0.3025$

1.000

 प्रकार ऐलीलों की बारंबारताओं से जीनोटाइपों की बारंबारताओं का परिकलन किया जा कता है । ऐलीलों तथा जीनोटाइपों की बारंबारताओं को निकालने के लिए सम्पूर्ण जन–ख्या तथा अप्रभावी लक्षणधारी व्यक्तियों की संख्या संबंधी आंकड़े काफी होते हैं बशर्ते कि नों ऐलीलों में सामान्य प्रभावी–अप्रभावी (dominant-recessive) संबंध पाया जाता हो ।

किसी भी जीवसंख्या में ऐलीली तथा जीनोटाइपी बारंबारताओं की निर्धारण–विधि आपको समझ में आ गयी है, इसे परखने के लिए नीचे दी जा रही समस्या को हल करने की कोशिश कीजिए।

930 व्यक्तियों की एक जनसंख्या में किए गए सर्वेक्षण से पता चला कि उनमें से 325 व्यक्ति PTC के लिए अस्वादक हैं। जनसंख्या में T तथा t ऐलीलों की क्या बारंबारता है ? साथ ही TT, Tt तथा tt जीनोटाइपों की बारंबारता का भी परिकलन कीजिए।

17.3 बहु ऐलीलों की बारंबारता का निर्धारण

पिछले भाग में आपने $(p + q = 1)$ तथा $(p + q)^2 = 1$ समीकरणों के अनुप्रयोग के विषय में सीखा, जिनमें सरल प्रभावी–अप्रभावी संबंध दर्शाने वाले ऐलील निहित हैं। जब एक ही संस्थिति (लोकस) पर दो से अधिक ऐलील होते हैं, तब अतिरिक्त ऐलीलों की बारंबारता भी समीकरण में शमिल की जानी चाहिए। उदाहरण के लिए, रक्त समूह की ABO प्रणाली की वंशागति में तीन ऐलील निहित हैं। रक्त समूह A, B, AB तथा O का नियंत्रण एक बहु ऐलीली प्रणाली द्वारा होता है जिसमें I^A, I^B तथा I^O तीन ऐलील हैं। इनमें से I^A तथा I^B ऐलील तीसरे I^O ऐलील पर प्रभावी होते हैं लेकिन ये दोनों आपस में सहप्रभावी (codominant) होते हैं। चार रक्त समूहों के जीनोटाइप इस प्रकार हैं :

रक्त समूह	जीनोटाइप
A	I^AI^A, I^AI^O
B	I^BI^B, I^BI^O
AB	I^AI^B
O	I^OI^O

मान लीजिए कि ऐलीलों की बारंबारताएं इस प्रकार हैं –

$I^B = q$ तथा $I^O = r$ $I^A = p$,

तब $p + q + r = 1$

आइए, अब किसी एक जनसंख्या में रक्त समूह ऐलील बारंबारताओं का विश्लेषण करें।

1000 व्यक्तियों की एक जनसंख्या में रक्त समूह निर्धारण से पता चला कि उनमें से 328 A समूह में आते हैं, 122 B समूह में, 32 AB समूह में और 518 O समूह में आते हैं। जनसंख्या में ऐलीली तथा जीनोटाइपी बारंबारताओं का परिकलन कीजिए।

A प्रकार के व्यक्ति	—	328
B प्रकार के व्यक्ति	—	122
AB प्रकार के व्यक्ति	—	32
O प्रकार के व्यक्ति	—	518

I^A, I^B तथा I^O की बारंबारताओं को क्रमशः p, q तथा r मान लेते हैं, तो तीन ऐलीलों से बनने वाले जीनोटाइपों की बारंबारता इस प्रकार होगी :

$$(p+q+r)^2 = p^2 + 2pq + q^2 + 2qr + r^2 + 2rp$$

आइए, फ़ीनोटाइपों (लक्षणप्ररूपों) की बारंबारताओं तथा संभाव्य जीनोटाइपों को सारांश के रूप में एक तालिका में रखें।

फ्रीनोटाइप	फ्रीनोटाइप बारंबारता	जीनोटाइप	जीनोटाइप बारंबारता	समान फीनोटाइपों वाले जीनोटाइपों की बारंबारताएं
A	$\frac{328}{1000} = 0.328$	I^AI^A I^AI^O	p^2 $2pr$	$p^2 + 2pr$
B	$\frac{122}{1000} = 0.122$	I^BI^B I^BI^O	q^2 $2qr$	$q^2 + 2qr$
AB	$\frac{32}{1000} = 0.032$	I^AI^B	$2pq$	$2pq$
O	$\frac{518}{1000} = 0.518$	I^OI^O	r^2	r^2

$r^2 = 0.518$

$r = \sqrt{0.518} = 0.718$

I^O की बारंबारता $= r = 0.718$

I^A की बारंबारता $= p = 1 -$ B की बारंबारता + O की बारंबारता

B की बारंबारता $= q^2 + 2qr$

तथा O की बारंबारता $= r^2$

B की बारंबारता + O की बारंबारता $= q^2 + qr + r^2 = (q + r)^2$

तथा I^A की बारंबारता

$$= 1 - \sqrt{(q + r)^2}$$

$$= 1 - \sqrt{(q^2 + 2qr + r^2)}$$

$$= 1 - \sqrt{0.122 + 0.518}$$

$$= 1 - \sqrt{0.640}$$

$$= 1 - 0.8$$

$$= 0.2$$

I^A की बारंबारता $= 0.2$

चूंकि I^A तथा I^O की बारंबारताएं ज्ञात हैं, इसलिए I^B की बारंबारता को नीचे दिए गए व्यंजक (expression) का इस्तेमाल करके परिकलित किया जा सकता है ।

I^B की बारंबारता $= 1 - (I^A$ की बारंबारता $+ I^O$ की बारंबारता$)$

$= 1 - (0.718 + 0.2)$

$= 1 - 0.918 = 0.082$

I^B की बारंबारता $= 0.082$

ऐलीली बारंबारताएं इस प्रकार हैं : $I^A = 0.200$

$I^B = 0.080$

$I^O = 0.720$

1.000

तब जीनोटाइप बारंबारताएं इस प्रकार होंगी :

$I^AI^A = p^2 = 0.2 \times 0.2 = 0.0400$

$I^AI^A = 2pq = 2 \times 0.2 \times 0.72 = 0.2880$

$I^BI^B = q^2 = 0.08 \times 0.08 = 0.0064$

$I^BI^O = 2qr = 2 \times 0.08 \times 0.72 = 0.1152$

$I^AI^B = 2pq = 2 \times 0.2 \times 0.08 = 0.0320$

$I^OI^O = r^2 = 0.72 \times 0.72 = 0.5184$

$= 1.0000$

इन परिकलनों से स्पष्ट हो जाता है कि जीनोटाइप बारंबारताओं का योग भी 1 के बराबर होता है ।

$$p + q + r = 1 \text{ तथा } (p + q + r)^2 = 1$$

चूंकि ऐलील I^A तथा I^B में सहप्रभाविता पायी जाती है तथा I^O दोनों ऐलीलों के प्रति अप्रभावी है, ऐलीलों तथा जीनोटाइपों का वितरण फ़ीनोटाइपों के वितरण से भिन्न होता है । ऐलीली तथा जीनोटाइपी बारंबारताओं के वितरण के विषय में तथा जीवसंख्या में इनमें जो परिवर्तन होते हैं उन्हें आप LSE-03 आनुवंशिकी–पाठ्यक्रम की इकाई " जीवसंख्याओं में जीनों का आचरण" में पढ़ेंगे ।

प्रयोग 18 वंशावली चार्टों से वंशावली विश्लेषण

इकाई की रूपरेखा

18.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
18.2 वंशावली चार्ट के बनाने की कार्यविधि
18.3 ऑटोसोमी प्रभावी लक्षण
18.4 ऑटोसोमी अप्रभावी लक्षण
18.5 सेक्स–क्रोमोसोमी प्रभावी लक्षण
18.6 सेक्स–सहलग्न अप्रभावी लक्षण

18.1 प्रस्तावना

इससे पहले एक प्रयोग में आप कुछ ऐसे मानव लक्षणों का अध्ययन कर चुके हैं, जो मेंडलीय प्रभाविता–अप्रभाविता संबंध की संकल्पना का अनुसरण करते है। आप जानते ही हैं मेंडल ने नियंत्रित संकरणों के द्वारा ऐसे लक्षणों की वंशागति को लगातार क्रमिक पीढ़ियों के दौरान देखा-परखा। साथ ही, ऐसे ही संकरणों से पृथक्करण (segregation) एवं स्वतंत्र अपव्यूहन (independent assortment) के सिद्धांतों को भी परिणामतः निकाला गया। ये सिद्धांत मानव समेत सभी पौधों तथा जन्तुओं पर लागू होते हैं। किंतु जिस प्रकार के संकरण प्रयोग पौधों तथा जन्तुओं पर किए गए है, वैसे मनुष्यों पर नहीं किए जा सकते। अतः मनुष्यों में वंशागति के प्रतिरूपों के अध्ययन के लिए अन्य विधियां अपनानी पड़ती हैं। मनुष्यों में वंशागति के अध्ययन की एक विधि मानव आनुवंशिकीविदों तथा आनुवंशिकी परामर्शदाता (genetic counsellor) द्वारा वंशावली चार्टों का बनाना तथा विश्लेषण करना है। वंशावली चार्टों में कुछ निश्चित प्रतीक चिन्ह (symbols) होते हैं, जो अनेक क्रमिक पीढ़ियों में किसी लक्षण के संबंध में विस्तृत सूचना देते है। वंशावली चार्टों का ध्यानपूर्वक अध्ययन करने से निष्कर्ष निकाला जा सकता है कि अमुक लक्षण प्रभावी है या अप्रभावी और कि वह ऑटोसोमी लक्षण (autosomal trait) है या सेक्स–सहलग्न (sex-linked)। इस अभ्यास में हम वंशावली चार्टों को बनाना तथा उनका अर्थपूर्ण विश्लेषण करना सीखेंगे। अपने LSE-03 पाठ्यक्रम के अध्ययन से यह सुनिश्चित कर लीजिए कि आप ऑटोसोमी एवं सेक्स–क्रोमोसोमी (autosomal and sex chromosomal) वंशागति की संकल्पनाओं से परिचित है।

उद्देश्य

इस प्रयोग के करने के बाद आप :

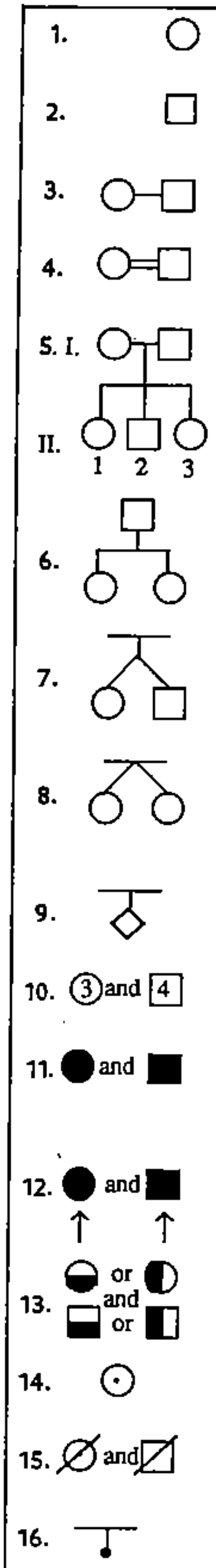
- वंशावली में सामान्यतः इस्तेमाल किए जाने वाले विविध प्रतीकों के अर्थ समझा सकेंगे,
- उपलब्ध अथवा दिए गए आंकड़ों के आधार पर वंशावली चार्ट बना सकेंगे,
- वंशावली चार्टों का विश्लेषण एवं उनकी व्याख्या कर सकेंगे तथा यह बता सकेंगे कि लक्षण विशेष ऑटोसोम से अथवा सेक्स क्रोमोसोम से संबंधित है और युग्म विकल्पी प्रभावी है या अप्रभावी।

18.2 वंशावली चार्ट बनाने की कार्यविधि

वंशावली चार्टों को बनाने तथा उनका विश्लेषण करने के पहले यह जरूरी है कि आप उन

नानाविध प्रतीकों से परिचित हो जाए जो वंशावली चार्ट बनाने में आमतौर से इस्तेमाल किए जाते हैं । आगे दी जा रही तालिका में प्रतीक दिए गए हैं तथा उनका अर्थ बताया गया है । आइए इनको पहले एक आसान वंशावली चार्ट से शुरूआत करें । इसके बाद हम जटिल वंशावली चार्ट का विश्लेषण करेंगे ।

तालिका 18.1 : वंशावली चार्टों में इस्तेमाल किए जाने वाले प्रतीक

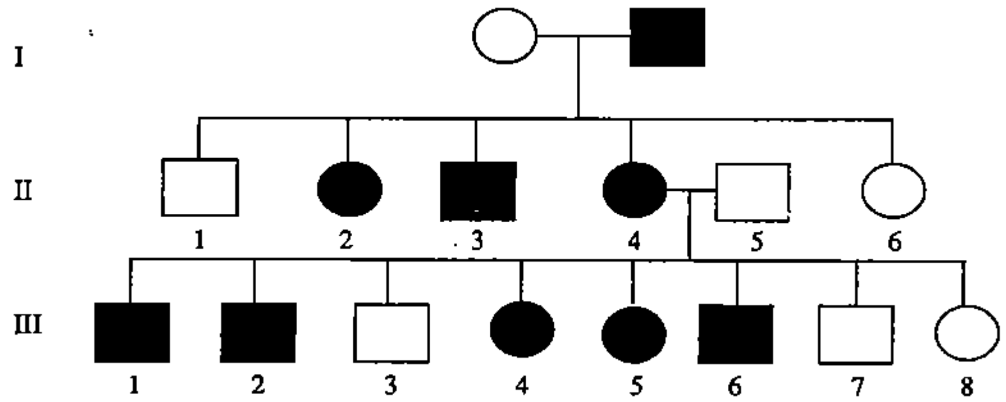


1.	सामान्य मादा
2.	सामान्य नर
3.	विवाह दर्शाता है
4.	सगोत्र संगम अथवा निकट संबंधियों के बीच का संगम दर्शाता है ।
5. I.	सामान्य जनक जिनके तीन सामान्य बच्चे हैं, दो पुत्रिया तथा एक पुत्र
II.	रोमन संख्याएं (I, II आदि) पीढ़ी की संख्या दर्शाती है तथा सामान्य अंक (1, 2, 3 आदि) संतानों के जन्म का क्रम दर्शाती हैं ।
6.	केवल एक ही जनक दर्शाया गया है, क्योंकि दूसरा जनक सामान्य है और वंशावली विश्लेषण में उसका कोई महत्व नहीं है ।
7.	सामान्य (बांधव) यमज अर्थत ऐसे जुड़वा जो दो विभिन्न युग्मनजों से बनते हैं (द्वियुग्मनजी, dizygotic)
8.	अभिन्न यमज अर्थत ऐसे जुड़वां जो एक अकेले युग्मनज से बनते हैं (एकयुग्मनजी, monozygotic)
9.	सेक्स का पता नहीं
10.	प्रत्येक सेक्स के बच्चों की संख्या
11.	भरा हुआ वृत्त प्रभावित पुत्री दर्शाता है तथा भरा हुआ वर्ग प्रभावित पुत्र दर्शाता हैं ।
12.	प्रभावित व्यक्तियों के नीचे दिया गया तीर का निशान यह संकेत देता है कि इस व्यक्ति से विश्लेषण का प्रारंभ होता है ।
13.	ऑटोसोमी विषमयुग्मनजी अप्रभावी
14.	सेक्स–सहलग्न वाहक व्यक्ति
15.	रोगग्रस्त व्यक्ति
16.	गर्भपातित भ्रूण अथवा मृत बच्चे का जन्म

फ़ेनिल थायो-कार्बेमाइड (PTC) नामक रसायन को चख सकने की क्षमता के आधार पर मनुष्यों को दो श्रेणियों में विभाजित किया जा सकता है । चख पाने वाले (स्वादक) इसे कड़वा चखते हैं तथा अस्वादकों को इस रसायन में कतई कोई भी स्वाद नहीं आता । युग्म विकल्पी T PTC को चखने की क्षमता निर्धारित करता है तथा जो व्यक्ति इस युग्म विकल्पी के लिए समयुग्मजी अप्रभावी हैं, वे अस्वादक (न चख पाने वाले) होते हैं । एक परिवार में पायी गयी स्वादांधता (taste blindness) के आंकड़े नीचे दिए जा रहे हैं :

इसमें मां अस्वादक है तथा इस दम्पति के पांच बच्चे हुए – तीन पुत्रियां तथा दो पुत्र । इन संतानों में से एक पुत्र तथा एक पुत्री अस्वादक हैं । एक स्वादक पुत्री का विवाह एक अस्वादक पुरूष के साथ हुआ । इस दम्पति की आठ संतानों हुई, पांच पुत्र तथा तीन पुत्रियां जिनमें से दो पुत्र तथा एक पुत्री अस्वादक हैं ।

दिए गए आंकड़ों के आधार पर हम एक वंशावली चार्ट बना सकते हैं जिससे इस परिवार में अस्वादक युग्म विकल्पी की वंशागति दर्शायी जा सकती है ।

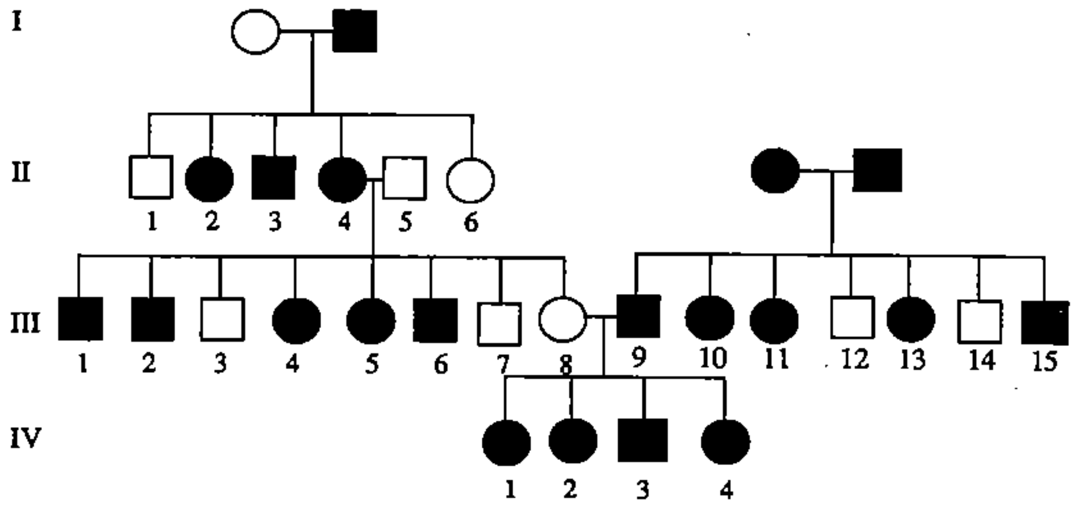


चित्र. 18.1

इस वंशावली में दर्शाया गया है कि मादा जनक एक अस्वादक है । इसी प्रकार II-2 तथा II-4 भी अस्वादक हैं, और इसी तरह III-2, III-4 तथा III-6 भी । इस वंशावली से निष्कर्ष निकाला जा सकता है कि यह लक्षण एक ऑटोसोमी युग्म विकल्पी द्वारा निर्धारित होता है । निष्कर्ष–विधि का विवेचन इस प्रकार है । संक्षेप में कह सकते हैं कि यदि युग्म विकल्पी सेक्स–सहलग्न लक्षण होता तब दूसरी पीढ़ी के सभी नर व्यक्तियों में यह लक्षण आते । आप आनुवंशिकी के पाठ्यक्रम की इकाई 4 में पढ़ चुके हैं कि सेक्स–सहलग्न लक्षण प्रायः मां से पुत्र में पहुंचते हैं तथा पिता से पुत्री में, इस परिघटना को " क्रिस–क्रास " वंशागति कहा जाता है । वंशावली चार्ट से निष्कर्ष निकाला जा सकता है कि यह लक्षण प्रभावी है या कि अप्रभावी । अगर हम मान लें कि यह लक्षण प्रभावी है और मां इसके लिए समयुग्मजी (TT) है तब पिता समयुग्मजी (tt) होना चाहिए । उस स्थिति में इस दम्पति की सभी संतानें निश्चित रूप में स्वादक एवं विषमयुग्मजी (Tt) होंगी । मगर यहां ऐसी बात नहीं है । मान लिया कि मां विषमयुग्मजी प्रभावी है तब उसकी आधी संतानें अस्वादक होगी तथा शेष आधी स्वादक होंगी । न्यूनाधिक रूप में यही बात दी गयी वंशावली में है । II-4 स्त्री का विवाह एक अस्वादक के साथ हुआ है । अगर मान लें कि यह पुरुष भी विषमयुग्मजी स्वादक है, तब उसके आधे बच्चे अस्वादक होंगे और शेष आधे बच्चे स्वादक । आंकडों से लगता है कि III पीढ़ी में यही दशा है । तो प्रश्न उठता है कि क्या स्वादक युग्म विकल्पी प्रभावी है ?

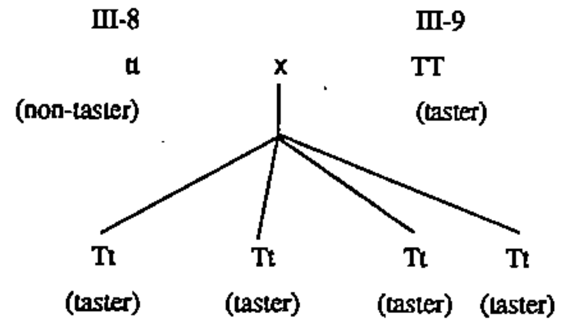
अगर मान लें कि स्वादक युग्म विकल्पी अप्रभावी है और P1 पीढ़ी का नर अस्वादक के लिए विषमयुग्मजी है, तब भी परिणाम उसी प्रकार के निकलेंगे जैसे कि वंशावली चार्ट में दिखाए गए हैं । अतः वंशावली चार्ट इस बात में अधूरा है क्योंकि इससे यह निष्कर्ष निकालने मे सहायता नहीं मिलती कि संबद्ध युग्म विकल्पी प्रभावी है अथवा अप्रभावी ।

अनिवार्यतः इस परिवार के विष्य में और अधिक आंकड़े प्राप्त कर चार्ट को अधिक विस्तृत करना होगा। मान लेते है कि हमें अतिरिक्त आंकड़े मिल गए है। III-8 स्त्री एक अस्वादक थी और उसका विवाह एक स्वादक नर के साथ हुआ था। इस दम्पति की चार संतानों हुई जो सभी स्वादक थीं। तो आइए अब हम इस वंशावली चार्ट में इस अतिरिक्त सूचना को जोड़ कर इसे दुबारा से बनाते है।



चित्र. 18.2

अब, III-8 तथा III-9 संख्या वाले व्यक्तियों की शादी होती है तथा उनके चार स्वादक बच्चे होते हैं। वंशावली चार्ट के इस अंश से हम विना संदेह निर्धारित कर सकते है कि यह युग्म विकल्पी प्रलील प्रभावी है अथवा अप्रभावी। इस तथ्य से कि III-8 एवं III-9 जनकों की पैदा होने वाली चारों संतानें स्वादक है और इस बात से कि केवल एक ही जनक स्वादक है, स्पष्ट रूप में पता चल जाता है कि पिता एक समयुग्मजी प्रभावी (TT) है तथा माता अप्रभावी(tt) हैं।



चित्र. 18.3

अतः अध्ययन किया जा रहा युग्म विकल्पी प्रभावी युग्म विकल्पी है। PTC स्वादन लक्षण अनिवार्यतः एक ऑटोसोमी प्रभावी लक्षण (autosomal dominant trait) है। क्या कोई लक्षण, ऑटोसोमी है या कि सेक्स-क्रोमोसोमी, और क्या वह प्रभावी है या अप्रभावी यह पहचान करने के लिए कुछ खास सामान्य प्रतिरूपों का अनुसरण किया जा सकता है।

18.3 ऑटोसोमी प्रभावी लक्षण

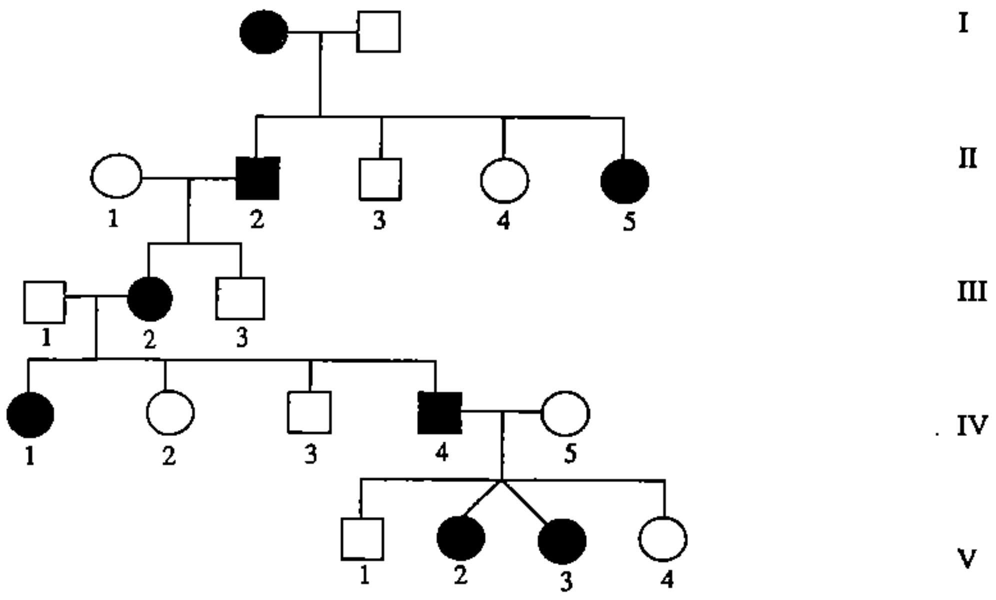
क) ऑटोसोमी प्रभावी लक्षण सामान्यतः सभी पीढ़ियों में प्रकट होते है। दूसरे शब्दों में वे पीढ़ियों को लाघते नही है।

ख) जब किसी एक लक्षण से प्रभावित कोई एक अन्य सामान्य व्यक्ति से विवाह करता है

तब उसकी संतानों में सामान्य संतानें तथा प्रभावित संताने 1:1 के अनुपात में प्राप्त होती हैं।

ग) लक्षणों के संबंध में लिंग (नर या स्त्री) के बीच कोई अंतर नहीं पाया जाता और वह लक्षण दोनों लिंगों में समान रूप में वितरित होता है।

चित्र 18.4 में दी गयी वंशावली में एक ऑटोसोमी लक्षण की वंशागति का सामान्य प्रतिरूप दर्शाया गया है। वंशावली का ध्यान से अध्ययन कीजिए और यह सुनिश्चित करिए कि यहां जो ऑटोसोमी प्रभावी वंशागति दिखायी गयी हैं वह ऊपर दिए गए कथनों के अनुरूप है।



चित्र. 18.4

मनुष्य में पाए जाने वाले कुछ ऑटोसोमी प्रभावी लक्षण इस प्रकार हैं : लघु–अंगुलता (brachydactyly), हटिंगटन–रोग, फ़ेनिल थोयो–कार्बेमाइड (PTC) चख सकने की क्षमता, बहु–अंगुलता (polydactyly)।

18.4 ऑटोसोमी अप्रभावी लक्षण

क) ऑटोसोमी प्रभावी लक्षणों से भिन्न ऑटोसोमी अप्रभावी लक्षण प्रत्येक पीढ़ी में प्रकट नहीं होते। दूसरे शब्दों में ये लक्षण कुछ एक पीढ़ियों को लांघ कर कुछ अन्य में प्रकट हो जाते हैं।

ख) ऑटोसोमी प्रभावी लक्षणों की तरह इनका भी दोनों लिंगों में समान वितरण होता है।

ग) ये लक्षण सामान्यतः उन बच्चों में अधिक पाए जाते है जो या तो खून के रिश्ते वाले दम्पत्तियों के पैदा होते हैं अर्थात् ऐसे दम्पतियों के जो विवाह से पूर्व तयेरे–चचेरे, ममेरे–फुफेरे या मौसेरे भाई–बहन रहे हों या फिर रिश्ते में बहुत निकट हों।

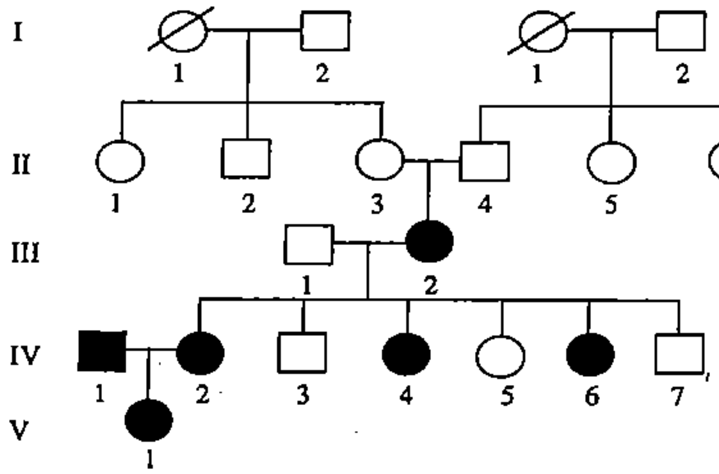
घ) यदि दोनों जनक प्रभावित हों तो पैदा होने वाले सभी बच्चे भी प्रभावित होंगे।

ड) प्रभावित बच्चों के जनक हो सकता है सामान्य रहे हों।

च) सामान्य माता–पिता के प्रभावित बच्चे के पैदा होने का मतलब है कि दोनों जनक विषमयुग्मजी है और वे इस लक्षण के युग्म विकल्पी के वाहक है।

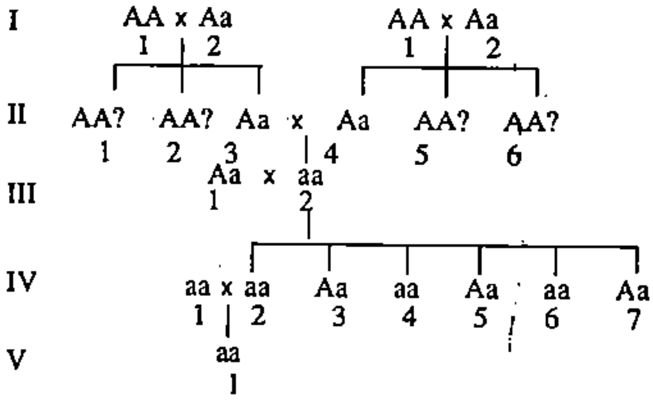
छ) यदी दोनों जनक विषमयुगमजी हैं, तब संभावना ऐसी है कि इनके लगभग 50% वच्चों में यह अप्रभावी लक्षण आएगा।

चित्र 18.5 में दी गयी वंशावली में मनुष्यों में रंजकहीनता (albinism) का वंशागति प्रतिरूप दिखाया गया है। रंजकहीनता एक दुर्लभ पाया जाने वाला ऑटोसोमी अप्रभावी लक्षण है और इसका संदर्भ एक ऐसी दशा से है, जिसमें व्यक्ति के शरीर में मेलानिन वर्णक के संश्लेषण की क्षमता नहीं होती। वंशावली का ध्यान से अध्ययन कीजिए और इस बात की जांच कीजिए कि रंजकहीनता की वंशागति एक ऑटोसोमी मानव लक्षण के ही प्रकार की होती है।



चित्र. 18.5

चित्र 18.5 में दी गयी वंशावली के विश्लेषण से पता चलता है कि III-2 संतान रंजकहीन है हालांकि उसके माता–पिता दोनों ही सामान्य हैं। अनिवार्यत : वे विषमयुग्मजी होने चाहिए और पुत्री को दो अप्रभावी जीन प्राप्त हो जाते हैं। साथ ही IV 2, 4 और 6 भी रंजकहीन हैं, इससे संकेत मिलता है कि इनका पिता भी विषमयुग्मजी रहा होगा। चूंकि IV 1 तथा 2 भी रंजकहीन है, इसलिए उनकी पुत्री V-1 भी रंजकहीन है। ऊपर दी गयी वंशावली के जीनप्ररूपों को इस प्रकार लिखा जा सकता है :



प्रश्न–चिन्ह संकेत देता है कि इन व्यक्तियों के जीन प्ररूप या तो AA हो सकते हैं या Aa

चित्र. 18.6

18.6 सेक्स–क्रोमोसोमी प्रभावी

क) जैसा कि ऑटोसोमी प्रभावी विशेषकों के मामले में होता है, उसी प्रकार सेक्स–सहलग्न प्रभावी विशेषको की वंशागति में भी पीढ़ियां छूटती नहीं हैं।

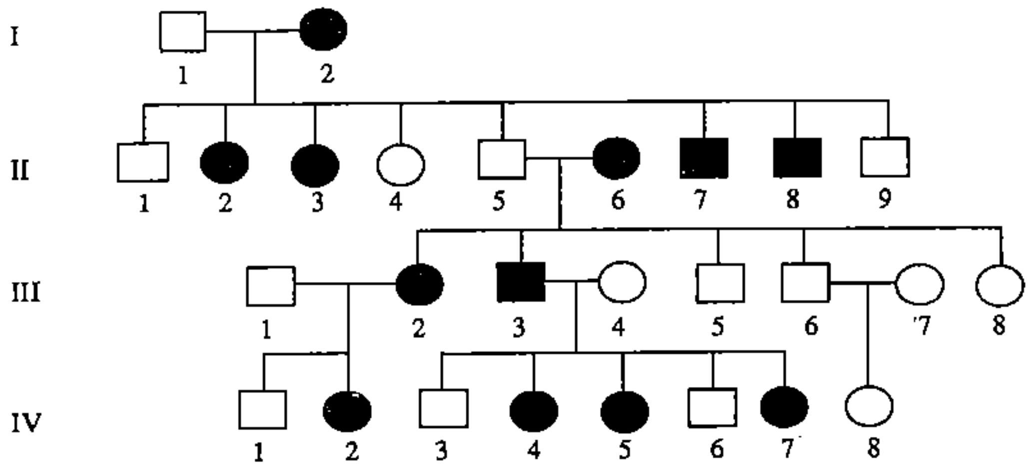
ख) नर सदैव अपनी मां से ही लक्षण प्राप्त करते है।

ग) मादाएं प्रभावी युग्म विकल्पी को या तो अपनी मां से या अपने पिता से प्राप्त करती हैं।

घ) यदि स्त्री प्रभावित होती है तब उसके पुत्रो में से आधे पुत्र और पुत्रियों में से आधी पुत्रियां प्रभावित होती है ।

ङ) जब नर प्रभावित होता है तब उसकी सभी पुत्रियां तो प्रभावित होती मगर एक भी पुत्र प्रभावित नहीं होता ।

सेक्स–सहलग्न प्रभावी विशेषक बहुत ही कम होते हैं । एक सेक्स–सहलग्न प्रभावी विशेषक है मुख–आनन–अंगुलि सिंड्रोम (oral-facial-digital-syndrome) जिसमें व्यक्ति की चिरी जीभ दांतों का न होना, तथा मंद बुद्धि का होना पाया जाता है । अन्य सेक्स–सहलग्न प्रभावी युग्म विकल्पी जिनसे कुछ खास रोग होते है वह है :– अलब्राइट की वंशागत ऑस्टियोडिस्ट्रोफ़ी (Albright's hereditary osteodystrophy), इसमें कोई भी रोग जल्दी हो जाता हैं, वृद्धि काफी कम तथा बुद्धि मंद होती है, गोल्टज़ सिंड्रोम (Goltz's syndrome) इसके लक्षण है — मंद बुद्धि, छोटी आंखें, तथा ढीली उंगलियाँ और रोगी मेलानोब्लास्टो में मेलानिन को संचित न हो पाता । चित्र 18.7 में एक ऐसे हीं सेक्स–सहलग्न प्रभावी विशेषक को दिखाया गया है ।



चित्र.18.7

आप चित्र 18.7 में देखेगे कि सेक्स–सहलग्न विशेषक सभी पीढ़ियों में प्रकट हो रहा है तथा लक्षण पिता से सदैव पुत्रियों में पहुंचता है न कि पुत्रो में (ध्यान दीजिए कि III-3 के नर से यह लक्षण सभी पुत्रियों को गया है परंतु दोनों पुत्र सामान्य हैं) ।

18.7 सेक्स–सहलग्न अप्रभावी लक्षण

क) चूंकि नरों में केवल एक ही X- क्रोमोसोम होता है और वे उसे अपनी मां से प्राप्त करते है, इसलिए नर ही सेक्स–सहलग्न अप्रभावी युग्म विकल्पी से सबसे ज्यादा प्रभावित होते हैं ।

ख) सामान्यतः मादाएं अप्रभावी युग्म विकल्पी की वाहक होती हैं, अतः उनका जीनप्ररूप विषमयुग्मजी होता है ।

ग) मादाएं विषमयुग्मजी मानी जाती हैं क्योंकि उनके भाई, पिता या मामा प्रभावित होते हैं ।

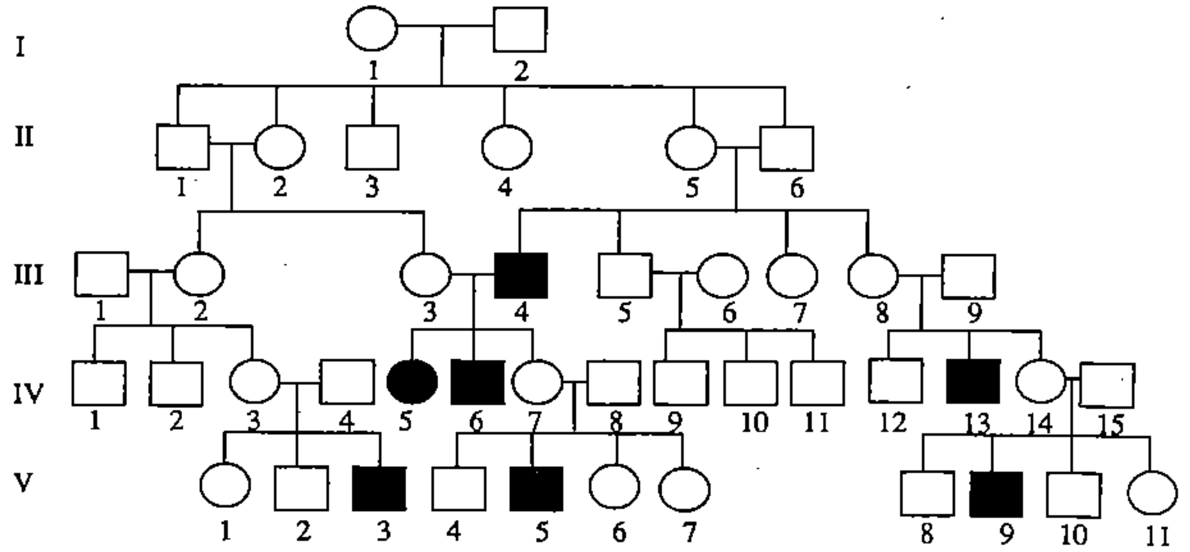
घ) नर व्यक्तियों में X- लग्न अप्रभावी विशेषक उनकी माताओं से आता है ।

ङ) मादाओं में इस विशेषक की अभिव्यक्ति केवल तब होती है, जब उनमें समयुग्मजी अप्रभावी जीनप्ररूप हो तथा उन्हें युग्म विकल्पी वाहक माताओं (carrier females) से तथा ग्रस्त पिताओं से प्राप्त हो ।

च) प्रभावित मादा के सभी पुत्र प्रभावित होते हैं तथा 50% पुत्रियां वाहक होती हैं ।

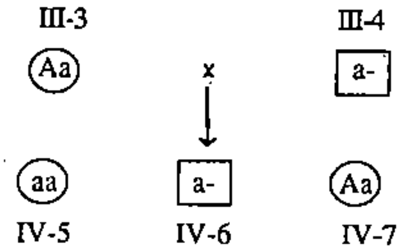
छ) वाहक मादा के लगभग 50% पुत्र प्रभावित होंगे ।

मनुष्यों में अनेक सेक्स–सहलग्न विशेषक विदित है । हीमोफ़िलिया रोग सेक्स–सहलग्न अप्रभावी वंशागति का सबसे सामान्य उदाहरण है एक अन्य उदाहरण है रगांधता जिसमें लाल तथा हरे रंग में अन्तर करने की क्षमता नहीं होती । एंज़ाइमों से संबधित कई कमियां जो सेक्स–सहलग्न होती पायी जाती हैं जैसे कि G-6-PD को कमी (G-6 PD deficiency: ग्लूकोस 6–फ़ॉस्फेट डिहाड्रोजेनेज़ की कमी) । सेक्स–सहलग्न अप्रभावी युग्म विकल्पी की वंशागति का प्रतिरूप चित्र 18.8 में दर्शाया गया है ।



चित्र. 18.8

सेक्स–सहलग्न अप्रभावी वंशागति के मामले में, प्रभावित नरों की संख्या प्रभावित मादाओं से हमेशा ज्यादा होती है । ऐसा अनिवार्यतः इसलिए होता है क्योंकि नरों में केवल एक ही X- क्रोमोसोम मां से भी आता है । आप चित्र 18.8 में देख सकते हैं कि एक सामान्य मादा III-3 का एक प्रभावित नर III-4 से विवाह होने पर उनकी तीन संतानें होती है दो पुत्रियां तथा एक पुत्र । चूंकि पुत्र प्रभावित है, इसलिए यह स्पष्ट है कि मां इस अप्रभावी युग्म विकल्पी की वाहक है तथा उससे ही यह विशेषक पुत्र में पहुंचा है ।

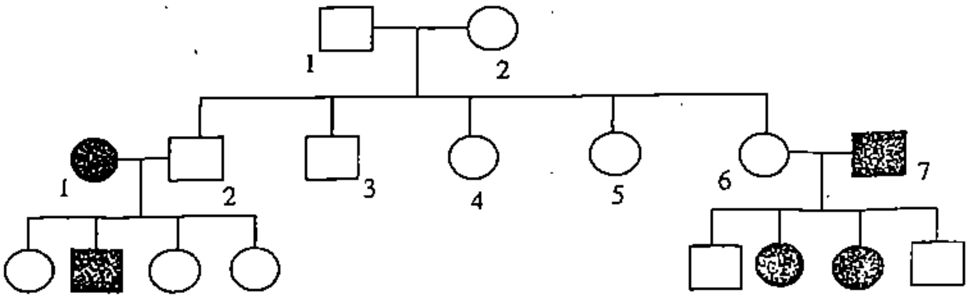


चित्र.18.9

इसी प्रकार III-8, IV-7 तथा IV-14 विषमयुग्मजी माताएं है जिनसे यह विशेषक पुत्र को में पहुंचा है । अभी तक हम वंशावली चार्टों के विश्लेषण का विवेचन कर रहे थे और यह स्थापित कर रहे थे कि विशेषक ऑटोसोमों पर स्थित है या कि सेक्स क्रोमोसोमों पर और यह पता करने की कोशिश कर रहे थे कि ये विशेषक प्रभावी हैं या अप्रभावी । अब आप निम्न समस्याओं पर काम करके देखिए कि आप वंशावली चार्टों को समझने सकते है या नहीं ।

बोध प्रश्न

1. निम्न वंशावली का विश्लेषण कीजिए और पूछे गए प्रश्नों के उत्तर दीजिए ।



चित्र. 18.10

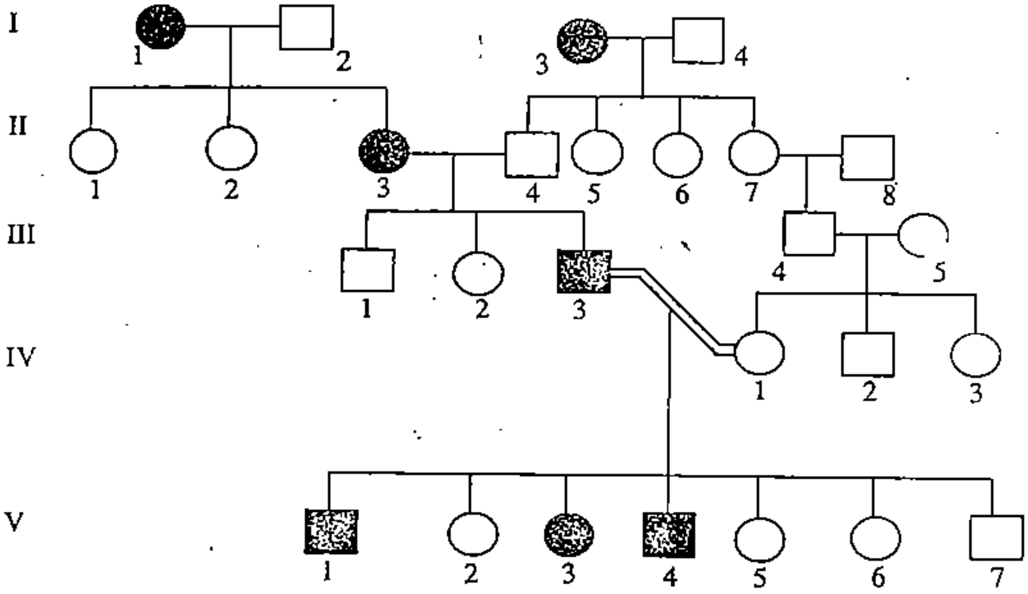
क) क्या यह विशेषक ऑटोसोमी है अथवा सेक्स–क्रोमोसोमी ?

ख) विशेषक को प्रकट करने वाला जीन प्रभावी है अथवा अप्रभावी ?

ग) यह मानकर कि प्रभावी युग्म विकल्पी S है तथा अप्रभावी युग्म विकल्पी s है, बताइए कि निम्नलिखित व्यक्तियों के जीनप्ररूप क्या हो सकते है ?

I-1, I-2, II-1, II-6, II-7, III-5 तथा III-7

2. नीचे एक परिवार की वंशावली दी जा रहीं है, जिसके कुछ सदस्य एक वंशागत उपापचयी दोष ऐल्केप्टोन्यूरिया (alkaptonuria) से ग्रसित हैं । यह रोग फ़ेनिलऐलेनीन नामक ऐमिनो अम्ल के उपापचय में दोष आ जाने के कारण होता है । वंशावली का ध्यान पूर्वक विश्लेषण कीजिए तथा पूछे गए प्रश्नों के उत्तर दीजिए ।



चित्र. 18.11

1. क्या ऊपर दी गयी वंशावली में ऑटोसोमी वंशागति का संकेत मिलता है या कि सेक्स क्रोमोसोमी वंशागति का ?

2. इसमें दर्शाए गए वंशागति प्रतिरूप में कौन–सा युग्म विकल्पी निहित होने का अनुमान लगता है – प्रभावी युग्म विकल्पी या अप्रभावी युग्म विकल्पी का ।

3. III-3 तथा IV-1 व्यक्तियों के बीच हुए विवाह का आप किस प्रकार स्पष्टीकरण करेंगे ?

4. यह मान कर कि प्रभावी तथा अप्रभावी युग्म विकल्पी को A तथा a का नाम दिया गया है बताइए कि I-2, I-3, II-4, III-3 तथा IV-1 व्यक्तियों के जीनप्ररूप क्या होंगे ?

प्रयोग 19 आनुवंशिकी की समस्याओं में प्रायिकता का अनुप्रयोग

रूपरेखा

19.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
19.2 प्रायिकता के मत के मूल सिद्धांत
योग नियम
गुणन नियम
द्विपद प्रमेय
19.3 पास्कल त्रिकोण
19.4 बहुपद अभिव्यक्ति
19.5 बोध प्रश्न

19.1 प्रस्तावना

परिवार में किसी एक लक्षण के प्रकट होने की संभावना का मूल्यांकन करने के लिए किसी आनुवंशिकविद् अथवा आनुवंशिकी परामर्शदाता के लिए जो एक कारगर साधन है, वह है—प्रायिकता के मत (probability theory) का अनुप्रयोग करना। प्रायिकता दो संख्याओं के बीच का अनुपात है, इन संख्याओं में एक तो वह संख्या होती है, जो दर्शाती है कि कोई विशिष्ट घटना कितनी बार होती है और दूसरी अभिप्रयोगों (trials) की वह कुल संख्या है, जितनी बार वह घटना हो सकती थी। मान लीजिए कि एक पुरूष तथा उसकी पत्नी एक आनुवंशिकी परामर्शदाता के पास किसी आनुवंशिकी समस्या पर सलाह लेने जाते हैं, तब परामर्शदाता उस दम्पति के परिवार की वंशावली करता है और उसके आधार पर वह उस दम्पति के जीनोटाइप पता लगा लेता है और उसके बाद परिकलन करता है कि भविष्य में होने वाली उनकी संतान में इस लक्षण के प्रकट होने की क्या प्रायिकता है। इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप प्रायिकता मत के कुछ आधारभूत नियमों में सीखेंगे। आपको आनुवंशिकी की समस्याओं में इन नियमों के अनुप्रयोग का प्रयत्न करना चाहिए।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास को करने के बाद आप :

- प्रायिकता के मूल सिद्धांतों का वर्णन कर सकेंगे,
- आनुवंशिकी-समस्याओं के समाधान के लिए प्रायिकता के सिद्धांतों का इस्तेमाल कर सकेंगे,
- किन्हीं घटना-संयोजनों की प्रायिकता के निर्धारण के लिए द्विपद प्रसार के लिए सूत्र का अनुप्रयोग कर सकेंगे,
- पास्कल त्रिकोण को समझ सकेंगे ताकि उसके द्वारा द्विपद अभिव्यक्ति के गुणांक का निर्धारण कर सकेंगे जिसमें हमें पता चलता है कि कोई विशेष संयोजन कितने प्रकार से प्राप्त हो सकता है।

19.2 प्रायिकता के मत के मूल सिद्धांत

हम कह सकते हैं कि प्रायिकता के मत से आप किसी घटना के होने का एक सही–सही तथा अर्थपूर्ण अनुमान लगा सकते हैं। किसी घटना के होने की प्रायिकता P पक्ष में होने वाले घटनाओं की संख्या (a) को हो सकने वाली घटनाओं की कुल संख्या (n) से विभाजित करके पता लगाया जाता है :

$$P = \frac{a}{n}$$

किसी घटना की प्रायिकता के निर्धारण में एक तरीका तो यह है कि इस घटना के कई उदाहरण लेकर यह रिकार्ड किया जाए कि कितनी बार यह घटना हुई है तथा कितनी बार नहीं हुई है। मगर यह विधि अनुभववादी है। प्रायिकता पता लगाने का बेहतर तरीका वह है जिसे किसी घटना के घटने की प्रागुक्ति (prediction) करने में आनुवंशिकीविद् आमतौर से इस्तेमाल करते हैं। इस विधि से प्राप्त होने वाली प्रायिकता एक पूर्व प्रायिकता (a priori probability) होती है। इससे पहले कि हम आनुवंशिकी का कोई विशिष्ट उदाहरण लें, आइए पहले नीचे दिए गए उदाहरण को देखें जिसमें प्रायिकता का परिकलन करना समझाया गया है।

एक पासा (die, बहुवचन dice) लीजिए जिसके छह आमुख हों जिन पर 1 से 6 तक संख्याएं लिखी हों। जब पासा फेंका जाता है, तब किसी भी एक आमुख के आने की प्रायिकता P होती है 1/6।

$$P = \frac{a}{n} = \frac{1}{6} = 0.167$$

ताश के 52 पत्तों की गड्डी में से हुकम के नहले को खींच निकालने की प्रायिकता यह होगी :

$$P = \frac{1}{52} = 0.0192$$

तथा ताश की गड्डी में से कोई भी चिड़ी का पता निकालने की प्रायिकता यह होगी :

$$P = \frac{13}{52} = \frac{1}{4} = 0.25$$

आइए, अब एक या दो उदाहरण आनुवंशिकी में से लें। जब किसी एकसंकर में स्वनिषेचन कराया जाता है, तब संतान का अप्रभावी जीनप्ररूप होने की प्रायिकता यह होगी :

$$P = \frac{1}{4} = 0.25$$

तथा किसी द्विसंकर में स्वनिषेचन कराने पर किसी एक संतान के प्रभावी फ़ीनोटाइप (लक्षण प्ररूप) होने की प्रायिकता होगी –

$$P = \frac{9}{16} = 0.5625$$

जब हम कहते हैं कि किसी एक घटना के होने की प्रायिकता (P) है तब सभी अन्य घटनाओं के होने की संयुक्त प्रायिकता $Q = (1 - P)$ है। अतः जब किसी प्रभावी फ़ीनोटाइप के होने की $P = 9/16$, तब अन्य फ़ीनोटाइपों के होने की संयुक्त प्रायिकता होगी— $Q = 1 - 9/16 = 7/16$ तथा $P + Q = 9/16 + 7/16 = 1$. स्मरण रखने की बात है कि $P + Q$ सदैव 1 के बराबर होते हैं। वास्तव में सभी प्रायिकताएं 0 तथा 1 के बीच आनी चाहिए। 1 प्रायिकता होने का अर्थ है कि वह घटना निश्चय ही होगी, और 0 प्रायिकता होने का अर्थ है कि वह घटना हो ही नहीं सकती।

आइए, अब ऐसी स्थितियां देखें जिनमें दो घटनाओं के होने पर विचार किया जाएगा। दो घटनाओं से हमारा अर्थ है कि या दोनों घटनाओं में से कोई-सी एक होती है या कि दोनों घटनाएं एक साथ होती है। ऐसे मामलों में अनिवार्यतः हम उन दो घटनाओं के होने की प्रायिकताओं को जोड़ रहे होंगे। प्रायिकताओं को जोड़ने की क्रिया को तीन नियमों के आधीन ही किया जा सकता है।

19.2.1 योग नियम

जब किसी एक घटना का होना दूसरी घटना के होने की संभावना को समाप्त (प्रतिबाधित) कर देता है, तब इन दोनों घटनाओं को परस्पर अपवर्जी (mutually exclusive) कहा जाता है। अनिवार्यतः इसका यह अर्थ है कि जब एक घटना घटती है, तब दूसरी घटना नहीं घटती। और अनेक परस्पर अपवर्जी घटनाओं में से किसी एक घटना के होने की प्रायिकता व्यष्टिगत (individual) घटनाओं की प्रायिकता का जोड़ (योग) होती है। उदाहरण के लिए जब कोई पाँसा फेंका जाता है, तब पांसे में 2 अथवा 3 की संख्या आने की प्रायिकता क्या है ?

2 की संख्या आने की प्रायिकता = 1/6 = 0.167

3 की संख्या आने की प्रायिकता = 1/6 = 0.167

अतः ये दो घटनाएं परस्पर अपवर्जी है, तथा 2 की या 3 की संख्या के आने की प्रायिकता = 1/6 + 1/6 = 2/6 = 1/3 = 0.33, चूंकि परस्पर अपवर्जी घटनाओं के होने की प्रायिकताओं को जोड़ा जाता है, इसलिए इस नियम को **योग नियम** (Addition rule) कहते हैं।

19.2.2 गुणन नियम

गुणन नियम (Product rule) का इस्तेमाल तब किया जाता है जब एक घटना का होना दूसरी घटना के होने पर निर्भर नहीं होता, दूसरे शब्दों में, इस स्थिति में हम स्वतंत्र घटनाओं को ले रहे होते हैं। उदाहरण के लिए, जब दो पाँसे एक साथ फेंके जाते हैं, तब 2 तथा 3 के क्रमवत आने की प्रायिकताएं इस प्रकार होंगी :

2 के आने की प्रायिकता = 1/6 = 0.167

3 के आने की प्रायिकता = 1/6 = 0.167

एक 2 और एक 3 के आने की प्रायिकता = 1/6 x 1/6 = 1/36 = 0.028

यहाँ स्वतंत्र घटनाओं के होने की प्रायिकता उनकी अपनी-अपनी पृथक प्रायिकताओं का गुणफल होती है इसलिए इस नियम की गुणन नियम कहते हैं।

आइए, एक उदाहरण देखें।

मान लीजिए आप दो सिक्के लेकर उन्हें एक साथ उछालते हैं, तो बताइए कि चित तथा पट आने की प्रायिकता क्या है ? जैसाकि हम दर्शाएंगे इस कार्यविधि में योग नियम तथा गुणन नियम दोनों ही का इस्तेमाल किया जाना है।

प्रत्येक सिक्के में चित (H) तथा पट (T) के आने की प्रायिकता इस प्रकार है :

P (H) = 1/2 = 0.5

P (T) = 1/2 = 0.5

जब सिक्कों को अलग-अलग उछाला जाता है, तब चित और पट आने के दो तरीके हैं :

पहले चित और फिर पट (HT)

पहले पट और फिर चित (TH)

: के बाद एक प्रत्येक उछालने की क्रिया के परिणाम स्वतंत्र घटनाएं हैं।

तथा TH प्राप्त होने की प्रायिकता = 1/2 x 1/2 = 1/4 = 0.25

ा ही दो क्रम परस्पर अपवर्जी हैं। परस्पर अपवर्जी घटनाओं के समुच्चय के दो क्रमों से किसी एक क्रम के आने की प्रायिकता होगी

$$\frac{1}{4} + \frac{1}{4} = \frac{1}{2} = 0.5$$

प्रकार जब घटनाएं क्रमवत न हों, तब प्रायिकता को, योग नियम एंव गुणन नियम को साथ जोड़कर प्राप्त किया जाता है।

.2.3 द्विपद प्रमेय

ऋमवत घटनाओं की प्रायिकता को द्विपद प्रमेय (Binomial Theorem) का इस्तमाल के मालूम किया जा सकता है। इस प्रमेय में उस प्रायिकता को परिभाषित किया गया है उन दो परस्पर अपवर्जी अभिप्रयोगों में किसी व्यवस्था के घटित होने की प्रायिकता है अंतिम क्रम निर्दिष्ट न हुआ हो। इस प्रमेय के अनुसार विविध संयोजनों के होने की ाकताएं अथवा बारंबारताएं द्विपद अभिव्यक्तियों के अनुरूप होती हैं। पहली तीन द्विपद व्यक्तियां इस प्रकार हैं :

$$(a + b)^2 = a^2 + 2ab + b^2$$

$$(a + b)^3 = a^3 + 3a^2b + 3ab^2 + b^3$$

$$(a + b)^4 = a^4 + 4a^3b + 6a^2b^2 + 4ab^3 + b^4$$

द प्रमेय पर आधारित एक साधारण सूत्र आपको एक लघु विधि से प्रायिकता का कलन करने में सहायता करेगा

प्रतीक ! का अर्थ है – क्रमगुणित (factorial); 5 का क्रमगुणन का अर्थ है 5! = 5 x 4 x 3 x 2 x 1

$$P = \frac{n!}{s!t!} \times p^s q^t$$

में n घटनाओं की कुल संख्या है, p एक घटना (X) के होने की प्रायिकता है, q विकल्प घटना (Y) के होने की प्रायिकता है, सभी घटनाओं के घटने की कुल संख्या में से X घटना घटने की कुल संख्या है s और Y घटना घटने की कुल संख्या है यहाँ $s + t = n$ तथा $p + q = 1$.

ए, पिछले उदाहरण को देखें। जब

$n = 2$

प्राप्त होने की प्रायिकता $= p = \frac{1}{2}$

आने की प्रायिकता $= q = \frac{1}{2}$

$s + t = 1.$

: दिए गए आंकड़ों को सूत्र में बैठाने पर

चित तथा पट प्राप्त होने की प्रायिकता,

दो सिक्कों को एक साथ उछाला जाता है $= \frac{2}{1!\,1!} \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^1 \left(\frac{1}{2}\right)^1$

$$= \frac{2 \times 1}{1 \times 1} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{2}$$

$$= 0.5$$

आइए, अब आनुवंशिकी से अधिक विशिष्ट उदाहरणों को देखें । पांच बच्चों वाले एक परिवार में 3 लड़के होने तथा 2 लड़कियां होने की प्रायिकता क्या होगी ?

बच्चे के लड़का होने की प्रायिकता $= p = \frac{1}{2}$

बच्चे के लड़की होने की प्रायिकता $= q = \frac{1}{2}$

सूत्र लगाने पर

$$P = \frac{5!}{3!2!} \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^3 \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^2$$

$$= \frac{5 x 4 x 3 x 2 x 1}{3 x 2 x 1 x 2 x 1} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} = 0.312$$

अब अगर यह मान लें कि इस परिवार में माता–पिता चाहतें हैं कि बच्चे एक ख़ास क्रम पैदा हों – जैसे कि 2 लड़के, 1 लड़की, 1 लड़का और 1 लड़की । अनिवार्यतः इसका अर्थ है कि आपको गुणन नियम लगाना होगा, और उस स्थिति में प्रायिकता यह होगी –

$$\frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} x \frac{1}{2} = \frac{1}{32} = 0.0312$$

इस प्रकार इन दो उत्तरों से आप देख सकते हैं कि जब कोई विशिष्ट क्रम दिया गया होत है, तब प्रायिकता उससे 10 गुना कम होती है जितनी कि अन्यथा क्रम निर्दिष्ट न किए हो पर होती है । दूसरे शब्दों में, जबकि 2 लड़के, 1 लड़की, 1 लड़का तथा 1 लड़की प्राप्त करने का एक ही तरीका है, वहाँ 3 लड़के तथा 2 लड़कियां प्राप्त करने के 10 विभिन्न तरीके हैं ।

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B	B	B	B	B	G	G	G	G	G
B	B	B	G	G	G	B	B	B	G
B	G	G	G	B	B	G	B	B	B
G	B	G	B	G	B	B	G	B	B
G	G	B	B	B	G	B	B	G	B

[B = लड़का, G = लड़की]

मान लिया कि एक दम्पति रंजकहीनता (albinism) के लिए विषमयुग्मजी है । उनके पैदा होने वाले 5 बच्चों में से 4 सामान्य बच्चे होने की क्या प्रायिकता होगी ?

मान लेते हैं A = सामान्य त्वचा का युग्म विकल्पी

a = रंजकहीनता का युग्म विकल्पी

Aa x Aa

AA Aa Aa aa

सामान्य रंजकहीन

चूंकि सामान्य का रंजकहीन के साथ अनुपात 3 : 1 है इसलिए एक सामान्य लड़का पैदा होने की प्रायिकता $\frac{3}{4}$ है तथा एक रंजकहीन बच्चा पैदा होने की प्रायिकता $\frac{1}{4}$ है ।

4 बच्चों की सामान्य होने की प्रायिकता है

$$\frac{3}{4} x \frac{3}{4} x \frac{3}{4} x \frac{3}{4} = \frac{81}{256} = 0.316$$

4 बच्चे सामान्य होने तथा 2 बच्चे रंजकहीन होने की क्या संभाविता है ?

र मामले में

$$P = \frac{6!}{4!2!} \cdot \left(\frac{3}{4}\right)^4 \cdot \left(\frac{1}{4}\right)^2$$

$$= \frac{6 \times 5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1}{4 \times 3 \times 2 \times 1 \times 2 \times 1} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4}$$

$$= \frac{1215}{4096} = 0.297$$

व मान लेते हैं कि आप सामान्य तथा रंजकहीन बच्चों के पैदा होने के क्रम को निश्चित रते हैं, जैसे कि पहले 3 बच्चे सामान्य, 1 रंजकहीन, 1 सामान्य तथा 1 रंजकहीन, तब यिकता यह होगी :

$$\frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{81}{4096} = 0.0198$$

हाँ भी आप देखेंगे कि एक बार जब क्रम बता दिया जाता है, तब प्रायिकता का मान कम जाता है। दूसरे शब्दों में, जब क्रम नहीं बताया गया होता तब प्रायिकता उससे 15 गुना धिक हो जाती है जितनी कि वह क्रम निश्चित कर देने के समय थी।

).3 पास्कल–त्रिकोण

। पहले कह आए हैं कि सूत्र $P = (n!/s!t!)^{pq}$, में $(p+q) = 1$ तथा $(s+t) = n$ है। । सूत्र में द्विपद समीकरण $(p+q)^n = 1$ पृथक हो जाता है और वह एक पद की यिकता प्रदान करता है। $(p+q)^n$ के द्विपद प्रसार में $(n+1)$ पद है। पदों का गुणांक त करने के लिए पास्कल–त्रिकोण एक उपयोगी युक्ति है। इन गुणांकों से आपको उन धियों की संख्या ज्ञात हो जाती है जिनके द्वारा घटनाओं का कोई विशेष संयोजन प्राप्त हो कता है। निम्न पास्कल त्रिकोण n = 7 मान तक है।

n	=	0	$(p+q)^0$	1
n	=	1	$(p+q)^1$	1 1
n	=	2	$(p+q)^2$	1 2 1
n	=	3	$(p+q)^3$	1 3 3 1
n	=	4	$(p+q)^4$	1 4 6 4 1
n	=	5	$(p+q)^5$	1 5 10 10 5 1
n	=	6	$(p+q)^6$	1 6 15 20 15 6 1
n	=	7	$(p+q)^7$	1 7 21 35 35 21 7 1

पर दिए गए त्रिकोण को द्विपद विस्तार के गुणांक से बनाया जाता है। आप देखेंगे कि हर क्ति का आरंभ 1 से होता है। और फिर उसके आगे आता है इससे पहले की पंक्ति के सहवर्ती गुणांकों का योग और यह क्रम चलता है और अंततः 1 की संख्या आती है

$$+q)^6 = (1)p^6 + (1+5)p^5q + (5+10)p^4q^2 + (10+10)p^3q^3 + (10+5)p^2q^4 + (5+1)pq^5 + (1)q^6$$

इए, अब हम पलट कर फिर से पुरानी समस्याओं पर आते हैं। बताइए कि रंजकहीनता ऐलील के लिए विषमयुग्मजी दम्पति के 4 सामान्य तथा 2 रंजकहीन बच्चे पैदा होने की यिकता क्या है ?

$$n = 6; s = 4, t = 2, p = \frac{3}{4} \text{ and } q = \frac{1}{4}$$

यह समस्या (p+q) की अभिव्यक्ति द्वारा पूर्णतः वर्णित हो जाती है । समीकरण (p+
(याद रखिए कि n = 6) में जो पद हमारे लिए महत्व का है, वह है – $15p^4q^2$

$$15p^4q^2 = 15\,(3/4)^4\,(1/4)^2$$

$$= 15 \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4}$$

$$= \frac{1215}{4096} = 0.297$$

यह वही उत्तर है, जो हमें सूत्र का उपयोग करके प्राप्त हुआ था । लेकिन जब द्विपद का क्रम इसका विस्तार बढ़ा देता है, तब सभी पदों को प्राप्त करना भी कठिन हो जाता है ऐसे मामलों में हम तत्काल सूत्र का उपयोग कर सकते हैं ।

19.4 बहुपद अभिव्यक्ति

इस सूत्र का एक और लाभ है । इसका प्रसार करके इसमें दो से अधिक घटनाएं ली जा सकती हैं । प्रायिकता का परिकलन करने के लिए बहुपद विस्तार $(p+q+r\ldots)^n$ (multinominal expression) को एक सामान्य सूत्र के रूप में दर्शाया जा सकता है ।

$$p = \frac{n!}{s!\,t!\,u!} \cdot p^s q^t r^u \ldots$$

जिसमें $p+q+r\ldots = 1$ and $s+t+u\ldots = n$.

मान लिया आनुवंशिकी परामर्शदाता किसी एक दम्पति को बताता है कि उन दोनों में रंजकहीन पुत्र के लिए एक–एक ऐलील है । दम्पति छह बच्चे प्राप्त करना चाहते हैं । क प्रायिकता है कि छह बच्चों में से दो सामान्य पुत्रियां होंगी, दो सामान्य पुत्र होंगे तथा एक रंजकहीन पूत्र एवं एक रंजकहीन पुत्री होगी ।

इस निर्मेय में आप पहले तो गुणन लगाइए जिससे पता चल सके कि प्रत्येक पद के लिए प्रायिकता क्या होगी और फिर पूरी घटना के लिए प्रायिकता जानने के लिए सूत्र का अनुप्रयोग कीजिए । उदाहरण के लिए,

एक सामान्य पुत्र प्राप्त होने की प्रायिकता $p = (3/4)\,(1/2) = 3/8$

एक सामान्य पुत्री प्राप्त होने की प्रायिकता $q = (3/4)\,(1/2) = 3/8$

एक रंजकहीन पुत्र प्राप्त होने की प्रायिकता $r = (1/4)\,(1/2) = 1/8$

एक रंजकहीन पुत्री प्राप्त होने की प्रायिकता $k = (1/4)\,(1/2) = 1/8$

2 सामान्य पुत्रों (s), 2 सामान्य पुत्रियों (t), एक रंजकहीन पुत्र (v) तथा एक रंजकहीन पुत्री (u) की प्रायिकता =

$$p = \frac{n!}{s!\,t!\,u!\,v!} \cdot p^s q^t r^u k^v$$

$$p = \frac{6!}{2!\,2!\,1!\,1!} \cdot (3/8)^2 . (3/8)^2 . (1/8)^1 . (1/8)^1$$

$$= \frac{6 \times 5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1}{2 \times 1 \times 2 \times 1 \times 1 \times 1} \cdot 3/8 \times 3/8 \times 3/8 \times 3/8 \times 1/8 \times 1/8$$

$$= \frac{14580}{262144} = 0.0556$$

19.5 बोध प्रश्न

1. मान लिया कि सेक्स–अनुपात 1:1 है, बताइए कि चार बच्चों के परिवार में क्या होंगे ?

   i) तीन पुत्रियां और 1 पुत्र

   ii) सभी पुत्रियां

   iii) एकांतर क्रम में पुत्री और पुत्रियां

   iv) सभी पुत्र

   v) कम से कम दो पुत्रियां

2. प्रयोगशाला अभ्यास में हमने फ़ेनिल थयो–कार्बेमाइड स्वादन के विषय में विवेचन किया था । जैसाकि आप जानते हैं PTC स्वादन का लक्षण अस्वादन के लक्षण पर प्रभावी है । एक स्वादक पुरूष जिसकी माँ एक अस्वादक है, एक ऐसा स्वादक स्त्री से विवाह करता है जिसकी पहली शादी से एक अस्वादक पुत्री पैदा हुई थी । अब इस दम्पति की संतानों में निम्न के होने क्या–क्या प्रायिकताएं होंगी ?

   क) उनका पहला पुत्र स्वादक होगा

   ख) उनका पहला बच्चा अस्वादक होगा

   ग) उनके 7 बच्चों में 4 स्वादक तथा 3 अस्वादक होंगे

   घ) 5 बच्चे होंगे जिनमें से क्रमवत 2 स्वादक लड़के तथा 1 स्वादक लड़की, 1 अस्वादक लड़का तथा 1 अस्वादक लड़की होगी

3. दो जनकों का जीनोटाइप Mm है और वे माइग्रेन के सिर दर्द (आधा सीसी) के रोग से ग्रस्त है । निम्न के लिए क्या प्रायिकता होगी ?

   क) उनका पहला बच्चा एक लड़की होगी जिसे माइग्रेन होगा तथा दूसरे बच्चे में यह रोग नहीं होगा ।

   ख) उनके 4 संताने होती है जिनमे से 3 को माइग्रेन नहीं होगा और एक बच्चे को माइग्रेन होगा ।

प्रयोग 20 मानव केरियोटाइपों का अध्ययन

रूपरेखा

20.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
20.2 आवश्यक सामग्री
20.3 कार्यविधि
20.4 शीट I तथा II पर आधारित प्रश्न
20.5 शीट III पर दिए गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन
20.6 शीट III पर आधारित प्रश्न
20.7 शीट IV पर दिये गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन
20.8 शीट IV पर आधारित प्रश्न
20.9 शीट V पर दिये गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन
20.10 शीट V पर आधारित प्रश्न

20.1 प्रस्तावना

इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप मानव क्रोमोसोमों के विभिन्न समूहों का अध्ययन करना और उन्हें पहचानना सीखेंगें, तथा दिए गए चित्रों से उनका केरियोटाइप बनाना सीखेंगें। साथ ही आप उन अपसामान्य क्रोमोसोम संख्याओं के विषय में भी सीखेंगें जिनके कारण पुरुषों तथा स्त्रियों में कुछ खास सिंड्रोम आम तौर से होते हैं।

व्यष्टिगत क्रोमोसोमों को सबसे अच्छी तरह मेटाफेज (metaphase) के दौरान देखा और समझा जा सकता है। उस समय प्रत्येक क्रोमोसोम में दो क्रोमटिड दिखाई पड़ते हैं जो एक सेंट्रोमीयर से जुड़े होते हैं। ऐसा संभव है कि रसायनों द्वारा मेटाफेज़ में ही माइटोसिस को रोक दिया जाए और तब क्रोमोसोमों के फोटो लिए जा सकते हैं। मेटाफेज़ आलेपों के इन फोटोग्राफों को एक नियत तरीके से व्यवस्थित करके उस व्यक्ति विशेष का केरियोटाइप प्राप्त किया जा सकता है।

केरियोटाइपिंग (Karyotyping)

आनुवंशिकीविदों ने 46 क्रोमोसोमों में से प्रत्येक क्रोमोसोम को पहचानने की प्रणाली बना ली है। आटोसोमों के 22 जोड़ों को उनकी लंबाई के अनुसार 1 से 22 की संख्या दी जाती है। सेक्स क्रोमोसोमों का 23वां जोड़ा होता है। क्रोमोसोमों को ठीक-ठीक उनकी संख्या के अनुसार व्यवस्थित करना बहुत कठिन होता है। फिर भी इन 23 जोड़ों को उनके साइज़ तथा सेंट्रोमीयर के स्थान के अनुसार 7 समूहों में रखा गया है। यह जानकारी सारणी 20.1 में दी गई है। इस प्रयोग में केरियोटाइपों के बनाने तथा उनका अध्ययन करने में यह सारणी आपकी सर्वाधिक महत्व की मार्गदर्शिका होगी।

सारणी 20.1 : क्रोमोसोमों के सात समूह ।

Group	Chromosomes	Characteristic
A	1, 2, 3	Very long; centromere in the centre of chromosome
B	4 and 5	long; centromere away from centre of chromosomes
C	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X	Medium length; centromeres in the centre or slightly away from center of chromosomes
D	13, 14, 15	Medium length; centromeres at or very near the end of chromosomes
E	16, 17, 18	Somewhat short; centromeres in the centre or away from the centre of chromosomes
F	19 and 20	Short; centromeres in the centre of chromosomes
G	21, 22, Y	Very short; centromeres at or very near the end of chromosomes

पहले 22 जोड़ों के क्रोमोसोम (ऑटोसोमी क्रोमोसोम) सभी मानव केरियोटाइपों में समान होते हैं। लेकिन 23वें जोड़े के क्रोमोसोम अर्थात् सेक्स क्रोमोसोम पुरुष में असमान होते हैं — एक बड़ा X क्रोमोसोम तथा एक छोटा Y क्रोमोसोम। स्त्रियों में दो X क्रोमोसोम होते हैं।

इस अभ्यास में आप तीन प्रसामान्य केरियोटाइपों का अध्ययन करेंगे।
इस अभ्यास के लिये पूर्व पठनीय सामग्री इस प्रकार है।

आनुवंशिकी पाठ्यक्रम (LSE-03) की इकाई 8, 9 तथा 10 देखें।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास को करने के बाद आप इस योग्य होने चाहिए कि आप :

- दिए गए क्रोमोसोमों के जीरॉक्स फोटोग्राफों से केरियोटाइपों को बना सकें,
- सामान्य नर तथा मादा का केरियोटाइप पहचान सकें,
- दिए गए अपसामान्य केरियोटाइपों से क्रोमोसोम दोषों को अभिनिर्धारित कर सकें।

20.2 आवश्यक सामग्री

1. मानव क्रोमोसोमों के फोटोग्राफ
2. मानव केरियोटाइप के फार्म
3. कैंची
4. पेंसिल
5. टेप अथवा गोंद

20.3 कार्यविधि

चरण 1 : शीट I तथा II से प्रत्येक अलग–अलग क्रोमोसोम को काट लीजिए। सावधानी रखिए कि क्रोमोसोमों का कोई अंश न कट जाए। गिन लीजिए कि आपके पास कुल कितने क्रोमोसोमों की तसवीरें हैं।

टिप्पणी : *काटे गए क्रोमसोम पत्र जल्दी से खो सकते हैं। शीट के सेट से अगर एक भी क्रोमोसोम खो गया तो वह सेट अधूरा हो जाएगा और उससे संपूर्ण अभ्यास निरर्थक हो जाएगा। अतः बहुत सावधानी रखिए।*

चरण 2 : सारणी 20.1 में दी गई क्रोमोसोम विशिष्टताओं के आधार पर प्रत्येक क्रोमोमोस की छोटी भुजा को ऊपर की ओर रूख किए हुए क्रोमोसोम की केरियोटाइप फार्म a तथा फार्म b में क्रोमोसोम व्यवस्थित कीजिए।

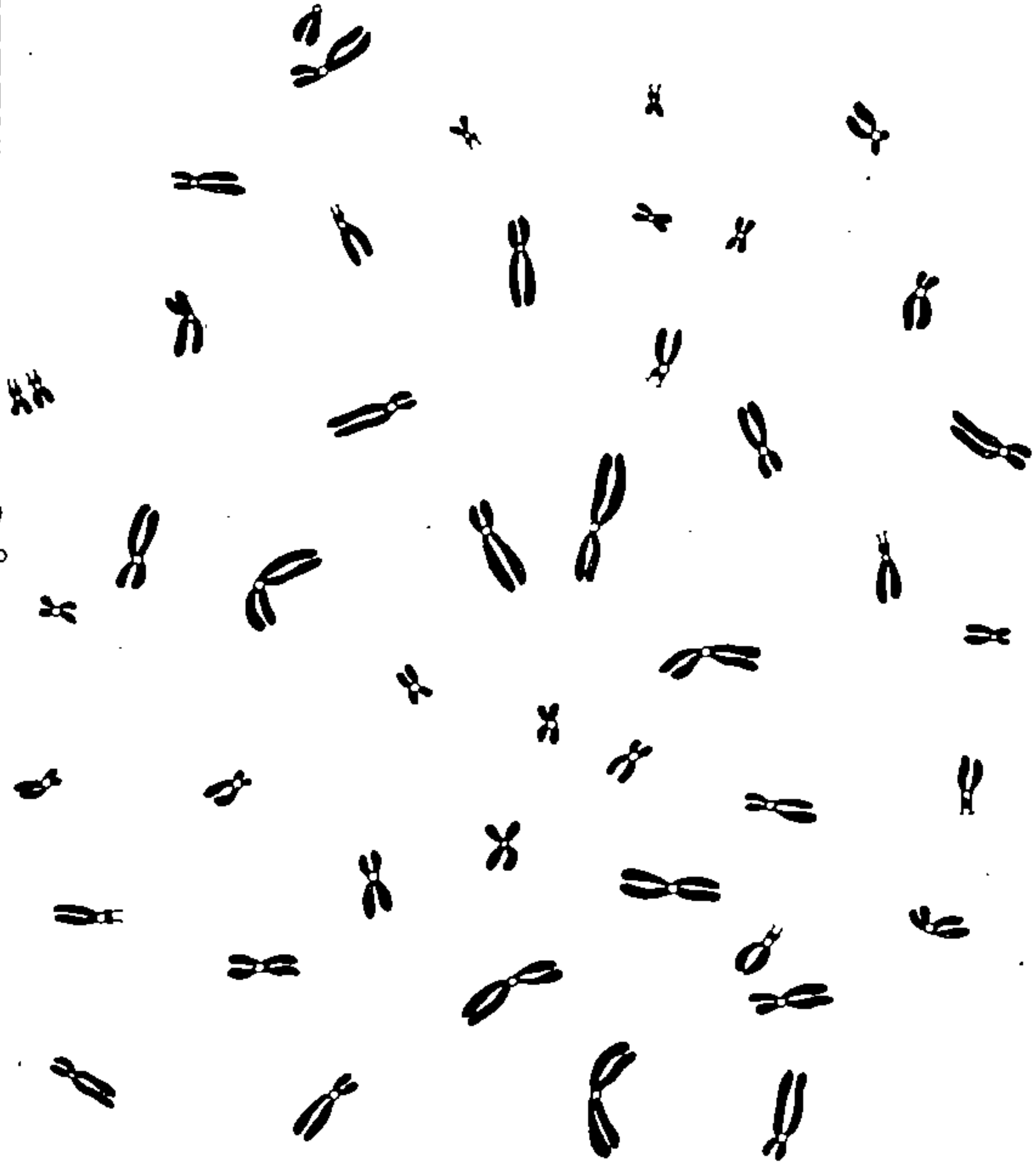
चरण 3 : क्रोमोसोमों के बैंडिग प्रतिरूप (यदि दिया गया है तो) के तथा ऊपर बताए जा चुके अन्य लक्षणों के संदर्भ में क्रोमोसोमों के जोड़े बनाइए।

चरण 4 : क्रोमोसोमों को क्रमानुसार व्यस्थित करने के बाद उन पर टेप लगा दीजिए अथवा उन्हें गोंद से चिपका दीजिए।

चरण 5 : शीट I तथा शीट II के आधार पर जो केरियोटाइप आपने बनाए हैं उनके विषय में प्रश्नों के उत्तर दीजिए।

चरण 6 : केरियोटाइप शीट III, IV तथा V का बहुत बारीकी से अध्ययन कीजिए, और उन पर आधारित प्रश्नों के उत्तर दीजिए।

SHEET - I



Hint : This is a chromosome spread from a normal human.

Karyotype Form a

1 2 3
A

4 5
B

6 7 8 9 10 11 12
C

13 14 15
D

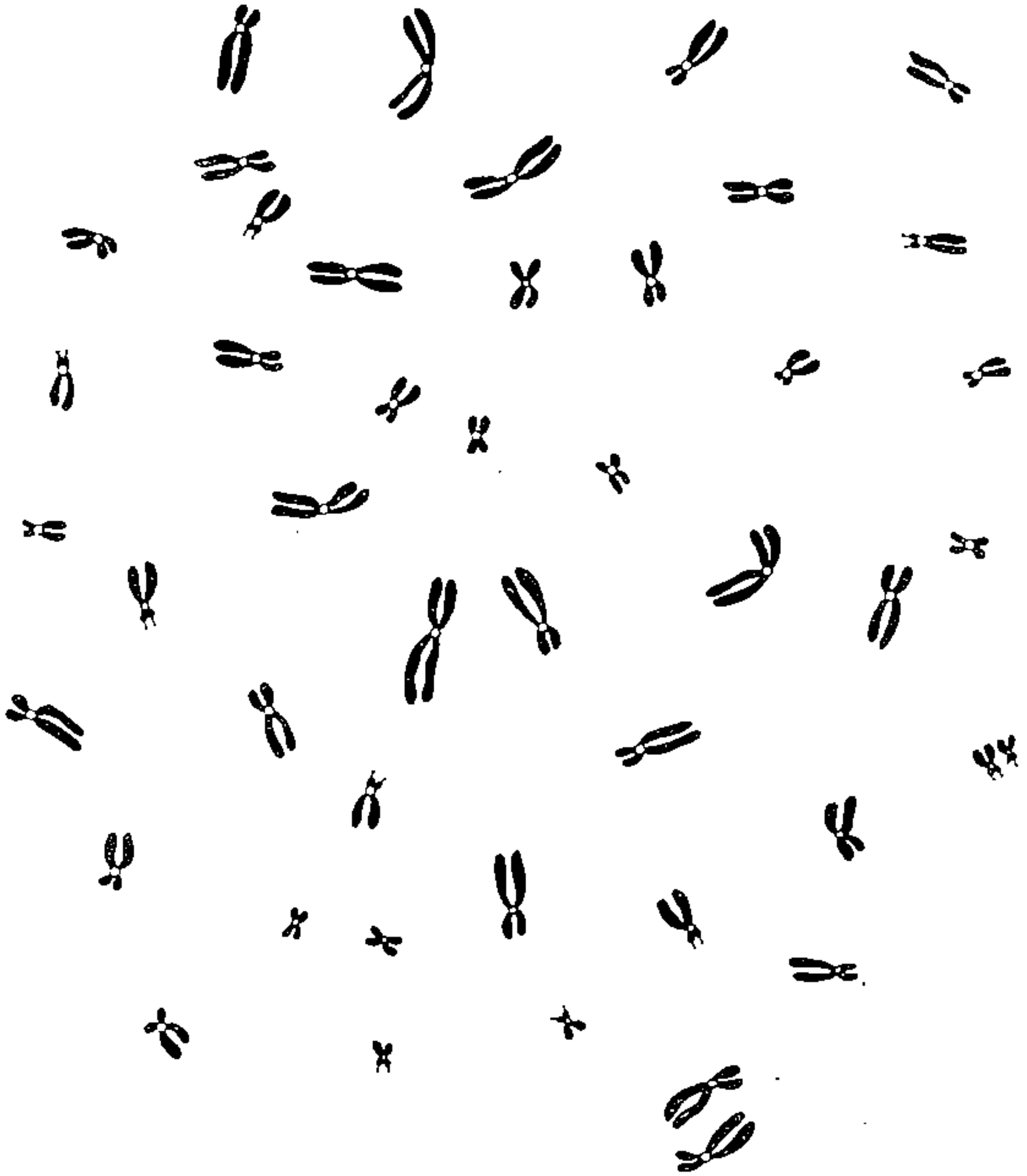
16 17 18
E

19 20
F

21 22
G

Sex Chromosomes

SHEET - II



Hint : This is a chromosome spread from a normal human.

Karyotype Form b

1 2 3

A

4 5

B

6 7 8 9 10 11 12

C

13 14 15

D

16 17 18

E

19 20

F

21 22

G

Sex Chromosomes

20.4 शीट I तथा शीट II पर आधारित प्रश्न

1. केरियोटाइपिंग के लिए शीट I तथा II से व्यष्टिगत क्रोमोसोमों के फोटोग्राफ अलग-अलग क्यों काटने चाहिए ?

....

....

....

2. केरियोटाइप अध्ययनों के वास्ते मेटाफेज़ आलेपों को ही सबसे अच्छा क्यों माना जाता है ?

....

....

....

3. शीट I तथा शीट II में जिन व्यक्तियों के क्रोमोसोम दर्शाए गए हैं उनकी क्या-क्या सेक्स (लिंग) हैं, पहचान कर बताइए।

....

....

4. आपने जो दो केरियोटाइप बनाए हैं, उनकी तुलना कीजिए। इन दोनों में आप क्या खास अंतर देख सकते हैं ?

....

....

....

....

5. जो अंतर आपने देखा वह कितना महत्वपूर्ण है, समझाइए।

....

....

....

....

6. किस प्रकार के व्यक्ति के लिए आनुवंशिक परामर्शदाता केरियोटाइपिंग कराने की सलाह देगा ? ऐसा क्यो ?

....

....

....

....

7. क) जब आप क्रोमोसोमों के जोड़े बना रहे थे तब आपको किस प्रकार की कठिनाई महसूस हुई ? ख) जब आप उनके समूह बना रहे थे तब क्या कठिनाई महसूस हुई ? ग) आनुवंशिकी प्रयोगशाला में जब कोई और व्यक्ति केरियोटाइप बनाता है तब भी क्या उसके सम्मुख ये ही कठिनाइयां आयेंगी ? समझाइए।

....

....

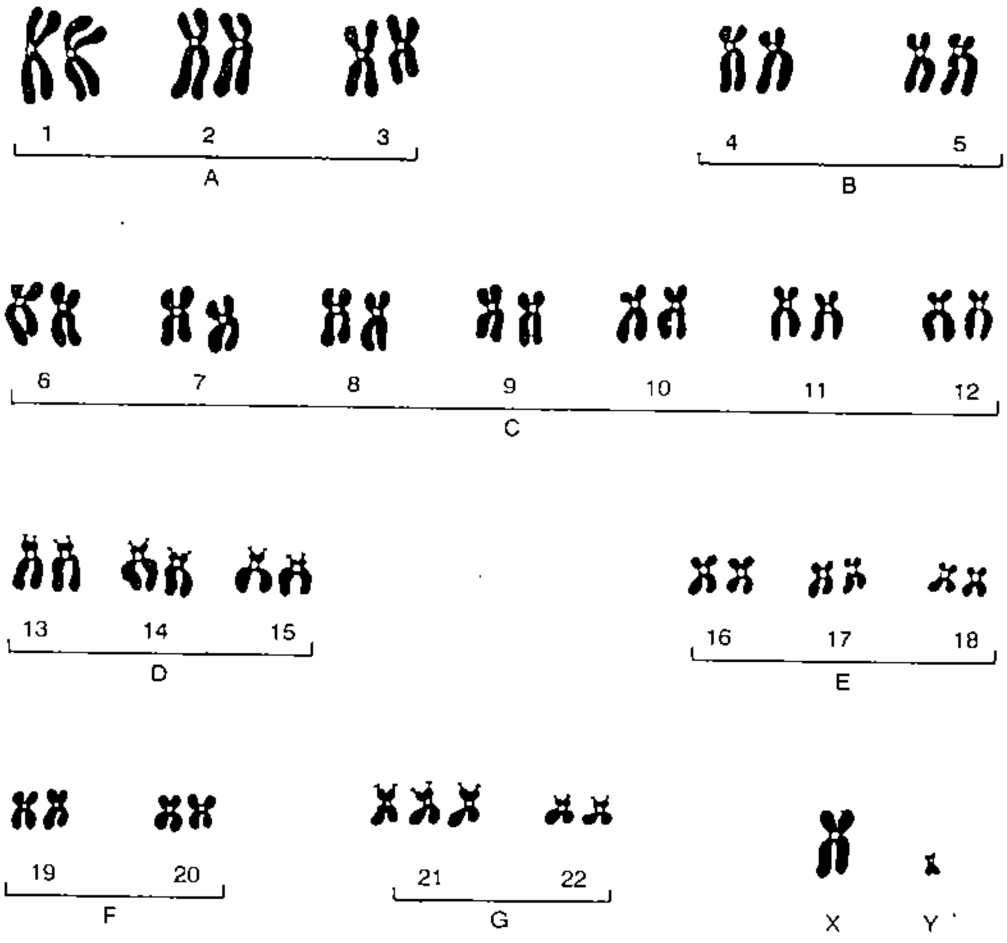
....

....

20.5 शीट III पर दिए गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन

यह किसी व्यक्ति का अज्ञात केरियोटाइप है । इसे देखिए तथा दिए गए प्रश्नों के उत्तर दीजिए ।

SHEET - III



20.6 शीट III पर आधारित प्रश्न

1. क्या यह किसी सामान्य व्यक्ति का केरियोटाइप है या इसमें कोई अपसामान्यतः दिखाई पड़ रही है ?

....

....

....

....

2. इससे पहले के दिए गए दो केरियोटाइपों से यह किस लक्षण में भिन्न है ?

....

....

....

....

3. पिछले प्रश्न (2) पर आधारित उस आनुवंशिक दोष का नाम बताइए जिससे यह व्यक्ति पिड़ित है ?

....

....

4. ऐसे व्यक्तियों के लक्षण क्या–क्या हैं ?

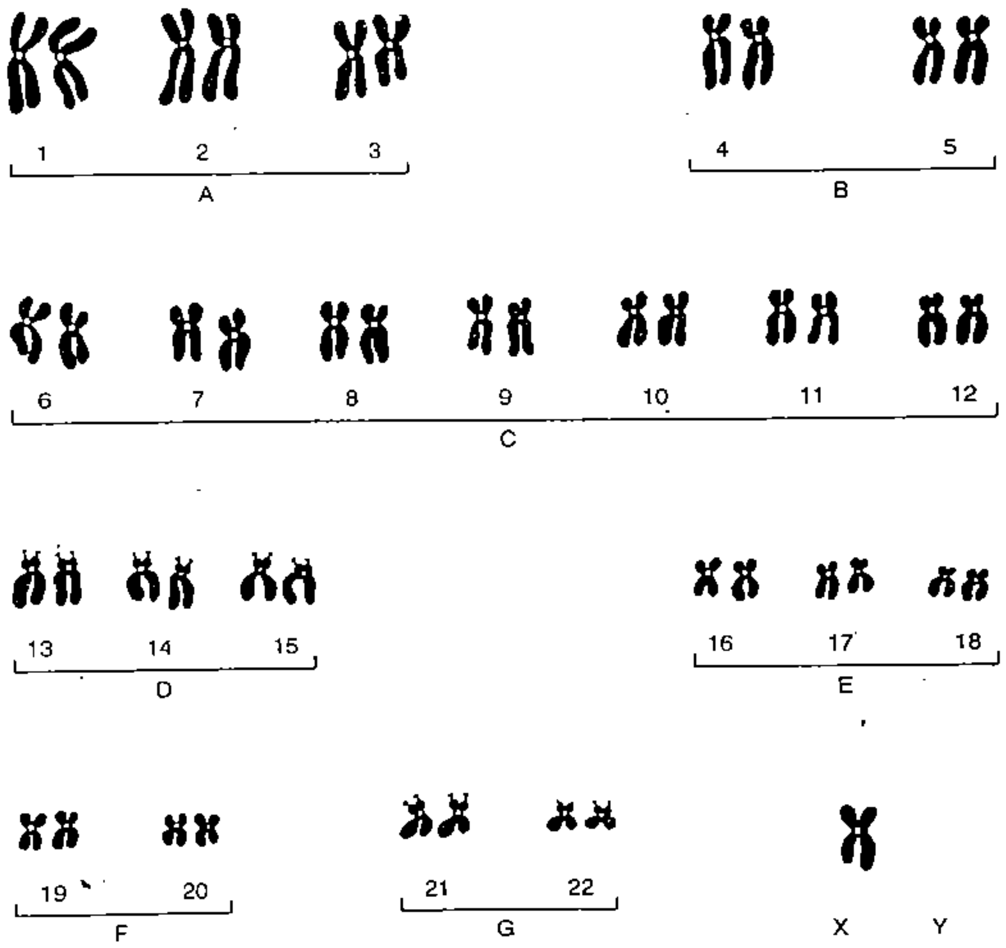
....

....

20.7 शीट IV पर दिए गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन

यह किसी व्यक्ति का अज्ञात केरियोटाइप है। इसे देखिए तथा दिए गए प्रश्नों के उत्तर दीजिए।

SHEET - IV



20.8 शीट IV पर आधारित प्रश्न

1. क्या शीट IV में सामान्य केरियोटाइप है या कि उसमें कोई अपसामान्यता है ?

....

....

2. यदि यह आपको अपसामान्य लगता है तो क्या अंतर है, बताइए ?

....

....

3. ऐसा केरियोटाइप जिस व्यक्ति का है तथा उसमें किस प्रकार का आनुवंशिक विपथन है ?

....

....

4. ऐसे व्यक्तियों में कौन से शारीरिक लक्षण पाए जाते हैं ?

....

....

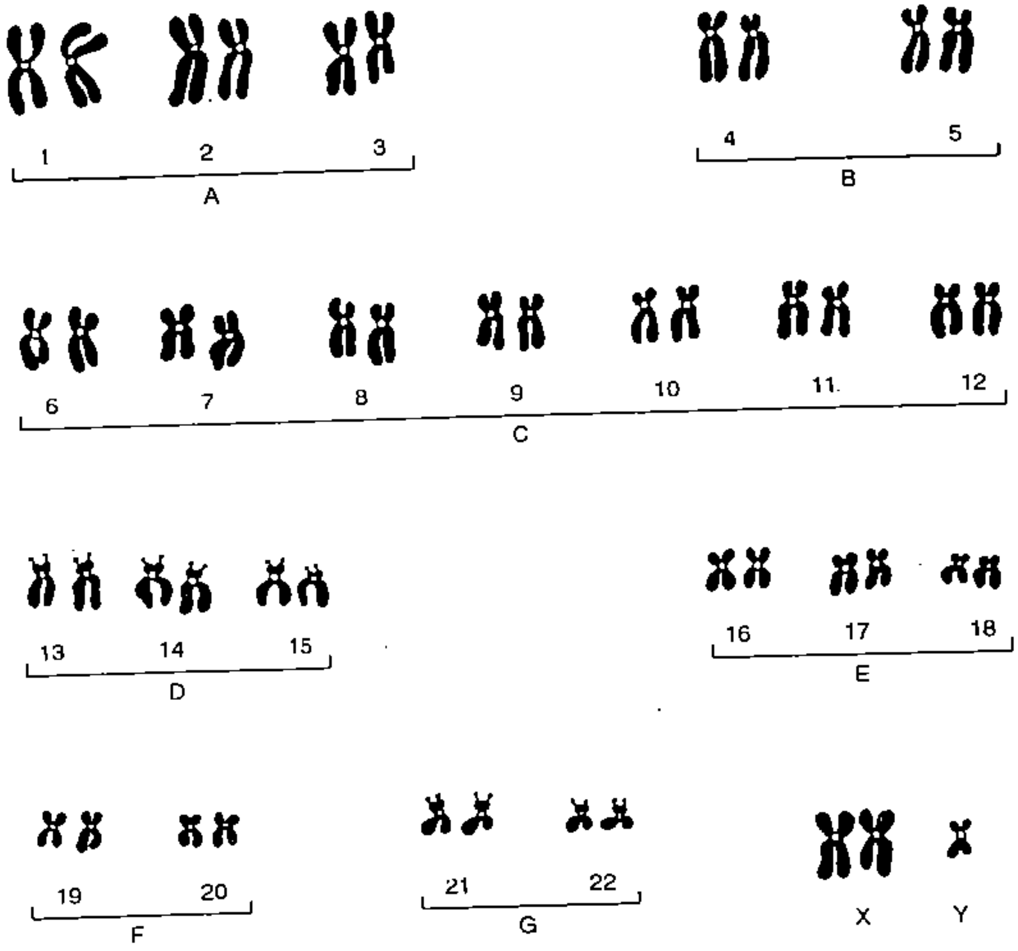
....

....

20.9 शीट V पर दिये गए अज्ञात केरियोटाइप का अध्ययन

यह किसी व्यक्ति का अज्ञात केरियोटाइप है । इसे देखिए तथा दिए गए प्रश्नों के उत्तर दीजिए ।

SHEET - V



20.10 शीट V पर आधारित प्रश्न

1. क्या शीट V में दिखाया गया केरियोटाइप सामान्य है अथवा उसमें कोई अपसामान्यता दिखाई पड़ती है ?

....

....

....

....

2. यदि आपने इसे अपसामान्य पाया हो, तो बताइए कि क्या अंतर है ?

....

....

3. इस प्रकार का केरियोटाइप जिस व्यक्ति का है उसमें किस प्रकार का आनुवंशिक विपथन है ?

....

....

4. ऐसे व्यक्तियों की पहचान करने में कौन से लक्षण पाए जाते हैं ?

....

....

....

....

प्रयोग 21 हाइड्रोजन आयन सांद्रण तथा pH का निर्धारण

रूपरेखा

21.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
21.2 आवश्यक सामग्री
21.3 कार्यविधि
pH इंडिकेटर पेपर
pH मीटर
21.4 सावधानियां

21.1 प्रस्तावना

हाइड्रोजन आयन सांद्रण किसी घोल की अम्लता अथवा क्षारता की माप है । हाइड्रोजन आयन सांद्रण (H^+) को संख्याओं में व्यक्त किया जाता है जिसे pH कहते हैं, इसमें pH का अर्थ है H^+ के व्युत्क्रम (reciprocol) का लॉगेरिथ्म । इसे इस प्रकार से लिखा जा सकता है :

$$pH = \log\left(\frac{1}{H^+}\right) = -\log(H^+)$$

आप LSE-01 कोशिका जैविकी के खंड 1 की इकाई 4 में जल के आयनीकरण तथा जल के वियोजन के संतुलन स्थिरांक (Keq) के विषय में पढ़ चुके हैं । उसमें आप यह भी पढ़ चुके हैं कि शुद्ध जल में H^+ तथा OH^- के सांद्रण बरावर होते हैं तथा यह सांद्रण 10^{-7} मोल/लिटर के बरावर होता है । आपकों वताया गया था कि pH मापक्रम जल के आयन उत्पाद (Kw) पर आधारित होता है । अव आप फिर से कोशिका जैविकी पाठ्यक्रम के खंड 1 की इकाई 4 को पढ़िए और अपनी याद को फिर से ताजा कर लीजिए कि किसी घोल की अम्लता तथा क्षारता को H^+ सांद्रण के संदर्भ में किस प्रकार परिकलित किया जाता है । इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप जीव-विज्ञान संवंधी महत्व के कुछ घोलों के H^+ सांद्रण को निर्धारित करने की कुछ कार्यविधियां सीखेंगे । कार्यविधियां सीखने से पूर्व आइए हम आपको बता दें कि उदासीन pH के घोल का मान 7 होता है, 7 से नीचे के pH के घोल क्षारीय होते हैं ।

जिस घोल का pH 5 है, उसके प्रति लिटर घोल में H^+ के 10^{-5} मोल होते हैं तथा pH 8 के घोल में प्रति लिटर H^+ के 10^{-8} मोल होते हैं । चूंकि pH के मानों को एक लॉगेरिथ्म-मापक्रम में अभिव्यक्त किया जाता है, अतः pH मान में 3 यूनिटों के अंतर का अर्थ है कि दो घोलों के बीच H^+ सांद्रण में 1000 गुना का अंतर होगा । pH मापक्रम 0 से लेकर 14 तक का होता है ।

हाइड्रोजन आयन सांद्रण किसी भी आवास का एक सर्वाधिक महत्वपूर्ण रासायनिक घटक है । इसी पर उन अनेक रासायनिक अभिक्रियाओं की प्रकृति निर्भर होती है, जो पर्यावरण में होती रहती हैं और इसी के द्वारा जीवधारियों की विविधता एवं उनका वितरण प्रभावित होता है । विविध पौधों तथा प्राणियों को अक्सर अपने आवास में अलग-अलग pH की आवश्यकता होती है pH की संकल्पना के विषय में इस संक्षिप्त भूमिका के साथ, आइए अव हम pH के निर्धारण की क्रियाविधि के विषय में सीखें ।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास के कर चुकने पर आप :

- pH की परिभाषा कर सकेंगे तथा pH के परिकलनों का आधार बता सकेंगे,
- pH सूचक पेपरों तथा pH मीटर का इस्तेमाल करके घोलों के H^+ सांद्रण का पता लगा सकेंगे

21.2 आवश्यक सामग्री

1. 250 ml के बीकर–3
2. pH इंडिकेटर पेपर्स (pH सूचक पेपर)
3. pH मीटर तथा इलक्ट्रोड
4. pH 4 तथा pH 8.2 के मानक बफ़र घोल
5. फिल्टर पेपर
6. आसुत जल (distilled water)
7. निम्भु का पानी (lemon juice)
8. कुंए का पानी
9. सोडियम बाइकार्बोनेट का घोल (खाने का सोडा)

21.3 कार्यविधि

आप इस प्रयोगशाला आभ्यास में दो विधियों द्वारा किसी घोल कि pH का निर्धारण करना सीखेंगे : (1) pH इंडिकेटर पेपर्स का इस्तेमाल करके तथा (2) pH मीटर का उपयोग करके । आइए एक–एक करके इन दोनों कार्यविधियों का विवेचन करें ।

21.3.1 pH इंडिकेटर पेपर्स

pH इंडिकेटर पेपर्स छोटी संकरी पट्टियों के रूप में आते हैं । जिस घोल का pH मालूम करना हो, उस घोल में डुबोने पर इस कागज में रंग आ जाता है । pH पेपरों के साथ है एक चार्ट दिया गया होता है, उस चार्ट के रंगों के साथ इस pH पेपर में आए रंग की तुलना की जा सकती है । दीर्घांतर (wide range) तथा सूक्ष्मांतर (narrow range) दोनों प्रकार के pH पेपर उपलब्ध हैं । दीर्घांतर pH पेपरों से pH मान 1, 2, 3, 4, ... आदि पता चलता है । सूक्ष्मांतर pH पेपरों से बहुत हद तक ठीक–ठीक pH मान पता चल जाता है । ये 0.5 यूनिटों के अंतर में उपलब्ध हैं, जैसे– 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, तथा 0.2 यूनिटों के अंतर में जैसे 7, 7.2, 7.4, 7.6, 7.8, 8 .... आदि । तो आइए, हम दीर्घांतर तथा सूक्ष्मांतर इंडिकेटर पेपरों का इस्तेमाल करके कुछ घोलों का pH पता लगाएं ।

1) दीर्घांतर pH इंडिकेटर का 1 cm का टुकड़ा फाड़ लीजिए और उसे घोल में डुबाइए जिसका pH पता लगाना है ।
2) इस पेपर पर प्रकट हुए रंग को दिए गए चार्ट के रंग से मिलाइए ।
3) अपने परिणामों को अपनी प्रेक्षण नोट बुक में नीचे दी गयी तालिका के रूप में रिकार्ड

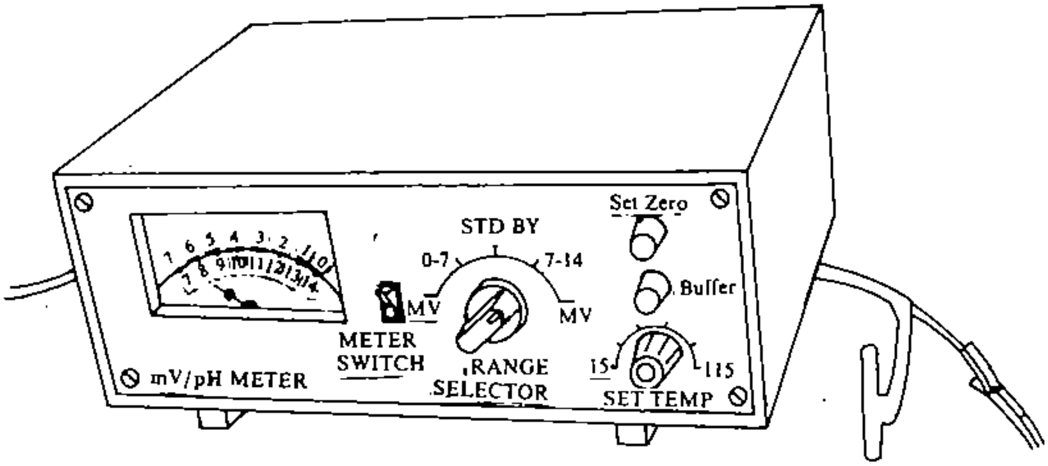
कीजिए। अन्य घोलों का भी पता लगाने के लिए इसी कार्यविधि को दोहराइए तथा अपने परिणामों को रिकार्ड कीजिए।

4) अब सूक्ष्मांतर pH पेपरों का इस्तेमाल करके उसी प्रकार उन्हीं घोलों का अधिक सही-सही pH पता लगाइए। इन परिणामों को भी तालिका में रिकार्ड कीजिए।

क्रमांक	परीक्षण घोल	दीर्घता	सूक्ष्मांतर
1.	निम्बु का पानी		
2.	कुएं का पानी		
3.	सोडियम बाइकार्बोनेट		
4.	कोई अन्य घोल		

21.3.2 pH मीटर

चित्र 4.1 में एक pH मीटर दिखाया गया। घोलों में हाइड्रोजन आयन सांद्रण का सही-सही पता लगाने के लिए यह pH मीटर एक अधिक परिष्कृत युक्ति है। इस यंत्र में दो इलेक्ट्रोड लगे होते हैं, एक रेफ्रेन्स इलेक्ट्रोड (reference electrode) तथा एक कांच इलेक्ट्रोड (glass electrode) और कुछ मीटरों में तो दोनों इलेक्ट्रोड एक संयोजित इलेक्ट्रोड के रूप में दिए गए होते हैं। दो इलेक्ट्रोडों के बीच का विभव अंतर (potential difference) एक इलेक्ट्रोमीटर के अन्दर प्रवर्धित हो जाता है और फिर उसे या तो एक ऐनालॉग (analogue) पर अथवा एक डिजिटल pH मापक्रम पर पढ़ लिया जाता है। pH की माप लेने से पुर्व इस यंत्र को मानकीकृत करना जरूरी है। मानकीकरण के लिए आप नीचे दी जा रही कार्यविधि अपना सकते है :-



चित्र 21.1 : pH मीटर

1. यंत्र को विजली सप्लाई से जोड़ दीजिए।
2. जांच लीजिए कि इलेक्ट्रोड यंत्र से ठीक से जुड़े हैं।
3. इलेक्ट्रोडों को एक बार आसुत जल से धोइए और उन्हें फिल्टर पेपर से सुखा लीजिए।
4. इलेक्ट्रोडों को आसुत जल से भरे एक बीकर में डुबोइए।
5. मीटर का पठन ऐनालॉग मापक्रम पर शून्य अथवा डिजिटल मापक्रम पर 7 आना

चाहिए। यदि ऐसा नहीं दर्शाया जा रहा, तब यंत्र की शून्य घुंडी को घुमा कर शून्य पर लाकर सेट कर लीजिए। इलेक्ट्रोडों को आसुत जल से बाहर निकाल लीजिए।

6. उन्हें फ़िल्टर पेपर से सुखा लीजिए और फिर उन्हें pH के मानकीकृत बफ़र घोल से भरे एक बीकर में डालिए। " सेलेक्टर " घुंडी को घुमाइए ताकि वह 0–7 परास पर अर्थात् अम्लीय परास पर आ जाए।
7. अब आप बफ़र घोल को हटा दीजिए, इलेक्ट्रोडों को आसुत जल से धो लीजिए, उन्हें सुखा लीजिए और फिर इलेक्ट्रोडों को 9.2 pH के मानक बफ़र घोल में डालिए।
8. " सेलेक्टर " घुंडी को घुमाकार 7–14 परास अर्थात् क्षारीय परास में ले आइए और तब मीटर में 9.2 की रीडिंग आनी चाहिए। तदन्तर " सेलेक्टर " घुंडी को वापिस मध्य स्थिति में ले आइए।

अब यंत्र मानकीकृत हो गया है। अब आप दिए गए घोलों के pH निर्धारित कर सकते हैं। इसके लिए आप निम्न बातें कीजिए – 1) इलेक्ट्रोडों को उस घोल के भीतर डालिए जिसका pH पता लगाना है, 2) सेलेक्टर घुंडी को पहले तो 0 से 7 के परास में ले आइए, यदि परीक्षण घोल का pH अम्लीय परास में है, तब आप सीधे उसे मीटर में पढ़ लीजिए। यदि मीटर की रीडिंग में कोई अंतर नहीं आता, तब इसका मतलब है कि pH क्षारीय परास में है। अब आप सेलेक्टर घुंडी को 7–14 के परास में गुमा दीजिए और घोल के pH को मीटर में पढ़ लीजिए। 3) यदि किसी अन्य घोल काpH निकालना हो, तो इलेक्ट्रोडों को आसुत जल से धोइए और उन्हें फिल्टर पेपर से सुखा लीजिए। 4) pH मीटर का उपयोग करके दिए गए घोलों के pH का मापन कीजिए और अपने परिणामों को अपनी बुक में नीचे दी गयी तालिका के रूप में लिखिए।

क्रमांक	घोल	pH

21.4 सावधानियां

1. इलेक्ट्रोड बहुत ही नाजुक भाग होते हैं। अतः इन्हें बहुत सावधानी से उठाइए-रखिए।
2. कांच-इलेक्ट्रोड के सिरे पर जो बल्ब बना होता है, वह बहुत ही संवेदनशील होता है और वहां पर बनी कांच की झितली को खरोंच पड़ने से बचाना चाहिए।
3 इलेक्ट्रोडों को साफ रखा जाना चाहिए, हर बार इस्तेमाल करने के बाद आसुत जल से धोकर फ़िल्टरय पेपर से सुखाना चाहिए।
4. इलेक्ट्रोडों के सिरों को सदैव आसुत जल में डुबोए रखना चाहिए और सुखने नहीं देना चाहिए।
5. किसी भी घोल से इलेक्ट्रोडों को बाहर निकालने से पहले सेलेक्टर घुंडी को सदैव बीच की स्थिति में ले आना चाहिए।
6. बफ़र घोलों को फिर से उनके सही–सही पात्रों में रख दें और उन्हें एक–दूसरे से संदूषित न होने दें।

प्रयोग 22 जल नमूनों की लवणता का आकलन

रूपरेखा

22.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
22.2 आवश्यक सामग्री
22.3 कार्यविधि
22.4 परिकलन
22.5 सावधानियां
22.6 बोध प्रश्न

22.1 प्रस्तावना

लवणता (salinity) का अर्थ है एक किलोग्राम में कुल मिलाकर घुले हुए विलयशील लवणों की कुल मात्रा कितनी है। जल में पाए जाने वाले लवणों में जो आम पाए जाने वाले आयन शामिल होते हैं, वे इस प्रकार हैं : Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+, Cl^-, SO_4^{2-}, HCO_3^-, तथा CO_3^{2-} ये आयन या तो प्राकृतिक रूप में पाए जाते हैं या प्रदूषकों के रूप में पर्यावरण में जोड़ दिए गए होते हैं। जल की आयनिक संघटना से जल में पाए जाने वाले जन्तुओं तथा पौधों का वितरण प्रभावित होता है। और इस निर्भर करते हुए कि ये जीव लवणता में होने वाले व्यापक उतार–चढ़ाव को सहन कर सकते हैं या नहीं, इनकी दो श्रेणियां बनाई गई हैं – पहली श्रेणी यूरिहेलाइन (euryhaline) अर्थात् अधिकांतरलवणी और दूसरी श्रेणी स्टेनोहेलाइन (stenohaline) अर्थात् अल्पांतरलवणी। अनेक समुद्री जीवधारी समुद्री जल के तनु होने को सहन नहीं कर पाते जैसाकि नदियों के मुहानों पर होता है, जहां ज्वारनदमुखीय (estuary) दशा पैदा होती है। ये जीवधारी ज्वारनदमुखों में जीवित नहीं रह पाते, मगर ऐसे भी समुद्री जीव हैं, जो तनुकारी प्रभाव को सह सकते हैं।

इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप टाइट्रिमेट्रिक (titrimetric) विधि द्वारा जल नमूनों की लवणता के आकलन की विधि सीखेंगे। टाइट्रिमेट्रिक विधि को काफ़ी सही माना जा सकता है हालांकि इस विधि में यह पहले से ही मान लिया जाता है कि समुद्री जल में क्लोराइड की प्रतिशतता संघटना अन्य सभी घुले हुए मौजूद खनिजों के संदर्भ में स्थिर है। अनेक प्रयोगशालाओं में अब टाइट्रिमेट्री के स्थान पर संवाहकता मापन किए जाते हैं क्योंकि लवणता का संबंध सम्पूर्ण घुले लवणों से है। फिर भी हम क्लोराइड आकलन से ही लवणता मापन करेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यास के बाद आप :

- जल नमूनों की क्लोरीनता तथा उनकी लवणता को परिभाषित कर सकेंगे,
- जल नमूनों की लवणता का आयतनात्मक विधि से आकलन कर सकेंगे, और
- जल की लवणता का जीवों के जीवन के साथ संबंध होना बता सकेंगे।

22.2 आवश्यक सामग्री

1. 100 ml के शंक्वाकार .फ्लास्क
2. 10 ml की पिपेट
3. 50 ml का ब्यूरेट
4. सिल्वर नाइट्रेट ($AgNO_3$) के घोल
5. 5% पोटैशियम क्रोमेट ($KCrO_3$) के घोल
6. जल नमूने—2

22.3 कार्यविधि

1. ब्यूरेट में 0.01 N $AgNO_3$ का घोल भरिए।
2. जल नमुने A की 10 ml मात्रा को एक शंक्वाकार .फ्लास्क में लीजिए और उसमें कुछ बूंदें 5% $KCrO_3$ घोल की डालिए।
3. जल नमूने का $AgNO_3$ घोल से टाइट्रेशन कीजिए। अंतिम बिन्दु वह होगा जब ईंट जैसा लाल रंग प्रकट हो जाए।
4. नमूने का तब तक टाइट्रेशन करते जाइए, जब तक कि सुसंगत मान प्राप्त नहीं हो जाते। आपको कम से कम दो बार तो टाइट्रेशन करना ही है।
5. अपने परिणामों को अपनी रिकार्ड नोट बुक में निम्न तालिका के रूप में रिकार्ड कीजिए।

क्रमांक	जल नमूने का आयतन	ब्यूरेट–रीडिंग आरंभिक । अंतिम	इस्तेमाल हुए $AgNO_3$ का आयतन

6. इस प्रयोग को, नमूना B लेकर फिर से कीजिए।

22.4 परिकलन

जल नमूने की लवणता का नीचे दिए गए सूत्र से अपनी रिकार्ड बुक में परिकलन कीजिए :

जल की क्लोरीनपन (chlorocity) =

$$\frac{\text{इस्तेमाल हुए } AgNO_3 \text{ का आयतन} \times AgNO_3 \text{ की नॉर्मलता (normality)}}{\text{नमूने का आयतन}}$$

$$\text{जल की क्लोरीनता (chlorinity)} = \frac{\text{जल की क्लोरीनपन (chlorosity)}}{\text{जल का घनत्व}}$$

जल की लवणता = 0.03 + (1.805 x जल की क्लोरीनता)

= .... भाग प्रति हजार

ऊपर दिए गए परिकलन की सहायता से अपने परिणामों का परिकलन कीजिए तथा नमूनों की लवणता बताइए।

22.5 सावधानियां

अच्छी तरह जांच लीजिए कि आपका ब्यूरेट ठीक से भरा गया है और उसमें बीच में कहीं कोई वायु तो नहीं रह गई है। इसके लिए आपका ब्यूरेट का रोधनी (stop cock) खोलकर कुछ थोड़ा सा $AgNO_3$ बहा देना चाहिए। आप यह सुनिश्चित कर लीजिए कि ब्यूरेट में घोल को इतना भर लें कि वह शून्य के निशान पर आ जाए।

22.6 बोध प्रश्न

1. आपने विभिन्न स्रोतों से लिए जल की लवणता का आकलन किया है। क्या इन दो जलों की लवण-मात्रा भिन्न है ? यदि आपका उत्तर हां में है, तो बताइए कि इस अंतर के उत्तरदायी कारक क्या-क्या हैं ?

....

....

....

....

....

....

़योग 23 जल नमूनों में घुली ऑक्सीजन की मात्रा का आकलन

़परेखा

3.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
3.2 सिद्धांत
3.3 आवश्यक सामग्री .
3.4 कार्यविधि
3.5 परिकलन तथा परिणाम
3.6 सावधानियां
3.7 बोध प्रश्न

3.1 प्रस्तावना

यवीय श्वसन के लिए ऑक्सीजन का होना आवश्यक है। जलीय जीव अपने श्वसन के स्ते ऑक्सीजन को जल से प्राप्त करते हैं। इसके अलावा जल में घुली ऑक्सीजन से न्य कई रसायनों की ऑक्सीडेशन–रिडक्शन (उपचयन–अपचयन) दशा प्रभावित होती है से कि नाइट्रेट तथा अमोनिया, सल्फ़ेट तथा सल्फ़ाइट और फ़ेरस तथा फ़ेरिक आयन। लीय पर्यावरण में विद्यमान ऑक्सीजन मात्रा बहुत भिन्न हो सकती है तथा आमतौर से कम होती है। घुली ऑक्सीजन की मात्रा अनेक कारकों द्वारा प्रभावित होती है जैसे कि ़पमान, लवणता, श्वसन, प्रकाश-संश्लेषण तथा सड़ते हुए पौधों तथा जन्तुओं का घटन। वैसे ही पानी में ऑक्सीजन की घुलनशीलता बहुत ज्यादा नहीं है, और उस पर बढ़ते जाते तापमान पर घुलनशीलता और भी कम हो जाती है। जलीय पौधों की ़ाश-संश्लेषी क्रिया से दिन के समय घुली हुई ऑक्सीजन की मात्रा बढ़ जाती है तथा त के समय आक्सीजन मात्रा कम हो जाती है क्योंकि रात के समय में पौधे तथा प्राणी ़ने श्वसन में इसका उपयोग कर लेते हैं। विघटन (सड़ने–गलने) की प्रक्रिया के दौरान ़मजीव पानी में घुली ऑक्सीजन को इस्तेमाल कर लेते हैं और इस प्रकार इस गैस का भाव हो जाता है, और ऐसा होने पर अन्य जलीय जीवों पर भी बुरा असर पड़ता है। लिका 23.1 में आप कुछ श्वसन माध्यमों में ऑक्सीजन मात्रा को देख सकते हैं।

तालिका 23.1 : जल के कुछ नमूनों में तथा वायु में ऑक्सीजन की मात्रा

़मांक	नमूने	मिलीलिटर/लिटर में घुली ऑक्सीजन की मात्रा
1.	समुद्री जल 5°C पर	6.4
2.	अलवण जल 5°C पर	9.0
3.	अलवण जल 25°C पर	5.8
4.	वायु	209.5

़ में घुली ऑक्सीजन की मात्रा को मापा जा सकता है तथा उसे प्रायः mg/l (जो प्रति ़ लाख भागों के तुल्य है : ppm) में व्यक्त किया जाता है। घुली ऑक्सीजन के

आकलन की दो विधियां है : इलेक्ट्रॉनिक ऑक्सीजन इलेक्ट्रोड द्वारा तथा विंक्लर टाइट्रेशन विधि द्वारा ।

जल मे घुली ऑक्सीजन का आकलन करने के लिए विंक्लर विधि (Winkler's method) सबसे ज्यादा काम में लाई जाती है । इस प्रयोगशाला अभ्यास में आप कम से कम दो विभिन्न स्रोतों के जल जैसे कि तालाव तथा कुएं के जल अथवा नल के तथा कुएं के जल या किसी नदी के तथा कुएं के पानी में घुली ऑक्सीजन का विंक्लर विधि से आकलन करेंगे ।

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला को के बाद आप :

- जल में घुली ऑक्सीजन के आकलन में निहित सिद्धांत का वर्णन कर सकेंगे,
- प्रायोगिक कार्यविधि को विना किसी कठिनाई के कर सकेंगे,
- ऑक्सीजन के आकलन के लिए किए जाने वाले परिकलनों से परिचित हो सकेंगे, तथा
- विभिन्न जलीय आवासों की ऑक्सीजन अंतः मात्रा का उसके महत्व की दृष्टि से विवेचन कर सकेंगे।

23.2 सिद्धांत

विंक्लर विधि एक आयतनात्मक कार्य विधि है जिसमें मैंगेनस आयनों (Mn^{2+}) को मैंगेनिक आयनों (Mn^{3+}) में उपचयित कर लिया जाता है जो किसी एक क्षार के साथ अभिक्रिया करके $Mn(OH)_2$ तथा $MnO(OH)_2$ में अवक्षेपित हो जाता है । इस परिवर्तन में उपचयन कितना होगा यह बात पर सीधा निर्भर है कि घुली हुई ऑक्सीजन की मात्रा कितनी है । तनु सल्फ्यूरिक अम्ल में आयोडाइड आयनों के मौजूद होने पर मैंगेनीज़ हाइड्रोक्साइड ($Mn(OH)_2$ मैंगेनस सल्फेट $MnSO_4$ में परिवर्तित हो जाता है और उसी के साथ–साथ आयोडाइड आयन उपचयित होकर आण्विक आयोडीन (I_2) बन जाता हैं । आयोडीन की यह मात्रा पानी के नमूने में विद्यमान आक्सीजन की मात्रा के अनुक्रमानुपाती है । अभिक्रिया के अंत में जितना आयोडीन निकलता है उसका निर्धारण हीयोसल्फ़ेट के घोल के साथ टाइट्रेशन करके किया जा सकता है जिसमे अंत विन्दू को निर्धारित करने के लिए सूचक के रूप मे स्टार्च का उपयोग किया जाता है ।

23.3 आवश्यक सामग्री

1. ब्यूरेट तथा ब्यूरेट स्टैंड
2. 300 ml की कांच के डाट वाली अभिकर्मक शीशियां (reagent bottles)
3. 500 ml शंक्वाकार फ्लास्क (conical flask)
4. 10 ml की पिपेटे (pipettes)
5. मापन सिलिंडर
6. $MnSO_4$ का घोल (प्रति 1000 ml आसुत जल मे 400 gms)
7. क्षारीय आयोडाइड घोल

   क) 500 gms NaOH/500 ml आसुत जल

ख) 135 gms NaI/500ml आसुत जल

ग) घोल (क) तथा घोल (ख) को मिला लीजिए।

. सांद्र H_2SO_4

. स्टार्च के घोल (10 gms स्टार्च प्रति 1000 ml आसुत जल)। पानी को कुनकुना गर्म करना चाहिए और फिर उसमें स्टार्च घोलिए।

). 0.025 नार्मल सोडियम थायोसल्फ़ेट ($Na_2S_2O_3$) घोल। (6.205 gms $Na_2S_2O_3 5H_2O$ प्रति 1000 ml आसुत जल)

3.4 कार्यविधि

त्येक जल नमूने से सावधानीपूर्वक तथा बिना वायु के बुदबुदों के 300 ml मात्रा कांच के ाट वाली अभिकर्मी शीशियों में लीजिए। शीशियों पर A और B नामांकन कर दीजिए। ली ऑक्सीजन के सही-सही निर्धारण के लिए बहुत जरूरी है कि प्रतिचयन में तथा जल मूनों के तैयार करने में ख़ास सावधानी बरती जाए। हवा में ज़रा भी खुला छोड़ने पर ापके परिणाम ठीक से नहीं आएंगे। अंतः आपको सलाह दी जाती है कि जब भी आप नी इकट्ठा कर रहे हों, तब अपनी शीशी को पानी की सतह के नीचे रखिए तथा पानी ो शीशी में बहुत धीरे-धीरे भरने दीजिए ताकि उसमें हवा मिश्रित न हो सके। यह भी ावश्यक है कि शीशी में नमूना भरने से पहले आप शीशी का आयतन निर्धारित कर लें। ़ काम के लिए आप मापन सिलिंडर का इस्तेमाल कर सकते हैं। नमूने ले लेने के बाद ाशी को तुरंत कांच के डाट से बंद कर दें। इससे वायु भीतर आने से बच जाती है। ब आप नमूनों में विभिन्न अभिकर्मकों को डाल सकते हैं जैसाकि नीचे ब्यौरेवार दिया गया :

कांच के डाट हटाइए और A और B दोनों शीशियों में $MnSO_4$ घोल की 2 ml मात्रा मिलाइए तथा उसके बाद 2 ml क्षारीय आयोडाइड घोल डालिए। इन अभिकर्मकों को मिलाते समय पिपेट की नोक को जल में डुबोते हुए जल की सतह के नीचे मिलाना चाहिए ताकि वायु के साथ संदूषण न होने पाए।

शीशियों में डाट लगा दीजिए और उन्हें कई बार धीमे से आड़ा-तिरछा कीजिए ताकि घोल मिल जाए। आप देखेंगे कि $Mn(OH)_2$ तथा $MnO(OH)_2$ का पीलापन लिए हुए भूरा अवक्षेप बन जाता है। अवक्षेप को नीचे बैठ जाने दीजिए तथा पुनः धीमे से हिलाइए।

डाट हटाइए और फिर सावधानी से 2 ml सांद्र H_2SO_4 को, बनाए गए नमूनों की सतह के न ीचे मिलाइए। शीशियों में फिर से डाट लगा दीजिए तथा अच्छी तरह घोलिए। भूरा अवक्षेप पूरी तरह घुल जाता है तथा एक पीला-सा या भूरा घोल बना रह जाता है।

नमूना शीशी A में से 50 ml तरल को 250 ml के एक शंक्वाकार फ़्लास्क में लीजिए। इसमें 1 ml स्टार्च सूचक घोल मिलाइए। घोल का रंग नीला हो जाता है। इस घोल को 0.025 N (नार्मल) सोडियम थायोसल्फ़ेट घोल के प्रति टाइट्रेट कीजिए।

टाइट्रेशन के लिए ब्यूरेट में थायोसल्फ़ेट घोल भर लीजिए। ब्यूरेट की रोधनी (stop cock) एक बार खोलिए और घोल को बाहर बह जाने दीजिए। ब्यूरेट को फिर से शून्य के निशान तक भर लीजिए तथा टाइट्रेशन कीजिए। अंततः नीला रंग गायब हो जाएगा। ब्यूरेट की रीडिंग को नोट कर लीजिए। टाइट्रेशन को बार-बार फिर से तब तक कीजिए जब तक कि सुसंगत मान प्राप्त न हो जाएं। अगर आपने सावधानी से टाइट्रेशन किया होगा तो दूसरी बार के टाइट्रेशन में ही सुसंगत मान आ जाएंगे।

6. ऊपर दी गई कार्यविधि को नमूना B पर भी कीजिए। आपनी रिकार्ड नोट बुक में नीचे दी गई तालिका के रूप में आकंड़ों को भरिए।

नमूने	क्रमांक	नमूने का आयतन	ब्यूरेट की रीडिंग आरंभिक/अंतिम		काम में आया $Na_2S_2O_3$ का आयतन
A	1.	50	0	4.5	4.5
B	2.	50	4.5	9.0	4.5

23.5 परिकलन तथा परिणाम

नीचे दिए जा रहे परिकलनों का इस्तेमाल करके आप प्रति लीटर जल में घुली ऑक्सीजन की मात्रा का पता लगा सकते हैं :

नमूने का आयतन = 50 ml
शीशी का आयतन = X ml

$$\text{प्रति लीटर ऑक्सीजन की मात्रा} = \frac{K \times 200 \times Na_2S_2O_3 \text{ का आयतन} \times 0.698}{\text{नमूने का आयतन}}$$

$$\text{जिसमें } K = \frac{\text{शीशी का आयतन}}{\text{शीशी का आयतन} - \text{डाले गए अभिकर्मक का आयतन}}$$

मान लिया कि उपयोग हुए 0.025 N $Na_2S_2O_3$ की मात्रा = 4.5 ml

शीशी का आयतन = 300 ml

इस्तेमाल हुए अभिकर्मक की मात्रा = 4 ml (2 ml $MnSO_4$ + 2 ml क्षारीय आयोडाइड)

$$K = \frac{300}{300-4} = \frac{300}{296} = 1.014$$

$$\text{प्रति लीटर } O_2 \text{ की मात्रा} = \frac{K \times 200 \times 4.5 \times 0.698}{50}$$

$$= \frac{1.014 \times 200 \times 4.5 \times 0.698}{50} = 12.74 \text{ mg/L}$$

23.6 सावधानियां

सारे प्रयोग के दौरान जब भी आप नमूनों में अभिकर्मक डाल रहे हों, तो सुनिश्चित कर लीजिए कि जल नमूनों का वायु से कतई संदूषण न हो।

23.7 बोध प्रश्न

क्या दो जल नमूनों में आपको कोई अंतर मिला है ? यदि उत्तर हां में है, तो इस अंतर का आप किस प्रकार स्पष्टीकरण कर सकते हैं ?

....

....

....

....

....

....

प्रयोग 24 समुदाय संरचना का क्वाड्रेट, लाइन तथा बेल्ट विधि से अध्ययन

रूपरेखा

24.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

24.2 आवश्यक सामग्री

24.3 कार्यविधि

24.4 ट्रांसेक्ट

24.5 प्रेक्षण तथा परिणाम

24.6 सावधानियां

24.1 प्रस्तावना

पौधों में आपस में तो परस्पर संबंध होता है, साथ ही साथ शेष पर्यावरण के साथ भी एक संबंध होता है । एक क्षेत्र के ऐसे ही साथ–साथ उगे पौधों के समूह को स्टैंड कहते हैं । कई स्टैंड मिलकर समुदाय बनाते हैं, तथा समुदाय एक पारिस्थितिकीय तंत्र का यानि परितंत्र का भाग होता है जिसमें ऊर्जा का रूपांतरण, संचयन एवं प्रवाह होता रहता है । इस पारिस्थितिकीय तंत्र के कार्यचालन का निकट संबंध समुदाय के घटकों से है । ये घटक गुणात्मक रूप में तथा संख्यात्मक रूप में, दोनों तरह से भिन्न हैं तथा वे समुदाय को एक संरचना प्रदान करते है ।

समुदाय संरचना

समुदाय की संरचना (community structure) के अध्ययन के लिए अनेक लक्षणों को ध्यान में रखा जाता है जिन्हें प्रायः दो श्रेणियों के भीतर रखा जा सकता है — विश्लेषात्मक तथा संश्लेषात्मक । कुछ विश्लेषात्मक लक्षणों जैसे बारंबारता (frequency), घनत्व (density), बाहुल्य (abundance) और प्रभाविता (dominance) को संख्यात्मक रूप से व्यक्त किया जा सकता है जबकि अन्य जैसे समाजशीलता (sociability), जीवन शक्ति (vitality), आवर्तिता (periodicity) तथा स्तरीकरण (stratification) को केवल गुणात्मक रूप से ही व्यक्त किया जा सकता है । संश्लेषी लक्षणों में उपस्थिति, स्थिरता तथा घटकों की संलग्नता आते है और उन्हें समुदाय के अनेक स्टैंडों के विश्लेषी लक्षणों से अभिकलित किया जा सकता है ।

किसी विश्लेषी लक्षणों का निर्धारण तीन मुख्य प्रतिचयन इकाईयों — क्षेत्रफल, लाइन तथा पॉइंट के द्वारा किया जाता है जैसे कि ये क्रमशः क्वाड्रेट, ट्रांसेक्ट तथा पॉइंट विधि में इस्तेमाल किया जाता है ।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- क्वाड्रेट, लाइन तथा पट्टी विधि के विषय में जान कर उनका उपयोग कर सकेंगे,
- किसी निर्दिष्ट क्षेत्र में कौन सी विधि सबसे अधिक कारगर होगी और उसे कैसे प्रयोग किया जाए इस विषय में जान सकेंगे,
- आप अपनी प्रतिचयन रणनीति को पहले से ही तैयार कर सकेंगे और अच्छी तरह से उपयोग कर सकेंगे,

- अपने उपकरण की तथा जिस तकनीक का आप इस्तेमाल करने जा रहे हैं उसकी सीमाएं जान सकेंगे ।

24.2 आवश्यकताएं

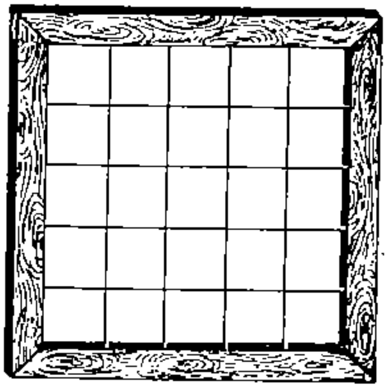
क्वाड्रेट, खूंटे, धागे, रिकार्ड बुक, आवर्धक लेन्स, दस्ताने ।

24.3 विधियां

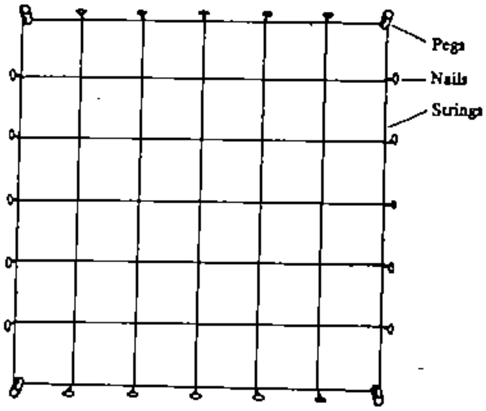
क्वाड्रेट : पादप समुदायों के वितरण के निर्धारण में क्वाड्रेट (quadrats) का व्यापक उपयोग किया जाता है, किंतु इन्हें धीमी गति से चलने वाले अकशेरुकियों जैसे पत्तियों के करकट (litter) में रहने वाले या अंतरज्वारीय (intertidal) अवासों में रहने वाले अकशेरुकियों के लिए उपयोग किया जा सकता है ।

क्वाड्रेट किसी ज्ञात क्षेत्र के प्रतिचयन (sampling) की इकाईयां होते हैं । अब आप सोच रहे होंगे कि प्रतिचयन क्यों आवश्यक है । किसी एक समष्टि के भीतर तमाम व्यष्टिगत प्राणियों अथवा पौधों को गिन सकना शायद ही कभी संभव हो पाए । ऐसा करना न केवल अत्याधिक श्रमप्रधान और समय लगने वाला होगा वरन् इससे निश्चय ही अध्ययन किए जा रहे आवास तथा वहां की समष्टि में गड़बड़ी तथा क्षति भी होगी । अतः प्रतिचयन के द्वारा अध्ययन के लिए हमारा उद्देश्य पूरी समष्टि के एक छोटे प्रतिदर्श का चयन करना है । ये प्रतिचयन इकाइयां स्पष्ट होनी चाहिए, उनमें अतिव्यप्ति (overlapping) नहीं होनी चाहिए, और परस्पर मिलकर वे पूर्ण समष्टि बनाती हों । तब प्रत्येक प्रतिचयन इकाई में स्पीशीज़ विशेष की व्यष्टियों की संख्या गिन ली जाती अथवा आकलित कर ली जाती है और फिर इस जानकारी से आप उस स्पीशीज़ की कुल मिलाकर समष्टि में बारंबारता (frequency) तथा वितरण (distribution) का पता लगा सकते हैं ।

आइए अब क्वाड्रेट की संरचना के विषय में अध्ययन करें । प्रायः क्वाड्रेटों का एक आयताकार चौकोर फ्रेम (चित्र 24.1) होता है । ये फ्रेम अलग–अलग मापों के आते है । यदि क्वाड्रेट उपलब्ध न हो तो आप एक ज्ञात लंबाई चौड़ाई का क्वाड्रेट स्वयं बना सकते हैं । इसके लिए आप चार खूंटे तथा डोरी या मजबूत धागा ले सकते हैं । खूंटों को बराबर दूरी पर चार कोनों पर जमीन में गाड़ दिया जाता है (चित्र 24.2) । दूरी कितनी होगी आप स्वयं इसका निर्णय कर सकते हैं ।



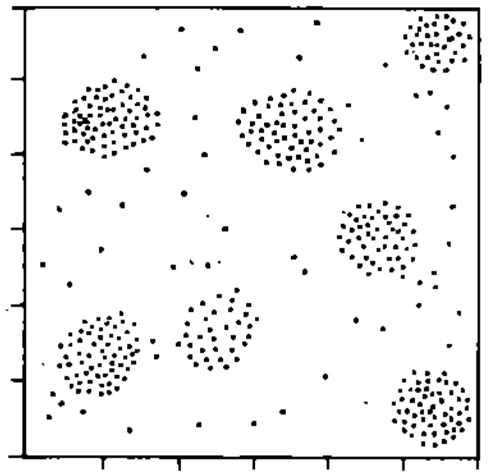
चित्र 24.1 : क्वाड्रेट फ्रेम .5 m² का लकड़ी का फ्रेम जिसमें हर 10 cm पर तार लगाए गए है ।



चित्र 24.4 : चार खूंटों तथा डोरियों से बनाया गया क्वाड्रेट । बराबर दूरियों पर कीलें गाड़ दी जाती है तथा डोरी की मदद से वर्ग बना दिए जाते है ।

जब आप क्वाड्रेट का इस्तेमाल करते हैं तो यह मान लिया जाता है कि इसमें आने वाली अंतःवस्तु सम्पूर्ण प्रतिचयन क्षेत्र की प्रतिदर्श होगी। सामान्यतः 1 m^2 तथा 0.25 m^2 फ्रेम के क्वाड्रेट इस्तेमाल किए जाते हैं। इन्हें लकड़ी से आसानी से बनाया जा सकता है जिसमें आड़े तारों अथवा डोरियों से 10-10 cm की दूरियों पर उपविभाजन बना दिए जाते हैं ताकि गिनने में सुविधा हो।

अब प्रश्न उठता है कि क्वाड्रेट का साइज़ कैसे निर्धारित किया जाए। यदि प्रतिचयन क्षेत्र के भीतर का वितरण वास्तव में यादृच्छिक है तो समष्टि के आकलन के लिये क्वाड्रेट के सभी साइज़ समान रूप में कारगर होंगे। मगर समष्टि का स्थानगत फैलाव (वितरण) शायद ही कभी यादृच्छिक अथवा समरूप हो। जो व्यष्टियां पथ मार्गों में पायी जाती हैं उनमें समूहगत वितरण पाए जाने की ज़्यादा संभावना है (चित्र 24.3)। ऐसा इसलिए क्योंकि एक प्रतिचयन क्षेत्र के भीतर अनेक पर्यावरण कारक असमान रूप में वितरित होंगे।



चित्र 24.3 : समूहगत वितरण

जब समष्टि समुच्चयों में पायी जाती हो तब सामान्यतः छोटे आकार के क्वाड्रेट बड़े आकार के क्वाड्रेट की अपेक्षा अधिक कारगर पाए गए हैं। तब मन में तुरंत प्रश्न उठता है, ऐसा क्यों ?

इसके विभिन्न कारण इस प्रकार हैं :

- उतना ही श्रम खर्च करके छोटे प्रतिचयनों की अधिक संख्या का अध्ययन किया जा सकता है।
- आवास के एक ही बड़े क्षेत्र में छोटे क्वाड्रेटों की उससे अधिक संख्या आती है जितनी की बड़े क्वाड्रेटों की आएगी। इस स्थिति में प्रतिचयन अधिक प्रतिदर्शी होंगे।
- सांख्यिकीय त्रुटि कम होगी क्योंकि जब एक प्रतिचयन में अनेक छोटी-छोटी इकाईयां होती हैं तब उनमें बड़े आकार की कम संख्या वाली इकाइयों के प्रतिचयन की अपेक्षा अधिक स्वातंत्र्य होगा।

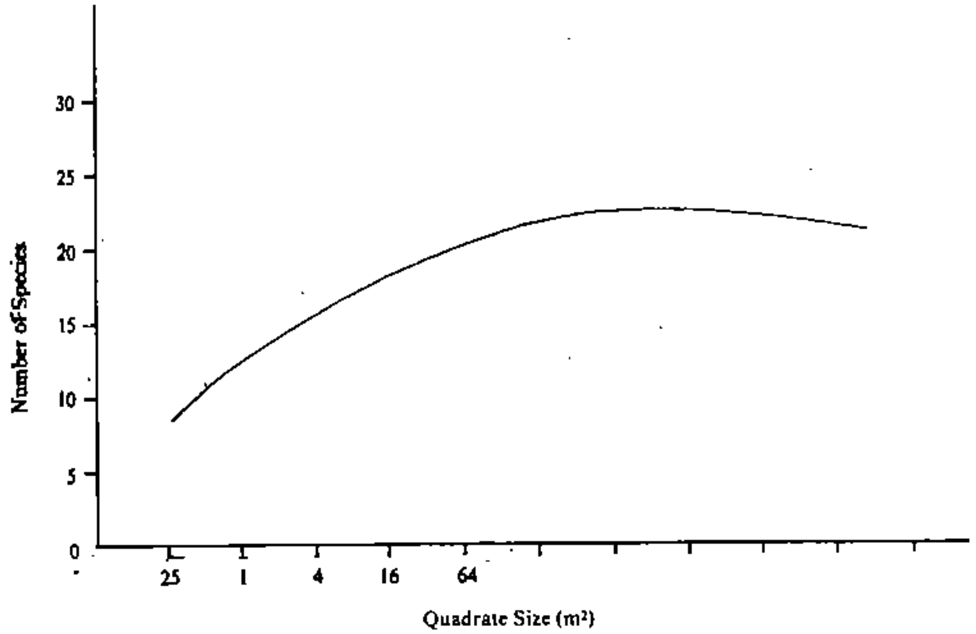
हालांकि सिद्धांततः छोटा क्वाड्रेट सबसे अच्छा होता है फिर भी कुछ ऐसे तर्क हैं जो साइज़ को एक सीमा से ज्यादा छोटा हो सकने पर रोक लगाते हैं। उदाहरण के लिए, जब आप किसी वन में प्रतिचयन कर रहे हों तब अगर छोटा क्वाड्रेट बनाया गया है तो वृक्ष की प्रभावी स्पीशीज़ का प्रतिचयन घट जाएगा। इसके अलावा क्वाड्रेट जितना छोटा होगा उतनी ही ज्यादा उसके सीमांतों पर प्रतिचयन त्रुटि होगी, तब मन में एक दुविधा भी होगी कि क्वाड्रेट के सीमांतों पर उगे पौधों को गणना में शामिल किया जाए या नहीं।

अतः किसी एक विशिष्ट प्रकार की वनस्पति के लिए अनुकूलतम क्वाड्रेट साइज़ निर्धारण के लिए क्रमवत् बढ़ते जाते हुए साइज़ के अनेक क्वाड्रेट लिए जाते हैं। क्वाड्रेट साइज़ की प्रत्येक वृद्धि के बाद गिनी गयी विभिन्न स्पीशीज़ की कुल संख्या को रिकार्ड कर लिया जाता है, उदाहरणस्वरूप

क्वाड्रेट साइज़	**विभिन्न स्पीशीज़ की कुल संख्या**
0.025	10
1	14
4	19
8	22
16	25

अंततः एक ऐसा स्थान बिंदु आ जाता है जहां क्वाड्रेट साइज़ में और अधिक वृद्धि होने पर कुछ थोड़ी सी ही अतिरिक्त स्पीशीज़ गिनी जा सकती है। चूंकि सामान्य मिलने वाली सभी स्पीशीज़ पहले ही गणना में शामिल हो चुकी होंगी। अतः एक बहुत बड़े क्वाड्रेट का रिकार्ड बनाने में जो अतिरिक्त समय तथा प्रयास खर्च होंगे, उससे कोई विशेष या अधिक जानकारी नहीं मिल पाएगी।

अनुकूलतम क्वाड्रेट साइज़ तब प्राप्त हो जाता है जब क्वाड्रेट साइज़ में 1% की वृद्धि से उस भाग में स्पीशीज़ की संख्या में 0.5% से अधिक का वृद्धि नहीं होती (चित्र 24.4)।



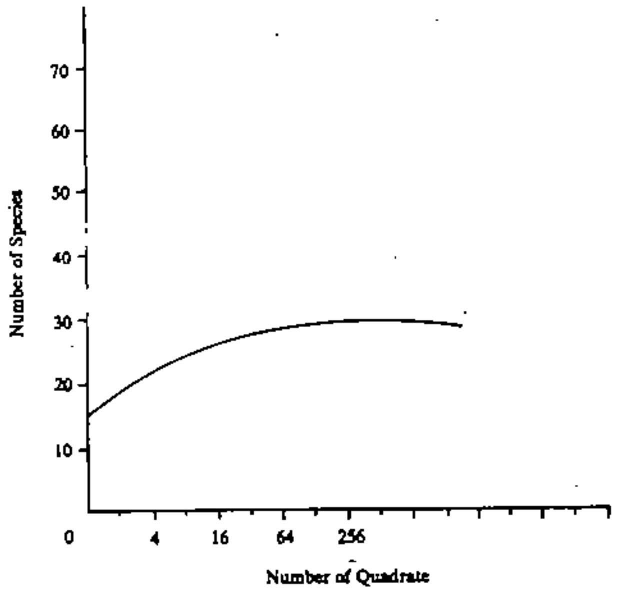
चित्र 24.4 : अनुकूलतम क्वाड्रेट साइज़ का निर्धारण करने का ग्राफ़

अब क्वाड्रेट की संख्या का प्रश्न आता है। आप देख चुके हैं कि प्राकृतिक समष्टियों में प्रतिचयन करते समय बहुत विभिन्नता पायी जाती है। अपने परिणामों को साख्यिकीय महत्व का बनाने के लिए प्रतिचयन अधिक संख्या में किए जाने चाहिए। फिर भी सभी स्पीशीज़ को अलग छांट कर गिनने का काम बहुत बड़ी संख्या में लिए गए प्रतिचयनों में किया जाना चाहिए। मगर एक बहुत बड़े प्रतिचयन में सभी स्पीशीज़ को अलग–अलग गिनने का काम बहुत ही कठिन तथा समय लेने वाला हो सकता है। जब आप किसी एक विशिष्ट स्थान की स्पीशीज़ संघटना का अध्ययन कर रहे हों तब एक ऐसे ही अभ्यास कार्य से क्वाड्रेटों की आवश्यक अनुकूलतम संख्या का आंकलन किया जा सकता है। संतोषजनक न्यूनतम साइज़ के क्वाड्रेटों की परिचयन क्षेत्र में एक दिशा से दूसरी दिशा तक यादृच्छिक रूप में

रख दिया जाता है । तब विभिन्न स्पीशीज़ की संचयी संख्या को प्रत्येक क्वाड्रेट वृद्धि के बाद रिकार्ड कर लिया जाता है, जैसे

क्वाड्रेटों की संख्या	स्पीशीज़ की कुल संख्या
1	14
4	34
8	37
16	40

अंततः एक ऐसा बिंदु आ जाता है जहां सभी सामान्यतः मिलने वाली स्पीशीज़ को पहचान लिया जाता है और उसके बाद क्वाड्रेट संख्या को बढ़ाने से जितना अधिक समय और श्रम लगेगा उसका कोई खास लाभ नहीं होगा (चित्र 24.5) । जब स्पीशीज़ की संख्या में 1% की वृद्धि हो जाए और उसके बाद 0.5% से ज़्यादा वृद्धि नहीं होती तब समझना चाहिए की क्वाड्रेटों की संतोषजनक संख्या पहुंच गयी है ।



चित्र 24.5 : क्वाड्रेटों की संख्या निर्धारित करने का ग्राफ

जब हमें क्वाड्रेटों का साइज़ तथा उनकी संख्या मालूम हो तो हम मात्र प्रेक्षण को ही लेकर पूरे समुदाय की संरचना का अध्ययन कर सकते है । ऊपर वर्णित विधि के द्वारा डोरियों तथा लकड़ी के खूटों को लेकर आप एक निश्चित साइज़ का क्वाड्रेट बना सकते हैं अथवा ज्ञात साइज का लकड़ी का क्वाड्रेट बना सकते है । क्वाड्रेटों की संख्या पहले से ही ज्ञात है । अब आप प्रेक्षण ले सकते हैं ।

क्र.	स्पीशीज़ का नाम	क्वाड्रेट 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	A	—	—	—	—	—	—	6	—	4	—
2	B	4	2	1	—	—	—	3	—	2	—
3	C	1	8	—	10	—	—	11	7	8	2

24.4 ट्रांसेक्ट

ट्रांसेक्टों (Transects) के इस्तेमाल में एक प्रकार का व्यवस्थापूर्ण प्रतिचयन किया जाना होता है किन्तु इसके मामले में प्रतिचयनों का एक रेखीय तराके से अध्ययन किया जाता है। ट्रांसेक्ट विधि उस स्थिति में लाभदायक होती है जब पादप समुदायों की विभिन्न स्पीशीज़ की संघटना में पाए जाने वाले परिवर्तनों को रिकार्ड करना हो, ऐसे क्षेत्रों में किसी न किसी प्रकार का स्थानांतरण पाया जाता है जैसे कि जल से थल की ओर अथवा एक प्रकार की मिट्टी से दूसरे प्रकार की मिट्टी की ओर हो।

आम तौर से दो प्रकार के ट्रांसेक्ट इस्तेमाल किए जाते हैं।

1. पट्टी ट्रांसेक्ट

यह प्रायः 0.5 m की चौड़ी पट्टी होती है जो अध्ययन क्षेत्र के एक छोर से दूसरे छोर तक इस प्रकार से स्थित होती है जिसमें स्थानांतरण सुस्पष्ट हो। प्रतिचयन क्षेत्र के आर से पार एक टेप या रस्सी फैला दी जाती है जिस पर हर 0.5 m की दूरी पर निशान बने होते हैं तथा इस रस्सी के सहारे हर 0.5 m पर 0.25 m^2 के फ्रैम क्वाड्रेट बिछा दिए जाते हैं ताकि एक लगातार जारी पट्टी ट्रांसेक्ट बन जाए। क्वाड्रेटों में आने वाले प्राणियों तथा पौधों को पहचान कर गिन लिया जाता है और उनकी आपेक्षिक बहुलता का आंकलन कर लिया जाता है। 15 मीटर लम्बे इस प्रकार के ट्रांसेक्ट पर कार्य करना बहुत ज्यादा समय ले लेता है, अतः अक्सर ऐसा किया जाता है कि क्वाड्रेट प्रतिचयन एक-एक मीटर को छोड़ कर किया जाता है, जिसके फलस्वरूप एक सीढ़ीनुमा ट्रांसेक्ट प्राप्त होता है।

इस प्रयोग को करने में आप देख सकते हैं कि इस प्रकार का प्रतिचयन काफ़ी गहन होता है अर्थात् काफी परिश्रम करना पड़ता है। मगर इससे पाए जाने वाले जीवों का सही-सही रिकार्ड मिल जाता है। हालांकि ट्रांसेक्ट की लंबाई कितनी होनी चाहिए इसकी सीमा उपलब्ध समय पर निर्भर होगी। ट्रांसेक्ट के कार्य में जमीन की ऊंचाई-नीचाई में पाए जाने वाले अंतर भी रिकार्ड किए जाने जरूरी हैं।

पट्टी ट्रांसेक्ट के वास्ते आंकड़ा चार्ट

स्पीशीज़ का नाम	क्वाड्रेटों की संख्या														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
......															
......															
......															
......															
......															
......															
......															
......															

....

....

लाइन ट्रांसेक्ट विधि

यह विधि कम समय लेती है और इसमें मात्रात्मक बोध कम होता है, अतः यह कम प्रतिदर्शी होती है। एक टेप या रस्सी पर हर 0.5 m की दूरी पर निशान लगाकर उस ज़मीन के क्षेत्रफल के साथ-साथ लगा दिया जाता है जिसका प्रतिचयन करना होता है। इस लाइन द्वारा छूने वाले या इसके मार्ग में आने वाले पौधों की विभिन्न स्पीशीज़ को या तो पूरे रास्ते या नियमित दूरियों पर रिकार्ड किया जाता है। अनेक स्पीशीज़ ऐसी हो सकती है जो लाइन से छू नहीं रही होंगी और इसलिए उन्हें रिकार्ड नहीं किया जाता। अतः जिस समुदाय पर लाइन ट्रांसेक्ट किया जा रहा हो वहां पर प्राप्त हुए परिणाम पूर्णतः अवास्तविक होते हैं। मगर आपको कुल मिलाकर स्थानांतरण के मुख्य पहलुओं का एक मोटा-मोटा अंदाजा लगाना हो तो यह विधि बहुत उपयोगी है। आकंड़ा शीट वही होगी जैसी कि ट्रांसेक्ट विधि में थी।

24.5 प्रेक्षण तथा परिणाम

दिए गए आंकड़ा शीट पर प्रेक्षण को स्पीशीज़ के आगे + तथा – का चिन्ह लगाकर रिकार्ड कीजिए। जो स्पीशीज़ कई क्वाड्रेटों में मौजूद है वह बहुल है तथा जो थोड़े ही क्वाड्रेटों में मौजूद हैं वह विरल है।

24.6 सावधानियां

ध्यान में रखने वाली सबसे महत्वपूर्ण बात है कि पर्यावरण को सुरक्षित रखा जाए। जिसके लिये निम्न बातें ध्यान में रखी जानी चाहिए :

1. अलग-अलग प्रकार के जो भी पौधे तथा प्राणी इक्ट्ठे किए जाए उनकी संख्या कम से कम रखनी चाहिए। प्रयोग की प्रकृति पर आधारित यदि संख्यात्मक अध्ययन करना आवश्यक है तब तो लिए गये प्रतिचयन की संख्या पक्के तौर पर सीमित रहनी चाहिए।
2. जहां तक संभव हो अभ्यास के दौरान जितने भी जीव पकड़े गए हों उन्हें प्रयोग के समापन के बाद वापस उनके मूल आवास में छोड़ देना चाहिए।
3. एक ही स्थान से बार-बार संग्रह नही किया जाना चाहिए। यदि ऐसा किया गया तो संबद्ध समुदाय के भीतर पौधों तथा प्राणियों की स्पीशीज़ के घनत्व पर बुरा असर पड़ेगा।
4. संग्रह करने के दौरान आवास को क्षति नहीं होने देनी चाहिए क्योंकि ऐसा होने से वहां पाए जाने वाले जीवों पर बुरा असर पड़ता है।

विवेचना

तो अब स्पष्ट हो गया है कि यदि आपको किसी समुदाय की संरचना निर्धारित करनी है तो आपके पास तीन विधियां है। निर्णय आपको करना है कि कौन सी विधि अपनायी जाए।

1. क्वाड्रेट विधि,
2. पट्टी ट्रांसेक्ट विधि, तथा
3. लाइन ट्रांसेक्ट विधि ।

अगली मुख्य समस्या पौधों तथा प्राणियों का अभिनिर्धारण यानि उनकी पहचान करना है । पौधों तथा प्राणियों का नीचे, स्पीशीज़ स्तर तक, का अभिनिर्धारण करना कठिन होने के साथ-साथ अधिक समय लेने वाली भी है । यदि आपके पास बने बनाए चित्र तथा पहचान कुंजियां हैं और उनका उपयोग करके आप स्पीशीज़ पहचान सकते हैं तब तो बहुत ही अच्छा है ? यह कार्य कठिन है क्योंकि आपके पास समय सीमित है । अतः अध्ययन केन्द्र पर नियुक्त परामर्शदाता आपकी पौधों तथा प्राणियों की स्पीशीज़ पहचानने में सहायता करेंगे ।

प्रयोग 25 क्वाड्रेट विधि द्वारा स्पीशीज़ की बारंबारता, घनत्व तथा बहुलता का निर्धारण

रूपरेखा

25.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
25.2 आवश्यक सामग्री
25.3 कार्य विधि
25.4 प्रेक्षण तथा परिकलन
25.5 सावधानियां

25.1 प्रस्तावना

पहले प्रयोग में आप जान चुके हैं कि समुदाय की संरचना का अध्ययन किस प्रकार किया जाता है । लेकिन विस्तृत जानकारी के लिए आपको समुदाय की संरचना का संख्यात्मक विश्लेषण करना होगा । इस प्रयोग में आप अध्ययन की जा रही स्पीशीज़ की बहुलता तथा घनत्व का परीकलन कर सकेंगे ।

उद्देश्य

इस प्रयोग के अंत में आप निम्न बातें कर सकेंगे :

- क्वाड्रेट बना सकेंगे,
- एक विनिर्दिष्ट आवास में किसी एक विशिष्ट स्पीशीज़ की बहुलता तथा घनत्व का पता लगा सकेंगे ।

25.2 आवश्यक सामग्री

1. चार खूंटे
2. एक मीटर का स्केल
3. 50 मीटर डोरी
4. वर्क बुक
5. पादप या पौधे संग्रह के लिये एक थैला
6. निश्चित साइज़ का लकड़ी का क्वाड्रेट (जैसा कि पिछले प्रयोग में निर्धारित किया गया था)
7. ग्राफ शीट
8. हर्बेरियम शीट
9. सेलो टेप

25.3 कार्यविधि

प्रयोग 24 के द्वारा आपको पता चल गया है कि आपको कितनी संख्या में क्वाड्रेट चाहिए। क्वाड्रेट में मौजूद विभिन्न पादप स्पीशीज़ के नाम नोट कर लीजिए। अच्छा रहेगा कि आप स्वयं ही विभिन्न स्पीशीज़ का अभिनिर्धारण कर सकें या वहां पर अपने परामर्शदाता से पूछे। प्रत्येक स्पीशीज़ की व्यष्टियों की कुल संख्या गिन लीजिए।

25.4 प्रेक्षण तथा परिकलन

विभिन्न स्पीशीज़ के नाम, प्रत्येक स्पीशीज़ की कुल संख्या को अपनी प्रेक्षण नोट बुक में नोट कीजिए और बारंबारता का घनत्व परिकलित कीजिए जैसे कि नीचे दिखाया गया है :

परिकलन

$$\text{बारंबारता} = \frac{\text{कुल क्वाड्रेटों की संख्या जिसमें स्पीशीज़ पायी गई}}{\text{अध्ययन किए गए क्वाड्रेटों की कुल संख्या}} \times 100$$

$$\text{घनत्व} = \frac{\text{स्पीशीज़ की व्यष्टियों की कुल संख्या}}{\text{अध्ययन किए गए क्वाड्रेटों की कुल संख्या}}$$

$$\text{बहुलता} = \frac{\text{स्पीशीज़ की व्यष्टियों की कुल संख्या}}{\text{उन क्वाड्रेटों की कुल संख्या जिनमें वह स्पीशीज़ पायी गयी है}}$$

इस प्रकार प्रत्येक स्पीशीज़ के लिए प्राप्त घनत्व मानों की व्यष्टियां प्रति इकाई क्षेत्र के रूप में व्यक्त किया जाता है। उदाहरण के लिए स्पीशीज़ का परिकलित घनत्व मान (सारणी 1) यह है :

1. यह मान प्रति 1600 cm^2 है (अर्थात् लिए गए क्वाड्रेटों का क्षेत्रफल (40 x 40 cm) इस स्पीशीज़ का वास्तविक घनत्व इस प्रकार होगा। 1600 cm^2 के क्षेत्रफल में एक व्यष्टि है।

100 x 100 cm अर्थात् 10,000 cm^2 अथवा (1 x 1 m अर्थात् 1 m^2) में

$$= \frac{10,000 \times 1}{1,600} = 6.25 \text{ व्यष्टियां}$$

इस प्रकार स्पीशीज़ A का घनत्व 6.25 प्रति मीटर है न कि 1। इसी प्रकार आप किसी विशिष्ट क्षेत्र में बहुलता तथा बारंबारता का भी पता चला सकते हैं।

25.5 सावधानियां

वैसी ही जैसी कि पिछले प्रयोग में दी गई हैं।

सारणी 25.1 : विभिन्न स्पीशीज़ की सूची तथा वे सब आकड़े जो क्वाड्रेट विधि से रिकार्ड किए गए हैं । अध्ययन में लिए गए क्वाड्रेट का क्षेत्रफल – 40 cm x 40 cm = 1600 cm²

क्र- मांक	स्पीशीज़ का नाम	बिछाए गए क्वाड्रेट 1 2 3 4 6 7 8 9 10	स्पीशीज़ की व्यष्टियों की कुल संख्या	उन क्वाड्रेटों की कुल संख्या जिनमें वह थी	अध्ययन किए गए कुल क्वाड्रेटों की संख्या	घनत्व	बहुल- ता	बारं- बारता
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Species A	4 – – 6 – – – – –	10	2	10	1*	5	20%

* घनत्व को आप वर्णित विधि के अनुसार परिकलित कीजिए तथा इस मान को प्रति इकाई क्षेत्रफल में परिवर्तित कर दीजिए ।

प्रयोग 26 मरुद्भिदों, समोद्भिदों तथा जलोद्भिदों का अध्ययन

रूपरेखा

:6.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
6.2 आवास पर आधारित पौधों की श्रेणियां
6.3 जलोद्भिद्
आकारिकीय लक्षण
शारीरीय लक्षण
6.4 समोद्भिद्
6.5 मरुद्भिद्
आकारीकीय लक्षण
शारीरीय लक्षण
5.6 बोध प्रश्न

6.1 प्रस्तावना

धों का वितरण समस्त संसार में सुदूर उत्तर से लेकर सुदूर दक्षिण तक तथा पूर्व से लेकर श्चिम तक सर्वत्र पाया जाता है । इस प्रकार पौधों के कुछ समूह असाधारण अथवा चरम र्यावरणों में भी पाए जाते हैं । इन पौधों के शरीर तथा आकारिकी में नानाविध रूपांतरण ए जाते हैं जिनका संबंध अधिकतर विशेष कार्यों से होता हैं । पौधों पारिस्थितिकीय समूह हुत ही विस्तृत है । मगर उन्हें किसी आधार पर वर्गीकृत किया जाना चाहिये । ऐसा ही क आधार जल है । Warming (1909) ने पादप समुदायों को उनके जल संबंध के धार पर वर्गीकृत किया था । जल सर्वाधिक महत्व का है, इसलिए वनस्पति के वितरण में वनस्पति की संरचना में जल का ही सर्वाधिक महत्वपूर्ण स्थान है । वार्मिंग ने थमिकतः पौधों के तीन मुख्य समूह बनाए :

जलोद्भिद

समोद्भिद

मरुद्भिद

लोद्भिद वे पौधे होते हैं जो अंशतः या पूर्णतः जल में डुबे हुए होते हैं और ऐसा कम से र कुछ सप्ताह के लिए तो होता ही है । समोद्भिद वे होते हैं जो थल पर जहां मृदा र्दता औसत दर्जे की होती है, पाए जाते हैं । मरुद्भिद् वे होते हैं जो शुष्क थल पर पाए ते हैं ।

श्य

प्रयोग को करने के बाद आप :

जलोद्भिदों, समोद्भिदों तथा मरुद्भिदों का वर्णन कर सकेंगे एवं उनमें विभेद कर सकेंगे ।

- जलोद्भिदों, समोद्भिदों तथा मरुद्भिदों के विभिन्न अनुकूलनों को उनके उदाहरण एवं चित्रों सहित सूचीबद्ध कर सकेंगे ।

26.2 आवासों पर आधारित पौधों की श्रेणियां

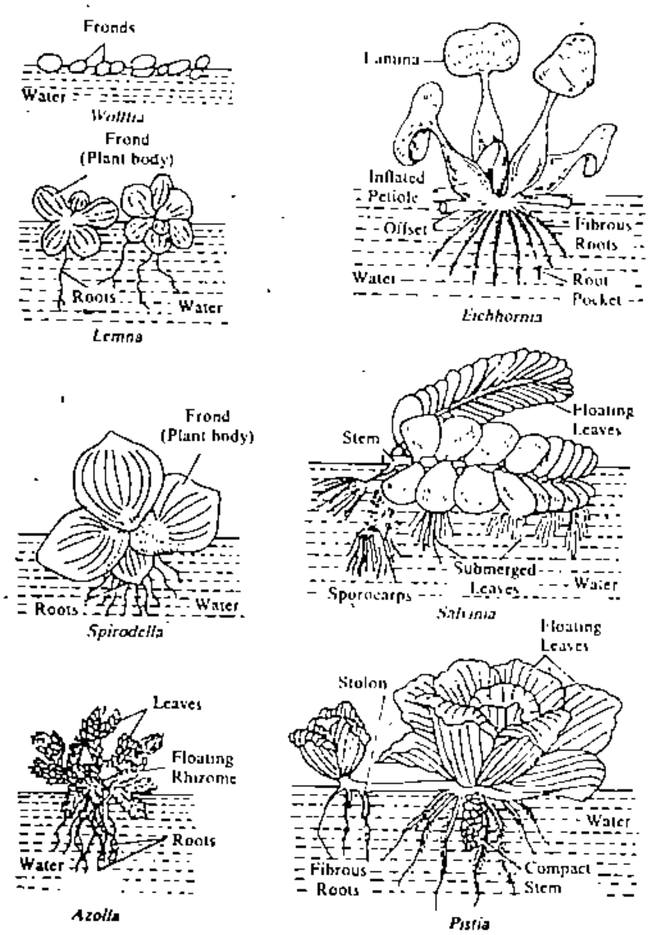
इस प्रयोग में आपको कुछ पौधों के नमूने एवं स्लाइडें दिखाई जायेगी । यहां दिए जा रहे वर्णन से आपको इन पौधों को विभिन्न श्रेणियों में (नीचे वर्णित) वर्गीकृत करना है ।

26.3 जलोद्भिद

जलोद्भिद जल में किस विधि के अनुसार परिवर्धित होते हैं, इस आधार पर इन्हें निम्न पां श्रेणियों में विभाजित किया गया है :

i) मुक्त प्लावी जलोद्भिद

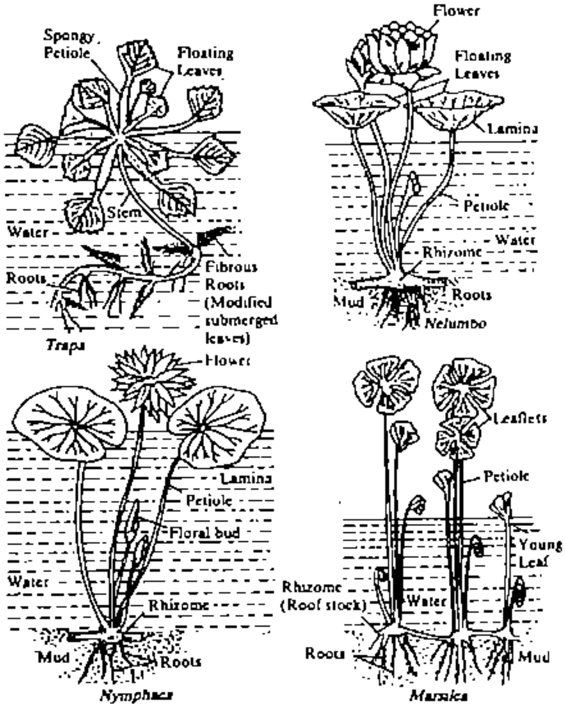
इस श्रेणी के पौधे पानी तथा वायु के संपर्क में तो रहते हैं मगर मिट्टी से उनका संबंध नहीं रहता, ये जल की सतह पर मुक्त रूप में तिरते रहते हैं । कुछ में पत्तियां अत्यंत सूक्ष्म होती हैं तथा कुछ में काफी बड़ी होती हैं । कुछ मुक्त प्लावी जलोद्भिद इस प्रकार हैं : *Trapa bispinosa, Azolla, Eichhornia crassipes, Salvinia, Wolffia, Pistia, Lemna* (चित्र 26.1)



चित्र 26.1 : मुक्त प्लावी जलोद्भिद ।

जड़युक्त जलोद्भिद जिनमें तिरने वाली पत्तियां होती हैं

ऽ प्रकार के जलोद्भिद की जड़ें कीचड़ में गड़ी होती है, लेकिन पत्तियों के पर्णवृंत etioles) लम्बे होते हैं जो पत्तियों को जल की सतह पर तिरते रहते हैं। पत्तियों को छोड़ र शेष पौधा पानी में डूबा रहता है। कुछ उदाहरण इस प्रकार है – *Nelumbo* *cifera, Nymphaea stellate* (वाटर लिली) *Trapa, Marsilea* (चित्र 26.2)।



चित्र 26.2 : जड़युक्त जलोद्भिद तिरने वाली पत्तियों सहित।

जलमग्न प्लावी जलोद्भिद

प्रकार के पौधों का संपर्क केवल जल से होता है। ये पूरी तरह पानी में डूबे रहते हैं र कीचड़ में जड़े स्थिर नहीं रहती। इनके स्तंभ लम्बे और पत्तियां प्रायः छोटी होती है। ऽ उदाहरण है – *Ceratophyllum, Utricularia* (चित्र 26.3)।

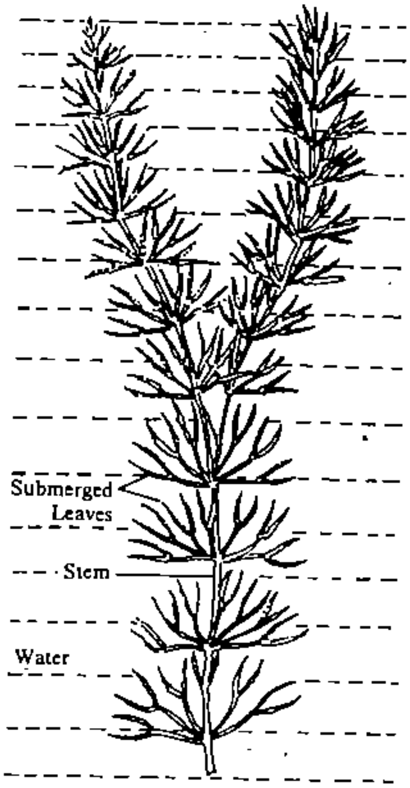
जड़ से स्थिर जलमग्न जलोद्भिद

प्रकार के जलोद्भिद पानी में पूरी तरह डूबे रहते हैं और मिट्टी में जड़ों से स्थिर रहते । कुछ पौधों में स्तंभ लम्बा होता है जिस पर पर्वों पर छोटी–छोटी पत्तियां बनी होती है। ऽ पौधों में स्तंभ कंदीय होता है (कार्म–जैसा) और उस पर लम्बी संकरी पत्तियां बनी ती है, कुल मिलकर पत्तियां रिबन जैसी दिखाई देती हैं। सामान्य उदाहरण : *llisneria, Chara, Hydrilla, Potamogeton* (चित्र 26.4)

जड़ से स्थिर पानी से बाहर को निकले जलोद्भिद

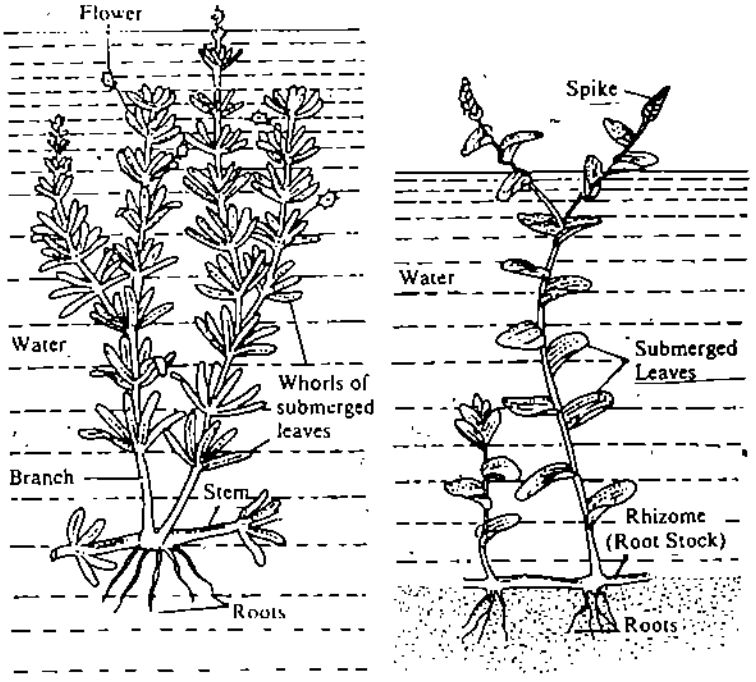
प्रकार के पौधे उथले पानी में उगते हैं। ये ऐसे जलरागी पौधे है जिन्हें हालाकि पानी बहुलता चाहिए लेकिन उनके प्ररोह (प्रकाश–संश्लेषी अंग) अंशतः अथवा पूर्णतः पानी बाहर को निकले रहते हैं। इनका जड़तंत्र पूर्णतः जल के भीतर मिट्टी में गड़ा रहता । कुछ पौधों में प्ररोह अंशतः पानी में तथा अंशतः वायु में बाहर को निकला होता है जब

कि अन्य में प्ररोह तंत्र पूरी तरह बाहर को निकला होता है। कुछ सामान्य उदाहरण है *Sagittaria, Ranunculus, Cyperus* (चित्र 26.5)।



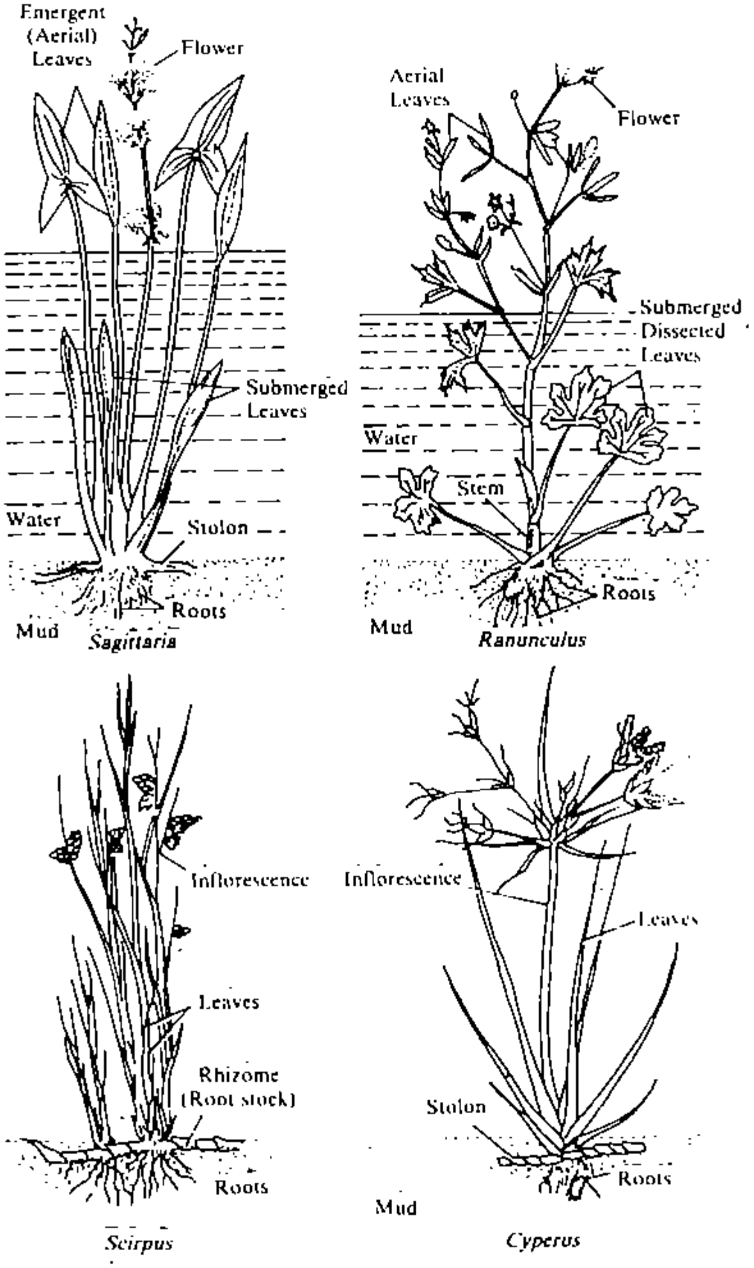
Ceratophyllum

चित्र 26.3 : जलमग्न प्लावी जलोद्भिद



Hydrilla *Potamogeton*

चित्र 26.4 : जड़ द्वारा स्थिर जलमग्न जलोद्भिद



चित्र 26.5 : जड़ स्थिर परन्तु पौधे जल से बाहर

तो आइए अब देखें कि जलोद्भिदो में परिस्थितिकीय अनुकूलन क्या–क्या होते है । यूं तो जलोद्भिदों के अधिसंख्य लक्षण समान होते हैं, फिर भी वे किसी न किसी पहलू में एक दूसरे से भिन्न भी होते हैं । हम उन सभी लक्षणों की चर्चा करेंगे जो इन पौधों को जलोद्भिद बनाने में सहायक होते हैं ।

26.3.1 आकारिकीय लक्षण

1. जड़े

जलोद्भिदों के परिवेश में भरपूर जल होता है, इसलिए जड़ों का महत्व गौण हो जाता है जिससे कि अधिसंख्य जलोद्भिदों में जड़े कम विकसित एवं छोटी होती हैं ।

i) जड़े या तो बिल्कुल ही नहीं होती या अल्पविकसित होती हैं जैसे *Wolffia, Salvinia*

में । मगर जो पानी में से बाहर को निकले पौधे होते है एवं जिनकी जड़े जिनमें स्पष्ट मूल गोप (root cap) बनी होती है ।

ii) मूल रोम (root hairs) या तो होते ही नहीं और यदि हुए तो अल्पविकिसित होते है ।

iii) मूल गोप प्रायः नहीं होते है, कुछ उदाहरणों में उनके स्थान पर मूल कोश (root pocket) होते है, जैसे कि *Eichhornia* में ।

iv) जड़े जब होती है तब प्रायः वे तंतुकी fibrous, अपस्थानिक (adventitious), कम लम्बी, अविशाखित अथवा अल्पविशाखित होती है ।

2. स्तंभ

i) जलमग्न उदाहरणों में स्तंभ लम्बा, पतला, स्पंजी तथा लचीला होता है । मुक्तप्लावी उदाहरणों में यह पतला हो सकता है, जल पर क्षैतिजतः तिरने वाला हो सकता है यह फिर मोटा, छोटा, स्टोलनधारी एवं स्पंजी हो सकता है । जड़युक्त एवं प्लावी पत्तियों के उदाहरणों में यह प्रकंद (rhizome) होता है ।

ii) जनन विधि प्रायः कायिक प्रचारण उपरिभूस्तारी (runners), भूस्तारी (stolon), स्तंभ एवं मूल कंदों (root tubers) शीर्षाग्रों, आफसेटों आदि से होता है । अधिसंख्य उदाहरण बहुवर्षी होते है ।

3. पत्तियां

i) जलमग्न उदाहरणों में पत्तियां पतली होती है और या तो वे लम्बी रिबन जैसी होती है जैसे कि *Vallisneria* में या लम्बी रेखीय अथवा सूक्ष्मतः चिरी हुई होती है जैसे *Potamogeton* में । प्लावी पत्तियां बड़ी, चपटी तथा संपूर्ण होती हैं जिनकी ऊपरी सतह पर मोम की परत होती है जैसे कि *Nymphaea* में, इनके पर्णवृंत लम्बे, लचीले और प्रायः श्लेष्म से मढ़े होते हैं । कुछ उदाहरणों में पर्णवृंत फूले हुए तथा स्पंजी होते है जैसे *Eichhornia* में ।

ii) जल स्तर से ऊपर उदाहरणों वाले पौधों में विषमपर्णता (heterophylly) पायी जाती है जिनमें जलमग्न, प्लावी तथा वायवीय—तीनों प्रकार की पत्तियां होती हैं जैसे *Ranunculus* में ।

iii) जलमग्न पत्तियां सामान्यतः पारभासी (translucent) होती हैं ।

4. फूल और बीज

जलमग्न उदाहरणों में फूल कम पाये जाते हैं । जिनमें फूल लगते भी हैं, उनमें बीज विरलतः ही बनते हैं ।

26.3.2 शारीरीय लक्षण

अब हम जलोद्भिदों के शरीरीय लक्षणों का अध्ययन करेंगे ।

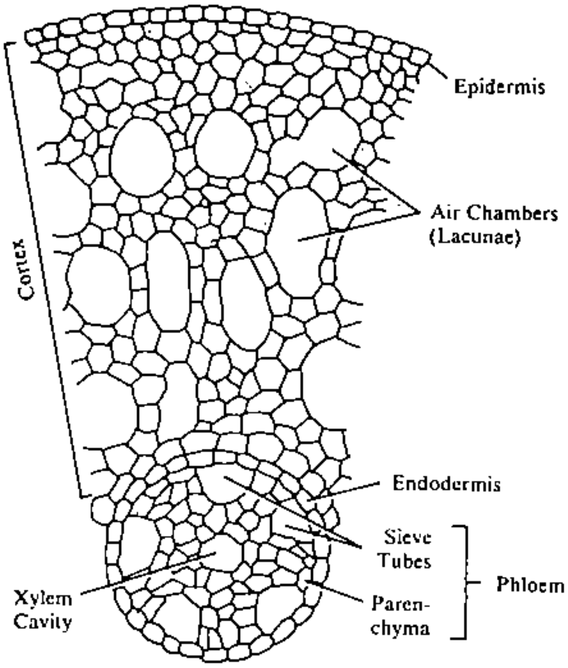
1. जड़ें

i) क्यूटिकल या बिल्कुल ही नहीं होती या होती भी है तो यह पतली तथा अल्पविकसित होती है ।

ii) एपिडर्मिस प्रायः एक परती होता है तथा पतली दीवारों वाली पैरेंकाइमी कोशिकाओं का बना होता है ।

iii) कॉर्टेक्स सुविकसित होता है, इसमें पतली दीवारें होती हैं तथा कोशिकाएं पैरेंकाइमी होती हैं । इसके अधिकतर भाग में सुविकसित बड़ी–बड़ी वायु गुहाएं होती हैं जिसे ऐरेंकाइमा (arenchyma) कहते हैं । यह ऐरेंकाइमा झुकने, मुड़ने या दबाव का प्रतिरोध करता है तथा उत्प्लावन को बढ़ाता है एवं इसके द्वारा गैस विनिमय तेजी से होता है ।

iv) दिए गए Potamogeton के चित्र में आप देख सकते हैं कि जलमग्न पौधों में संवहनी ऊतक कम विकसित हुआ है तथा सबसे कम विभेदित है । जाइलम वाहिकाएं सामान्यतः कम पायी जाती हैं तथा ट्रैकीडें होती है । तैरने वाले प्ररूपों में संवहनी ऊतक कम विकसित होता है जबकि जल से बाहर को निकले उदाहरणों में यह अधिक स्पष्ट एवं सुविकसित होता है (चित्र 26.6) ।

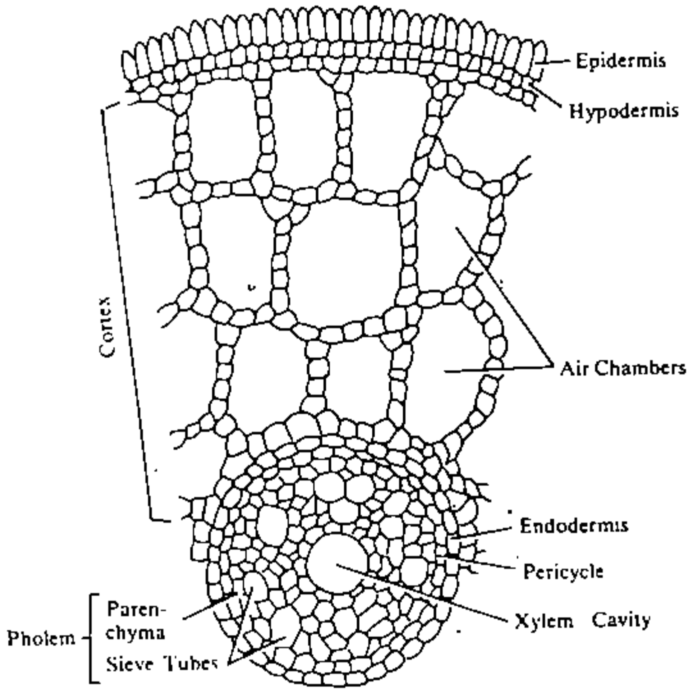


चित्र 26.6 : *Potamogeton pectinatus* (जलमग्न जलोद्भिद) की जड़ का T.S. ध्यान दीजिए कि मूलरोम तथा क्यूटिकल नहीं होते, अविभेदित चौड़ा कॉर्टेक्स होता है जिसमें वायु कोष्ठ होते हैं, संवहनी ऊतक कम विकसित होते हैं जिनमें मुख्यतः फ्लोएम होता है, यांत्रिकीय ऊतक नहीं होते ।

v) यांत्रिक ऊतक नहीं होता, बस अपवाद के रूप में कुछ जल से बाहर को निकले पौधों में होता है जिनमें पिथ वाला अंश स्क्लेरेंकाइमा कोशिकाओं का बना होता है ।

2. तना

हाइड्रिला के स्तंभ के T.S. (चित्र 26.7) में आप निम्न बातें देखेंगे ।



चित्र 26.7 : *हाइड्रिला* (जलमग्न जलोद्भिद) के स्तंभ का T.S. ध्यान दीजिए कि क्यूटिकल नहीं होती, एपिडर्मिस पतली दीवारों वाली होती है, कॉर्टेक्स अविभेदित तथा वायुकोष्ठों से युक्त होता है, पतली दिवार वाले तत्वों की बहुलता होती है, यांत्रिकीय ऊतक का अभाव होता है, संवहनी तत्व ह्रासित होते हैं जिनमें मुख्यतः फ्लोएम होता है, जाइलम केवल एक केंद्रीय गुहा के रूप में होता है।

i) क्यूटिकल कम विकसित होती है, या पतली होती है या बिल्कुल ही नही होती ।

ii) एपिडर्मिस एक परती होता है और पतली भित्तियों वाली पैरेंकाइमी कोशिकाओं की वनी होती है जवकि जल से बाहर को उभरे पौधों में क्यूटिकल और साथ में एपिडर्मिस भी प्रायः सुविकसित होते हैं जैसे *Typha*.

iii) प्लावी तथा बाहर को निकले उदाहरणों में आप देखेंगे कि हाइपोडर्मिस वना हो सकता है जिसमें पतली दीवारों वाला पैरेंकाइमा या कालेन्काइमा होता है । जलमग्न उदाहरणों में यह पूर्णतः अविद्यमान होता है ।

iv) कॉर्टेक्स सुविकसित होता है । कॉर्टेक्स का एक मुख्य लक्षण यह है कि यह पतली दीवारों वाली होती है और इसके पैरेंकाइमा में भरपूर वायु गुहाएं फैली होती है । कॉर्टेक्स की कोशिकाओं में अक्सर क्लोरोप्लास्ट होते हैं जिनमें प्रकाश-संश्लेषण होता है ।

v) एंडोडर्मिस स्पष्ट होता है, विशेषकर प्रकंद तथा ऐसे ही अंगों में ।

vi) सामान्यतः संवहनी वंडलों में बंडल आच्छद नहीं होते । संवहनी बंडल पतली दीवार वाले होते हैं । किन्तु जल से बाहर को निकले हुए पौधों में संवहनी तत्व अपेक्षाकृत सुविभेदित एवं सुविकसित होते हैं ।

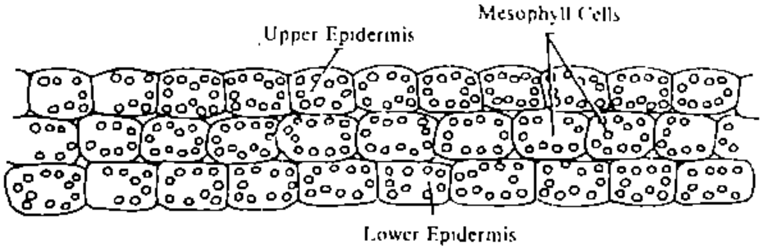
vii) यान्त्रिकीय ऊतक आम तौर से मौजूद नहीं होते ।

3. पत्तियां

आपको विभिन्न प्रकार की पादप पत्तियों के T.S. की स्लाइडें दी जाएंगी । इनमें आप नीचे दी गई विशेषताएं देख पायेंगे :

आप देखेंगे कि पत्तियों की भीतरी संरचना में विभिन्नता पायी जाती है मगर कुछ एक शारीरीय लक्षण ऐसे हैं जो अधिसंख्य पत्तियों में समान रूप में पाए जाते हैं । दिए गए अनुप्रस्थ सेक्शनों में आप देखेंगे कि

i) जलमग्न पौधों में जैसे कि *Potamogeton* में क्यूटिकल प्रायः अविद्यमान होती है लेकिन प्लावी उदाहरणों में यह कम विकसित होती एवं केवल ऊपरी सतह तक ही सीमित होती है जहां यह बहुत पतली होती है । जल से बाहर को निकले हुए उदाहरणों में भी क्यूटिकल पतली ही होती है (चित्र 26.8) ।



चित्र 26.8 : *Potamogeton pusillus* **(जलमग्न) की पत्ती (केवल पार्श्व पंखनुमा भाग दिखाया गया है) का** T.S. । **ध्यान दीजिए कि क्यूटिकल और स्टोमैटा (रंध्र) नहीं हैं, दो एपिडर्मिसी परतों के बीच में एकल परती अविभेदित मीज़ोफ़िल है ।**

i) एपिडर्मिस एकल परती होती है, यह पतली दीवारों वाली कोशिकाओं की बनी होती है तथा इनमें क्लोरोप्लास्ट भरपूर होते है ।

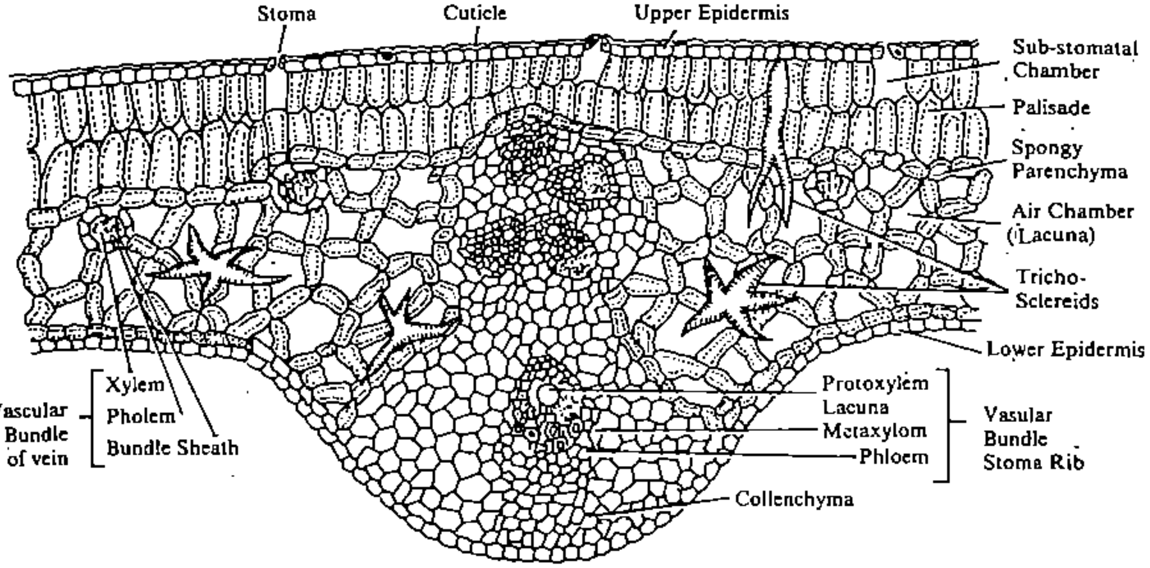
iii) स्टोमैटा जलमग्न पत्तियों में जैसे कि *Potamogeton* में पूर्णतः अविद्यमान होते हैं । प्लावी उदाहरणों में स्टोमैटा केवल ऊपरी सतह तक ही सीमित होते हैं जबकि पानी की सतह से ऊपर निकले हुए पौधों में प्रायः पत्तियों की दोनों सतहों पर पाये जाते हैं ।

iv) मीज़ोफ़िल निमग्न पत्तियों में अविभेदित होता है और प्रायः यह एकल परती होता है । मगर प्लावी पत्तियों में जैसे कि *Nymphaea* में मीज़ोफ़िल का विभेदन होकर पैलिसेड पैरेंकाइमा तथा स्पंजी पैरेंकाइमा बन जाते हैं । स्पंजी पैरेंकाइमा में सुविकसित वायु गुहाएं होती हैं । जल से बाहर को निकली हुई पत्तियों में भी वायु गुहाओं से युक्त सुविकसित मीज़ोफ़िल होता है (चित्र 26.9) ।

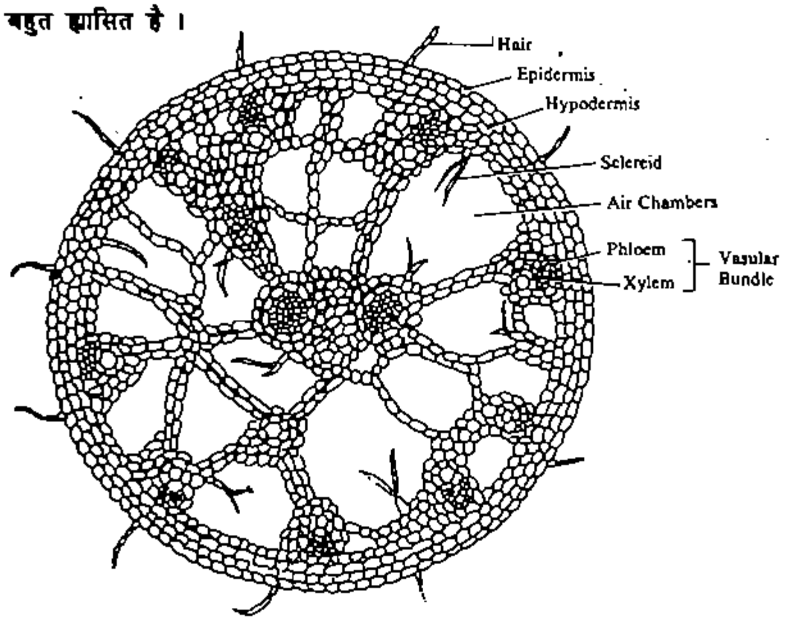
v) संवहनी ऊतक बहुत कम होते हैं और कभी-कभी उनमें ज़ाइलम तथा फ्लोएम में विभेदन देख पाना कठिन होता है जब भी यह ऊतक विभेदित होता है तब ज़ाइलम तत्व पतली दीवारों वाले होते हैं तथा फ्लोएम सुविकसित होता है जैसे कि *Nymphaea* में । मगर वायवीय पत्तियों में संवहनी तत्व अपेक्षाकृत सुविभेदित होते हैं जिनमे ज़ाइलम वाहिकाएं होती हैं ।

vi) यान्त्रिकीय ऊतक नहीं होते ।

vii) पर्णवृंत जहां भी पाए जाते है वे सुविकसित होते हैं और साथ ही उनमें भीतर वे सभी विभिन्न ऊतक पाए जाते हैं जो किसी भी एक प्रतिरूपी जलोद्भिद में होते हैं, अर्थात् ऐरेंकाइमा की बहुलता, पतली भित्तियों वाली कोशिकाएं, संवहनी ऊतकों में विभेदन का अभाव तथा लिग्नीकृत यान्त्रिक ऊतकों का न होना, जैसे कि *Nymphaea* में (चित्र 26.10) ।



चित्र 26.9 : *Nymphaea* (प्लावी पत्तियों वाला) की पत्ती का T.S. नोट कीजिए कि क्यूटिकल पतली है, स्टोमेटा केवल ऊपरी सतह तक ही सीमित है, एपिडर्मिस की कोशिकाएं पतली दीवारों वाली हैं, स्पंजी पैरेंकाइमा में वायु कोष्ठों की बहुलता है, यांत्रिकीय ऊतक अविद्यमान है (केवल ट्रैकीड होते हैं) वाहीकीय तत्व के फ्लोएम के रूप में है, जाइलम बहुत ह्रासित है ।



चित्र 26.10 : *Nymphaea* (प्लावी पत्तियों वाला) के पर्णवृंत का T.S. इसमें आप देखिए कि क्यूटिकल नहीं होती, एपिडर्मिस की कोशिकाएं पतली दीवारों वाली होती हैं, यांत्रिकीय ऊतक घट गया होता है और उसका प्रतिदर्श कॉलेन्काइमी हाइपोडर्मिस की कुछ थोड़ी सी ही परतों के रूप में होता है, ऐरेन्काइमा का बाहुल्य होता है । संवहनी तत्वों में फ्लोएम की बहुलता और जाइलम का प्रतिदर्श रिक्तिकाओं के रूप में होता है ।

26.4 समोद्भिद

समोद्भिद ऐसे पौधे होते हैं जो सामान्यतः उन आवासों में उगते हैं जहां जल की न तो कमी होती है और न ही बहुलता । ऐसे आवासों में मिट्टी में छिद्र गुहाओं में जल तथा मृदा–वायुमंडल लगभग बराबर–बराबर मात्रा में पाये जाते हैं । जल तथा गैसों की ऐसी दशा पादप वृद्धि के लिए बहुत उपयुक्त होती है और इसीलिए समोद्भिदी दशा वनों एवं फ़सली पौधों की वृद्धि के लिए सर्वोत्तम होती है । समोद्भिदों में किसी अनुकूलन की आवश्यकता

नहीं होती बशर्ते कि वह आवास किसी प्रकार से विशेष न हो । समोद्भिद ज्यादातर थल सतह पर ही पाए जाते हैं और गेहूं, मक्का, ज्वार, मटर, चना या गन्ना जैसी अधिसंख्य फसलें या घासीय मैदानों, दलदलों, उष्णकटिबंधीय एवं शीतोष्णकटिबंधीय जंगलों की विभिन्न स्पीशीज़ आदि सभी के सभी समोद्भिद होते हैं ।

आकारीकी-शारीरीय लक्षण

i) जड़-तंत्र सुविकसित होता है । जड़ें प्रायः विशाखित होती हैं तथा उनमें मूल गोप और मूल रोम दोनों ही होते हैं ।

ii) स्तंभ सामान्यतः वायवीय होते हैं, तथा वे ठोस एवं निर्बाध रूप में विशाखित होते हैं ।

iii) पत्तियां प्रायः बड़ी, चौड़ी, पतली और विभिन्न आकृतियों की होती हैं । ये पत्तियां अधिकांशतः क्षैतिजतः फैली होती है, वे हरी होती हैं और उन पर न तो रोमों का आवरण होता है और न ही मोमीया परत होती है ।

iv) सभी वायवीय भागों में क्यूटिकल साधारण रूप में विकसित होता है ।

v) एपिडर्मिस सुविकसित होती है और उस पर न तो रोम होते हैं और न ही मोमीया परत होती है, तथा कोशिकाओं में क्लोरोप्लास्ट होते हैं ।

vi) आप देख सकते हैं कि स्टोमैटा सामान्यतः पत्ती की दोनों सतहों पर होते हैं । द्वार-कोशिकाओं (guardcells) में अक्सर गति होती पायी जाती है ।

vii) पत्तियों में मीज़ोफ़िल पैलिसेड तथा स्पंजी दोनों पैरेंकाइमों में सुविभेदित होता है जिसमें अंतराकोशिक जगह होती है ।

viii) संवहनी ऊतक तथा यांत्रिकीय ऊतक दोनों ही सुविकसित तथ्य सुविभेदित होते हैं ।

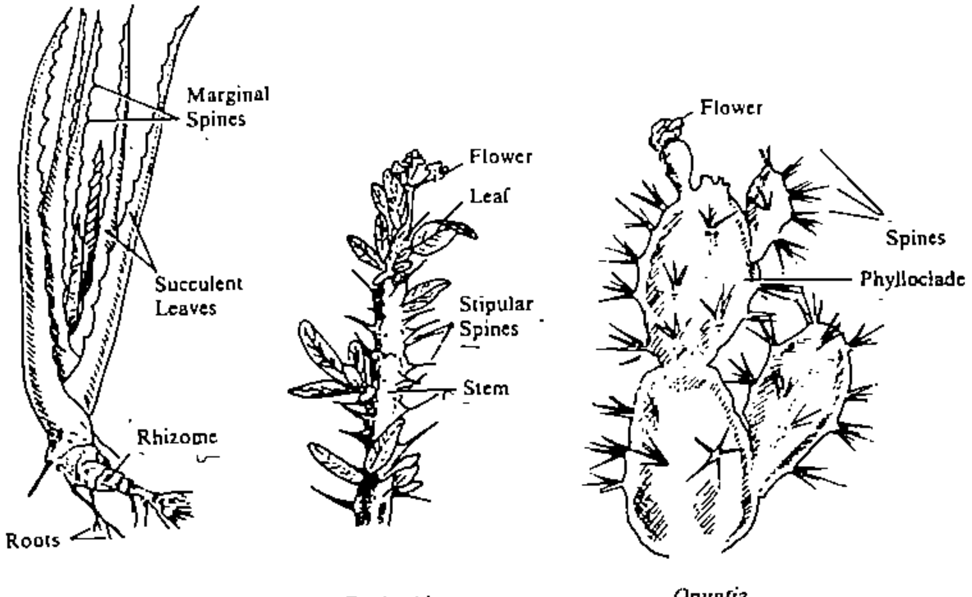
ix) दोपहर के समय ये अस्थायी रूप में मुरझाये हो सकते हैं ।

26.5 मरुद्भिद

मरुद्भिद की अनेक प्रकार से व्याख्याएं की गयी हैं । कभी-कभी उन्हें बस यूं ही मौटे तौर पर परिभाषित कर देते हैं कि ये शुष्क आवासों के पौधें हैं । एक वास्तविक पारिस्थितिकीय परिभाषा जो कि एक मात्रात्मक आधार के निकटतम हो सकती है वह यह है कि मरुद्भिद वे पौधे हैं जो एक ऐसे अधः स्तर पर उगते हैं जो एक सामान्य ऋतु में भी कम से कम 20–25 cm तक गुरुत्वीय धरती जल से काफी खाली रहता है । मरुद्भिदों के कुछ उदाहरण हैं – *Aloe, Euphorbia, Opuntia, Agave, Bryophyllum, Yucca, Tradescantia* (चित्र 26.11) ।

इसी प्रकार शुष्क क्षेत्रों में वे सभी पौधे मरुद्भिद माने जाते हैं जो नदियों और झीलों के किनारे-किनारे या उनके आसपास तक सीमित नहीं हैं जबकि भारी वर्षा वाले क्षेत्रों में इस श्रेणी के पौधे केवल वे ही माने जाएंगे जो रेतीली जमीन में उथली जड़ों वाले होते हैं, या वे जो सूखी पहाड़ियों पर पाए जाते हैं, या वे शैवाल, मॉसें या लाइकेन्स जो पेड़ों की छाल पर अथवा चट्टानों की सतहों पर उगते हैं ।

मरुद्भिदता की वास्तविक प्रकृति अभी तक ठीक से नहीं समझी जा सकी है । उदाहरण के लिए, यह निर्णय करना कठिन है कि क्या मरुद्भिद वास्तव में मरुरागी (Xerophilous) होते और केवल शुष्क आवासों में तथा रेगिस्तानों में पाए जाते हैं या कि ये मात्र सूखे के प्रतिरोधी होते हैं ।



चित्र 26.11 : गूदेदार मरुद्भिद

26.5.1 आकारिकीय लक्षण

1. जड़ें

जहां एक ओर जलोद्भिद पानी की बहुतायत की दशा में पनपते है वहां दूसरी ओर मरुद्भिद जलाभाव की दशा में पनपते है। मरुद्भिदों में जड़ों का मुख्य उद्देश्य जल प्राप्त करना है जो कम मात्रा में जमीन की गहरी परतों में पाया जाता है। पौधे के जीवित बने रहने में जड़तंत्र सर्वाधिक महत्व का अंग है और इसलिए वह बहुत अच्छी तरह विकसित होता है। जड़ों में निम्नलिखित विशेषताएं होती है :

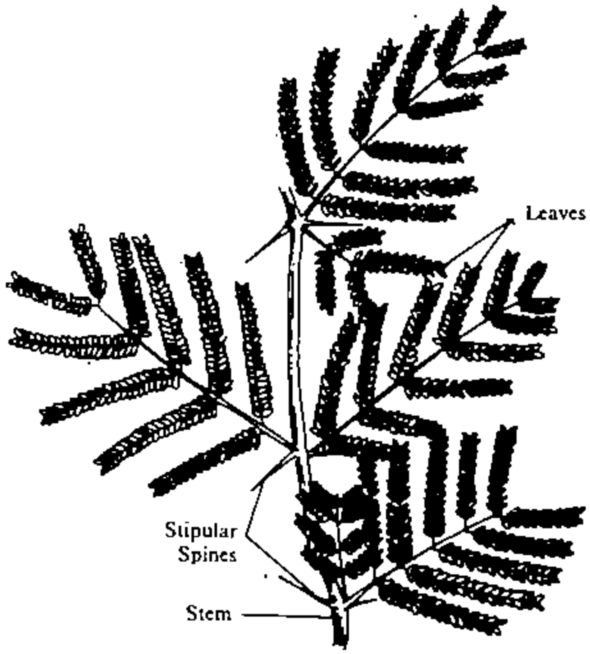
i) यह सुविकसित होता है तथा कुछ उदाहरणों में प्ररोह से कई गुना लम्बा होता है। जड़ें लम्बी और मूसला प्रकार की होती है जो बहुत ज्यादा विशाखित होकर बड़े चौड़े क्षेत्र में फैली होती है।

ii) मूल रोम तथा मूल गोप बहुत अच्छी तरह विकसित होते है।

2. स्तंभ

i) स्तंभों की वृद्धि अधिकतः छोटी रह जाती है, ये काष्ठीय, सूखे, कड़े, कटकयुक्त (ridged) और मोटी छाल से ढ़के होते है।

ii) कुछ में जैसे कि *Saccharum* में, स्तंभ अधःभूमिक होता है जब कि *Opunita* (चित्र 26.12) में यह मांसल, हरा तथा पत्ती सरीखा (फिल्लोक्लैड) को जाता है जिस पर कंटक बने होते है। *Euphorbia* (चित्र 26.12) में भी स्तंभ मांसल तथा हरा होता है।



चित्र 26.12 : गैर गुदादारी बहुवर्षी पौधे

iii) स्तंभों तथा पत्तियों पर आम तौर से रोम या साथ–साथ मोमीया आवरण भी होते हैं ।

3. पत्तियां

i) पत्तियां बहुत ज्याद ह्रासित, छोटी, शल्क के समान होती है जो केवल थोड़े से ही काल के लिए आती है । कभी–कभी ये कंटकों के रूप में रूपांतरित होती है । पर्ण फलक लम्वा संकरा अथवा सूई जैसा हो सकता है जैसे कि *Pinus* में या अनेक पर्णकों में विभाजित हुआ होता है जैसे *Acacia* (चित्र 26.12) में ।

ii) जव वास्तविक पत्तियां होती है तव वे मोटी, मांसल तथा गुदेदार होती हैं या कड़ी और चमड़े की तरह होती है ।

iii) पत्ती की सतह अधिकतर चिकनी और चमकीली होती है जिससे प्रकाश तथा गर्मी परावर्तित हो सके ।

iv) कुछ स्पीशीज में पत्तियां बीच में से मुड़ जाती अथवा गोल–गोल इस प्रकार लिपट जाती है कि उनके गहरे गढ़ों में वने स्टोमैटा भीतर को छिप जाते है जिससे वाष्पोत्सर्जन की दर न्यूनतम हो जाती है ।

26.5.2 शारीरीय लक्षण

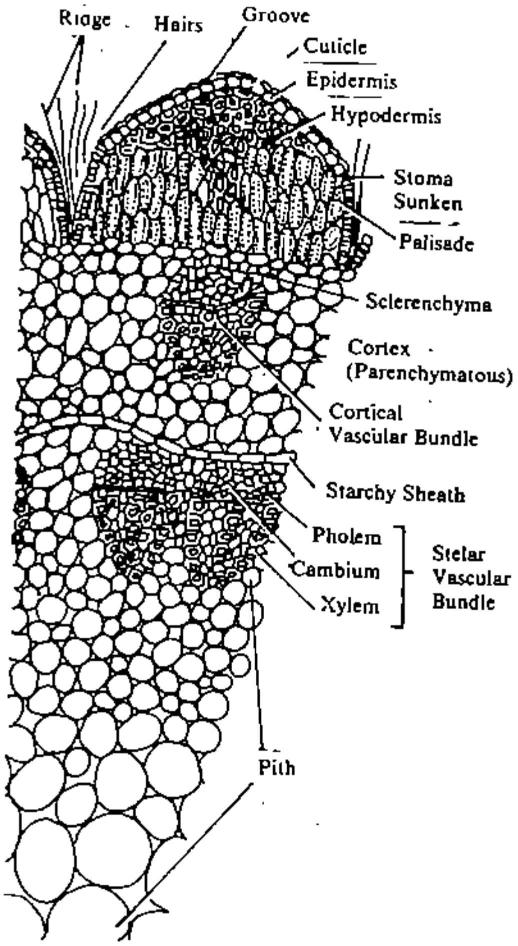
1. जड़े

i) मूल रोम तथा मूल गोप सुविकसित होते हैं । *Opuntia* में मूल रोम, मूल गोप पर भी वन जाते हैं ।

ii) *Asparagus* में जड़े मांसल वन जाती है जिनमें जल संचित हो जाता है ।

2. स्तंभ

i) गूदेदार मांसल मरुद्भिदों में जैसे कि *Casuarina* में निम्नलिखित मुख्य लक्षण पाए जाते हैं (चित्र 26.13) ।



चित्र 26.13 : *Casuarina* के स्तंभ (एक अंश) का T.S.। नोट कीजिए कि मोटी क्यूटिकल है, भीतर को गड़े स्टोमेटा खांचों में है केवल खांचों में ही रोम हैं, स्कलेरेंकाइ हाइपोडर्मिस है, अधः हाइपोडर्मिसी कॉर्टेक्स में हरा पैलिसेड क्षेत्र है, सुविकसित संवह ऊतक है तथा यांत्रिकीय ऊतक भी है।

क) क्यूटिकल बहुत मोटी होती है।

ख) एपिडर्मिस सुविकसित होती है और जिसकी बहुत मोटी-कोशिका भित्तियां होती हैं।

ग) हाइपोडर्मिस बहुपरती तथा स्कलेरेंकाइमी होती है।

घ) स्टोमैटा भीतर को गड़े होते हैं।

ङ) संवहनी ऊतक भली-भांति विकसित होते हैं, वे विभेदित होते हैं तथा उनमें लिग्निन अधिक जमा हुआ होता है। संवहनी बंडलों में सुविकसित बहुपरती बंडल आच्छद होते हैं।

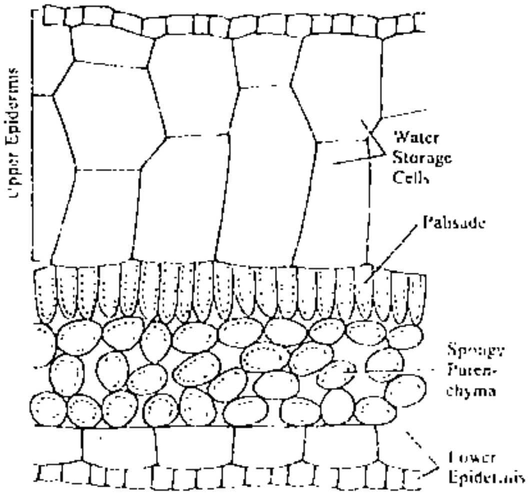
च) यांत्रिकीय ऊतक बहुत भली-भांति विकसित होते हैं।

i) छाल सुविकसित होती है।

ii) तेल तथा रेजिन अक्सर पाए जाते हैं।

3. पत्तियां

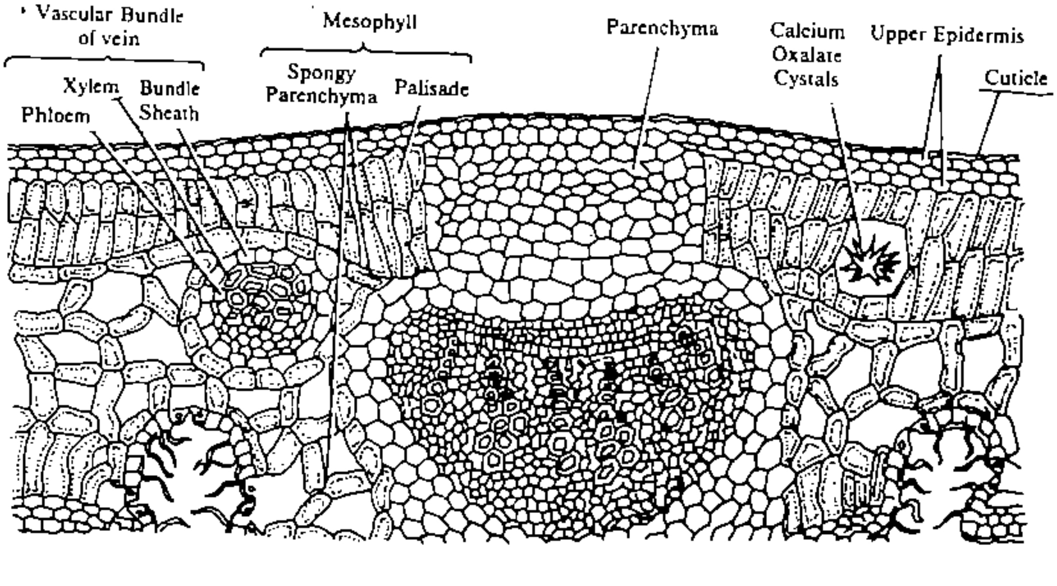
i) मृदुपर्णी (malacophyllous) मरूद्भिदों में जैसे कि *Peperomea* में पत्तियों की एपिडर्मिसी कोशिकाएं जल संचयी अंगों का कार्य करती हैं (चित्र 26.14)।



त्र 26.14 : Peperomia (एक गूदेदार पौधे) की पत्ती (केवल पार्श्व पंख क्षेत्र) का T.S. जिसमें एपिडर्मिसी जल संचयी ऊतक दिखाए गए है । नोट कीजिए कि एपिडर्मिस (विशेषतः ऊपर की दिशा की) बहुपरती है, जिसकी भीतरी परतों में काफी बड़ी पतली दीवारों वाली कोशिकाएं होती है जो पानी में संचय का कार्य करती है ।

ी प्रकार *Aloe* की गूदेदार पत्तियों के मीज़ोफ़िल में वहुत की सुव्यक्त जल संचयी क्षेत्र ये जाते है । क्यूटिकल बहुत मोटी होती है तथा एपिडर्मिस की कोशिकाओं की वाहरी त्तियों में वहुत ज्यादा क्यूटिन तथा सेलुलोज़ जमा हो गए होते हैं ।

गैर–गूदेदार मरुद्‌भिदों में, जैसे कि *Nerium* (चित्र 26.15) तथा *Pinus* में निम्नलिखित लक्षण पाए जाते है :



26.15 : Nerium की पत्ती का T.S. (गैर गूदेदार बहुवर्षी). देखिये मोटी क्यूटिकल दोनों सतहों पर पायी जाती है । एपिडर्मिस बहुपंक्तिक, भीतर को गढ़े हुये स्टोमेटा, जो स्टोमेटल गढ़ों में, केवल निचली एपिडर्मिस पर स्थित होते है । मिज़ोफिल विकसित एव पैलिसेड् दोनों तरफ होते है पर अभ्यक्ष सतह पर ज्यादा होते है संहवनी ऊतक विकसित है ।

क) क्यूटिकल मोटी और सुविकसित होती है ।

ख) *Nerium* में एपिडर्मिस बहुपरती होती है तथा *Pinus* में हाइपोडर्मिस में कई परतें होती हैं ।

ग) मीज़ोफ़िल में पैलिसेड तथा स्पंजी पैरेंकाइमा सुविभेदित होते हैं ।

घ) स्टोमैटा भीतर को गड़े प्रकार के होते हैं जो केवल निचली एपिडर्मिस तक ही सीमित होते हैं । कुछ मरूद्भिदों में जैसे कि *Nerium* (चित्र 26.15) में स्टोमैटा गढ़ों में बने होते हैं और उनमें एक रोमयुक्त अस्तर सावना होता है ।

ङ.) संवहनी ऊतक बहुत अच्छी तरह विकसित होते हैं और उनमें एक तो लिग्निनयुक्त तत्वों से युक्त जाइलम तथा फ्लोएम में विभेदन हुआ होता है ।

च) यांत्रिकीय ऊतक सुविकसित होते हैं जिनमें अनेक प्रकार के स्कलेरीड भी शामिल हैं ।

इस अभ्यास में जलोद्भिदों, समाद्भिदों तथा मरुद्भिदों के कुछ उदाहरणों का वर्णन किया गया है । नानाविध आकारिकीय तथा शारीरीय लक्षणों का विस्तार से वर्णन किया गया है । अब दिए जा रहे वर्णन का अध्ययन करके आपको कुछ अज्ञात नमूनों का वर्गीकरण करना है ।

26.6 बोध प्रश्न

1. आपको एक जलोद्भिद पौधा दिया गया है । पौधे की पत्तियों का अध्ययन कीजिए । बताइए कि इस पौधे की सूक्ष्म रूप में चिरी-चिरी (finely dissected) पत्तियों की दशा से पौधे को क्या लाभ है ?

....

....

....

....

....

....

....

....

2. आपको एक निर्मित स्लाइड दी गई है, आप पत्ती के अनुप्रस्थ सेक्शन की इस स्लाइड का अध्ययन कीजिए । एक आरेख बनाइए तथा बड़ी-बड़ी वायु गुहाओं को दिखाइए ये वायु गुहाएं पौधे के जलीय आवास में किन कई तरीकों से लाभकारी हो सकती हैं उनकी सूची बनाइए ।

....

....

....

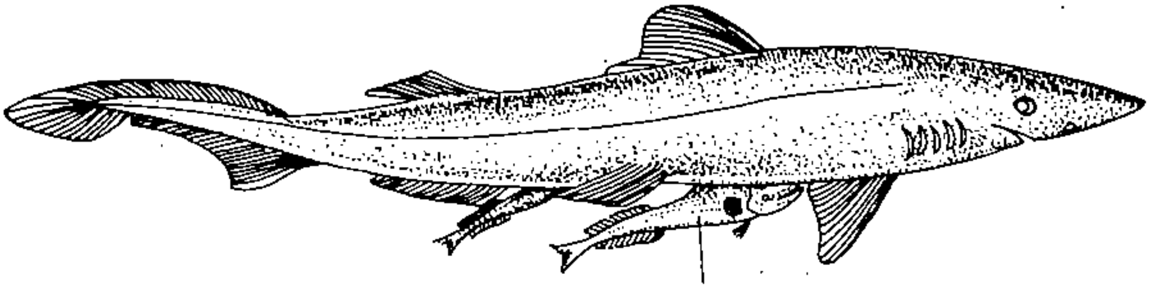
....

चरण 2 : *एन्टअमीबा जिनजीवैलिस* की एक अस्थायी स्लाइड बनाइए । स्लाइड बनाने के लिए आप पहले कांच की स्लाइड पर एक बूंद 0.9% NaCl की डाल लीजिए । सावधानी से टूथपिक को दांत की जड़ में मसूड़ों में डालते हुए कुछ पदार्थ निकाल लीजिए । इस पदार्थ को लवण घोल (सेलाइन) की बूंद में ले आइए । इस पर कवर स्लिप लगाइए तथा माइक्रोस्कोप के नीचे देखिए । अपेक्षाकृत बड़े आकार की कोशिकाओं को देखिए जो गतिशील होती है और उनमें कुटपादाम होते हैं । ध्यान दीजिए कि *एन्टअमीबा जिनजीवैलिस* नामक ये प्रोटोज़ोअन स्थायी स्लाइड में तथा अस्थायी स्लाइड में कितने भिन्न नजर आते हैं ।

2. चूषक मछली ***(एकीनीस)***

चूषक मछली एक बाह्य सहभोजी है जो पृष्ठ दिशा पर बने एक चूषक द्वारा बड़ी मछलियों, खासकर शार्कों के शरीर से चिपक जाया करती हैं । इस चिपकने के कारण इस चूषक मछली को अपनी " सवारी मछली ", के माध्यम से जहां तहां ले जायी जाने का लाभ मिलता है ।

चरण 1 : चूषक मछली के नमूने को चित्र 27.5 की सहायता से देखिए और समझिए । इस मछली के पृष्ठ चूषक का स्थान देखिए, यह चूषक रूपांतरित पृष्ठ फिन (fin) है ।



चित्र 27.5 : शार्क मछली जिसके ऊपर चूषक मछली तथा पाइलट मछली लगी हुई है ।

चरण 2 : चूषक की चूषण डिस्क को ध्यानपूर्वक देखिए । चूषक का वर्णन कीजिए और एक स्वच्छ आरेख बनाइए, तथा चित्र 27.6 से इसकी तुलना कीजिए ।

चित्र 27.6 : चूषक मछली की चूषक डिस्क का आरेख ।

27.5 परजीविता

जैसा कि हम पहले ही परिभाषा दे चुके हैं कि परजीविता दो जीवों के बीच एक ऐसा संबंध है जिसमें एक जीव को दूसरे की हानि के आधार पर लाभ प्राप्त करता है । इस साहचर्य में परजीवी या तो अपने परपोषी के शरीर की बाहरी सतह पर रहता है

वाह्यपरजीवी (ectoparasite), या परपोषी के शरीर के भीतर रहता है- अंतः परजीवी (endoparasite), परजीवी को अपने परपोषी से आहार और आश्रय दोनों ही मिलते हैं।

परपोषी-परजीवी संबंधों के अनेक उदाहरण पाए जाते है। ऐसे हर संबंध में परपोषी पर निर्भर करते हुए कि परजीवी किस स्थान पर रहता है तथा उसका आहार क्या है, परजीवी में पर्याप्त अनुकूलन विकसित हुए हैं। आइए, परजीविता के कुछ उदाहरण देखें।

1. पादप परजीवी

अमरवेल *(कस्कुटा)* पौधों पर परजीवी होती है।

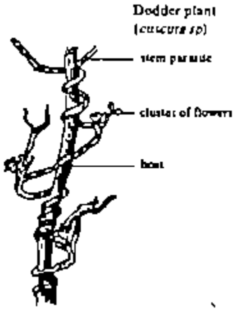
2. प्राणि परजीवी

i) मनुष्य की सिर की जूं *(पेडिकुलस ह्युमैनस)* जो मनुष्यों के सिर पर पायी जाती हैं।

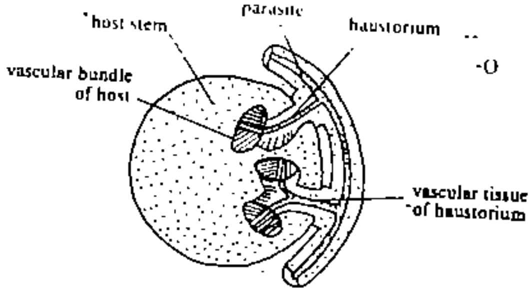
ii) फीता कृमि, *(टीनिया सोलियम)* जो मनुष्यों की छोटी आंत में पाया जाता है।

1. पादप परजीवी

अमर बेल एक अन्य पौधे के ऊपर परजीवी है, जैसा कि आप चित्र 27.7 तथा 27.8 में देख सकते हैं।



चित्र 27.7 : अमर बेल का पौधा।



चित्र 27.8 : अमर बेल के पौधे तथा उसके परपोषी, दोनों का एक निकट संपर्क में अनुप्रस्थ सेक्शन (T.S)। गौर कीजिए कि परजीवी के हॉस्टोरियमों का संवहनी ऊतक परपोषी के साथ कितना निकट का संबंध बनाए हुए है।

चरण 1 : आपको जो अमर वेल का पौधा आपके परामर्शदाता ने दिया है उसका अध्ययन चित्र 27.7 की सहायता से कीजिए। क्या आप अमर वेल के पौधे पर कोई पत्तियां लगी हुई देख पा रहे है।

....

चरण 2 : यदि हां तो बताइए कि पत्तियों का रंग क्या है ?

मरुद्‌भिदीय अनुकूलन

मरुद्‌भिदों में ऐसे अनेक अनुकूलनों का विकास हुआ है जो पौधे के निर्जलीकरण को रोकते हैं। आपको मरुद्‌भिद पौधों की कुछ स्लाइडें दी गई हैं इनका आप ध्यानपूर्वक अध्ययन कीजिए तथा निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दीजिए।

1. चीड़ की पत्ती के अनुप्रस्थ सेक्शनों का अध्ययन कीजिए तथा उनमें स्टोमैटा को देखिए। एक पूरे पेज का आरेख बनाइए। स्टोमैटा की यह स्थिति वाष्पोत्सर्जन दर को किस प्रकार कम करती है।

....

....

....

....

2. मरुद्‌भिद पौधे की निर्मित में क्यूटिन नामक मोमीया पदार्थ दिखाइ पड़ता है। इसके अतिरिक्त एपिडर्मिस की कोशिकाओं में लिग्निन भी जमा हुआ होता है। यह लक्षण पौधों से जल की हानि को किस प्रकार कम करता है, समझाइए।

....

....

....

....

3. कुछ मरुद्‌भिद पौधों में पत्तियां मांसल होती हैं, कुछ में उनके स्तंभ मांसल होते हैं। आप दिए गए पौधे में गूदेदार स्तंभ पर पत्तियों के अभाव अथवा उनकी संख्या कम होने पर गौर कीजिए। इन पौधों में प्रमुख प्रकाश संश्लेषी अंग क्या है ?

....

....

....

....

....

....

4. आपको एक गूदेदार पत्ती दी गई है । उसका T.S. तैयार करके माइक्रोस्कोप में देखें आपको कौन-कौन से मरुद्भिद लक्षण नज़र आते हैं उनका आरेखित चित्र बनाते हुये सावधानीपूर्वक वर्णन कीजिए ।

....

....

....

....

....

....

....

....

5. आपको छः विभिन्न पौधे दिये गये है । उनके लक्षण दी गई सारणी में लिखिये । लक्ष लिखने के बाद उनके आवास का निर्णय किजिये ।

....

....

सारणी 1 – लक्षण

पौधा	वायु कोष्ठक	यांत्रिक ऊतक	पत्तियों में रूपांतरण (स्टोमैटा, मोटर सेल अन्य)	संवहन ऊतक	जल संचयी ऊतक	आवास मरुद्भिद अथवा जलोद्भिद पौधों के विकल्प का आधार का कारण

प्रयोग 27 प्राणियों तथा पौधों के परस्पर संबंधों का अध्ययन

रूपरेखा

27.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

27.2 आवश्यक सामग्री

27.3 सहोपकारिता

27.4 सहभोजिता

27.5 परजीविता

27.6 परभक्षी संबंध

27.1 प्रस्तावना

किसी भी आवास में रहने वाले जीवों में अनुकूलन विकसित हो गए होते हैं जो उन जीवों को उनके अपने विशिष्ट पर्यावरण में जीवित बनाए रखने को सुनिश्चित कर देते हैं। किंतु यदि उन्हें एक विल्कुल ही भिन्न परिस्थितिकीय स्थिति में रहना पड़े तो उनमें पूर्णतः भिन्न अनुकूलनों की आवश्यकता होगी। उदाहरण के लि0, जब कि नीमैटोड (सूत्रकृमि) लगभग हर प्रकार के परिस्थितिकीय निच (निकेत) में पाए जाते हैं, ऐसे भी सूत्रकृमि है जो झील के पास के पौधों की जड़ों के भीतर अथवा जड़ों के निकट रहते हैं वे कदाचित न तो किसी रेगिस्तान के केक्टसो की जड़ों में रहने के लिये अपने को अनुकूल कर पाएं हैं और न ही किसी देवदार के जंगल में या किसी घास–मैदान में रहने के लिये अनुकूल कर पाए हैं, हालांकि इन सभी निकेत में कुछ अन्य सूत्रकृमी रहते हैं।

साथ ही यह भी होता है कि किसी एक विशिष्ट आवास में रहने वाले जीवों को उस विशेष पर्यावरण में रहने वाले अन्य जीवों के प्रति अनुकूलित होना और उनके साथ साहचर्य भी बनाना पड़ता है।

कुछ जीवों में इस प्रकार के साहचर्य उनके अस्तित्व के लिए लगभग अनिवार्य हो जाते हैं और इस तरह साहचर्य बनाए हुए जीव प्रायः सदैव एक दूसरे के साथ रहते हैं। ऐसे किसी भी साहचर्य में एक साथ की समष्टि में होने वाली वृद्धि अथवा कमी से दूसरे साथी की समष्टि में भी वृद्धि अथवा कमी आ जाती है।

जीवधारियों में पाया जाने वाला साहचर्य दो प्रकार का हो सकता है, एक तो वह जो एक ही स्पीशीज़ (जाति) की दो व्यष्टियों के बीच पाया जाता है (अंतः आंतरजातीय–साहचर्य) दूसरा जो विभन्न स्पीशीज़ की व्यष्टियों के बीच पाया जाता है (अंतः अंतरजातीय–साहचर्य)। उन अंतः अंतरजातीय स्पीशीज़–साहचर्य को हम इस प्रयोगशाला अभ्यास में नहीं लेंगे जो सामाजिक संघटना के आधार होते हैं जैसे कि मधुमक्खियों अथवा दीमकों में पाए जाने वाले अंतः स्पीशीज़ साहचर्य। हम केवल अंतरास्पीशीज़ साहचर्यों का अध्ययन करेंगे और उसमें हम पौधों एवं प्राणियों दोनों से ही उदाहरण लेंगे।

अंतरास्पीशीज़ (अंतरजातीय) साहचर्यों को " सहजीवन " (symbiosis) की संज्ञा दी जाती है। अंग्रेजी शब्द में Symbiosis ग्रीक भाषा से प्राप्त किया गया है जिसका अर्थ है " साथ–साथ रहना "। सहजीवी संबंध चार श्रेणियों में विभाजित किये जा सकते हैं :

1. सहोपकारिता (Mutualism)

2. सहभोजिता (Commensalism)
3. परजीविता (Parasitism)
4. परभक्षण (Predation)

हम इनमें से प्रत्येक के विशिष्ट उदाहरणों को लेकर अध्ययन करेंगे ।

अभ्यास करने से पूर्व हम खास–खास अंतराजाति साहचर्य की परिभाषा आप की याद ताज़ा करने के लिए नीचे दे रहे हैं ।

1. सहोपकारिता (Mutualism)—दो जीवधारियों के बीच पाया जाने वाला ऐसा संबंध जिसमें दोनों साथ लाभान्वित होते है ।
2. सहभोजिता (Commensalism)—दो जीवों के बीच यह साहचर्य में एक जीव जिसे सहभोजी कहेंगे लाभान्वित होता है जबकि दूसरे जीव को न तो लाभ पहुँचता है और न ही हानि होती है ।
3. परजीविता (Parasitism)—इस साहचर्य में एक जीव जिसे परजीवी कहेंगे दूसरे जीव (परपोषी) को क्षति पहुंचा कर अपना भला करता है ।
4. परभक्षण (Predation)—यह वह साहचर्य है जिसमें एक स्वच्छंद जीवधारी जिसे परभक्षी कहेंगे दूसरे जीवधारी को मार कर खा जाता है । परभक्षण परजीविता से इस बात में भिन्न होता है कि परजीवी तो अपने परपोषी के शरीर के ऊपर अथवा उसके शरीर के भीतर रह कर पोषण करता है, मगर परपोषी को मारता नहीं है, जबकि परभक्षी अपने शिकार को मारता तथा नष्ट कर देता है ।

उद्देश्य

इस अभ्यास को करने के बाद आप :

- आंतराजातिय तथा अंतराजातिय साहचर्यं की परिभाषा दे सकें
- उदाहरण देकर चारों साहचर्यं अर्थात् सहोपकारिता, सहभोजिता, परजीविता एवं परभक्षण की परिभाषा तथा वर्णन कर सकेंगें
- जीवधारियों की स्लाइडों, उनके नमूनों तथा उनके मॉडलों को देखकर उनका अध्ययन कर सकेंगे
- जीवधारियों की बाहरी तथा भीतरी संरचनाओं को देखकर उनके सही–सही आरेख बना सकेंगे
- अस्थायी स्लाइडों को बना सकेंगे

27.2 आवश्यक सामग्री

परिरक्षित	: *टीनिया सोलियम (Taenia solium)*, फीताकृमि (Tapeworm) अमरबेल (Dodder-plant) (पादप स्तंभ पर परजीवी)
पादप माऊंट अथवा परिरक्षित	: लाइकेन (lichen) के प्रतिरूप
स्लाइडें	: लाइकेन के थैलस का T.S.

: लकड़ी खाने वाली दीमकें *ट्राइकोनिम्फ़ा* *(Trichonympha)* तथा *पाइरोसोनिम्फ़ा* *(Pyrsonympha)*

एंटअमीबा जिनजीवैलिस *(Entamoeba gingivalis)*

अमरबेल तथा उसके परपोषी के बीच के साहचर्य का T.S.

टीनिया सोलियम का स्कोलेक्स तथा परिपक्व गर्भित प्रोग्लौटिड

पोडिकुलस ह्युमैनस *(Pediculus humanus)* मानव के सिर की जूं

नमूने/मॉडल : चूषक मछली अथवा सकर फिश *एकीनिस* *(Echeneis)*

ड्रोसेरा पादप *(Drosera)* " सन डयू " पादप

अन्य सामग्री : 0.9% NaCl

स्लाइडें तथा कवरस्लिप

पाश्चर पिपेट

टूथपिक

27.3 सहोपकारिता

सहोपकारिता दो जीवों के बीच का ऐसा संवध है जिसमें दोनों जीवों को लाभ पहुचंता है। सहोपकारिता में हमने दो उदाहरण लिए हैं :

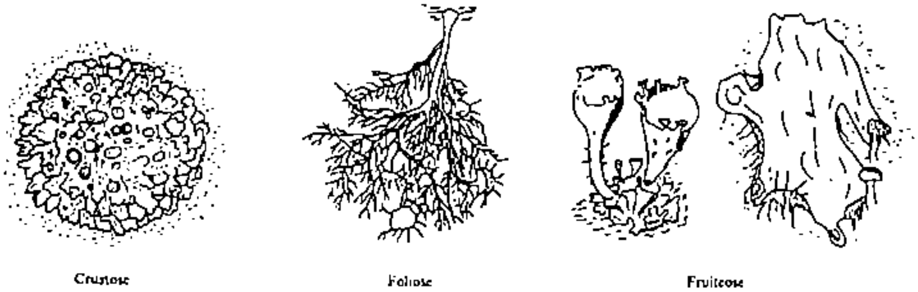
1. लाइकेन—जो एक कवक एवं शैवाल के बीच का साहचर्य है।
2. लकड़ी खाने वाली दीमकें तथा लकड़ी पचाने वाले कशाभी फ्लैजेलायुक्त प्रोटोज़ोआ जो दीमकों के आहार नाल में रहते हैं।

1) लाइकेन

लाइकेन, एक कवक तथा एक शैवाल के अतिनिकत सहचर्य से वनते हैं। लाइकेन अलग अलग आकृतियों के होते हैं : क्रस्टोज़ (crustose)—अधः स्तर से चिपके हुए, फ़ोलियोज़ (foliose) - पत्ती जैसी पालियां, अथवा फ्रूटीकोज़ (fruticose)- सीधी अथवा निलंवित शाखित संरचनाए।

चरण 1 : लाइकेनों के रंग तथा उनके आकारकीय स्वरूपों को ध्यान से देखिए तथा अपनी प्रेक्षण नोटवुक में उनके आरेखीय चित्र बनाइए।

चरण 2 : चित्र 27.1 में दिए गए आरेखों से अपने आरेखों की तुलना कीजिए।



चित्र 27.1 । तीन प्रकार के लाइकेन — लाइकेनों का निर्माण एक शैवाल तथा एक कवक के बीच सहोपकारिता के संबंध द्वारा होता है।

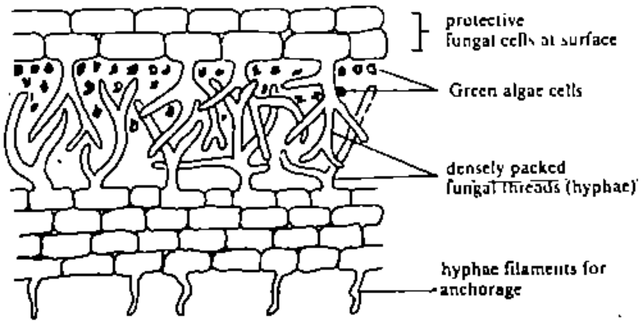
चरण 3 : लाइकेन को देखकर क्या आप इसमें साहचर्य के दोनों सदस्यों को देख सकते हैं ?

....

चरण 4 : आपके विचार में कौन सदस्य अधिक स्पष्ट है ?

....

चरण 5 : अपने परामर्शदाता से लाइकेन के T.S की एक निर्मित स्लाइड प्राप्त कीजिए और उसे माइक्रोस्कोप में देखिए। लाइकेन के थैलस के भीतर हाइफ़ा तथा शैवाल कोशिकाओं के बीच के निकट साहचर्य को गौर से देखिए तथा चित्र 27.2 से उसकी तुलना कीजिए।



चित्र 27.2 : एक लाइकेन का अनुप्रस्थ सेक्शन (T.S) जिसमें कवक हाइफ़ों के बीचों-बीच शैवाल कोशिकाएं दिखाई पड़ रही हैं। लाइकेन को आकृति कवक प्रदान करता है।

चरण 6 : स्लाइड को देखकर क्या आप वता सकते हैं कि इन दोनों साथियों में कौन सा सदस्य ऑक्सीजन तथा कार्वनिक आहार प्रदान करता है तथा कौन सा सदस्य अधःस्तर से चिपके होने, अकार्वनिक आहार प्रदान करने तथा सूखने से सुरक्षा प्रदान करने का कार्य करता है ?

....

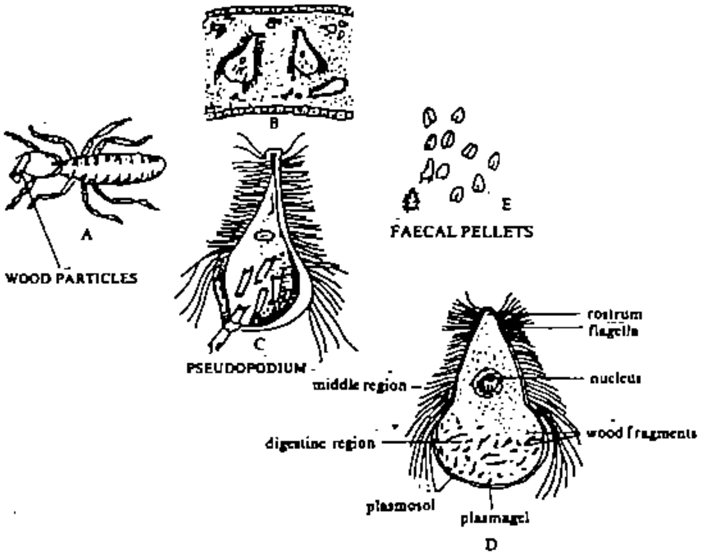
....

2. लकड़ी खाने वाली दीमकें .फ्लैजेलायुक्त प्रोटोज़ोअन

सहोपकारिता का एक अन्य उदाहरण है लकड़ी खाने वाली दीमकों तथा कुछ विशेष फ्लैजेलायुक्त प्रोटोजोआ के बीच का संबंध। लकड़ी खाने वाली दीमकों में, लकड़ी के सेलुलोज़ (cellulose) को पचाने वाला एंज़ाइम सेलुलेज़ (cellulase) नहीं पाया जाता। दीमकों के आहार नाल में *ट्राईकोनिम्फ़ा* तथा *पाइरोसीनिम्फ़ा* जैसे .फ्लैजेलायुक्त प्रोटोज़ोआ पाए जाते हैं जो सेलुलेज़ का दीमक की आहार नाल में स्राव छोड़ते हैं जिससे सेलुलोज़ का पाचन होता है। इसके वदले में प्रोटोजोअनों को रहने के लिए एक सुरक्षित स्थान मिल जाता है (चित्र 27.3)।

चरण 1 : दीमक के दिए गए नमूनों को विच्छेदन माइक्रोस्कोप के नीचे देखिए तथा चित्र 27.3 से उसकी तुलना कीजिए।

चरण 2 : परामर्शदाता द्वारा दी गई ट्राइकोनिम्फा अथवा *पाइरोसीनिम्फ़ा* .फ्लैजेलेट प्रोटोज़ोआ की स्लाइड को माइक्रोस्कोप में देखिए तथा उसका आरेख बनाइए।



चित्र 27.3 : दीमक तथा ट्राइकोनिम्फा के बीच की सहोपकारिता कर्मी दीमक, लकड़ी को खाती हुई । B. दीमक की आंत्र का T.S. जिसमें ट्राइकोनिम्फा दिखाई पड़ रहे हैं । C. ट्राइकोनिम्फा का आवर्धित दृश्य । D. एक ट्राइकोनिम्फा का दृक सेक्शन, E. विष्ठा ।

27.4 सहभोजिता

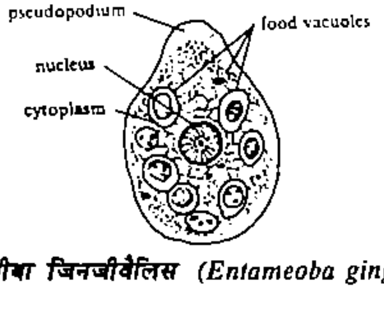
सहभोजिता वह संबंध है जिसमें इस साहचर्य का एक सदस्य लाभ प्राप्त करता है, यह लाभ मुख्यतः परिवहन अथवा आश्रय के रूप में मिलता है तथा दूसरे सदस्य को न तो लाभ पहुंचाता है और न ही हानि । सहभोजिता में हम दो उदाहरण लेंगे ।

1. मनुष्यों के मुंह में पाया जाने वाला प्रोटोजोअन– *एन्टएमीबा जिनजीवैलिस*
2. चूषक मछली जो प्रायः शार्क जैसी बड़ी मछलियों की देह पर चिपक कर सवारी करते हैं ।

1. *एन्टअमीबा जिनजीवैलिस*

यह मनुष्यों के मसड़ो में अक्सर पाया जाने वाला एक स्थाई अंतः सहभोजी है । यहां इसे आश्रय भी मिलता है और भोजन भी । यह प्रायः उन लोगों के मुंह में पाया जाता है जिनमें मसूड़ो में रोग होता है, हालांकि रोग इससे पैदा नहीं होता, रोग तो बैक्टीरिया (जीवाणु) से होता है ।

चरण 1 : परामर्शदाता से *एन्टअमीबा जिनजीवैलिस* की स्लाइड लेकर उसे माइक्रोस्कोप में निम्न आवर्धन पर कम रोशनी में देखिए । क्या आप केंद्रक तथा धानियों को देख सकते हैं (चित्र 27.4) ।



चित्र 27.4 : *एन्टअमीबा जिनजीवैलिस (Entameoba gingivalis)*

....

....

....

....

3. जल में से जलोद्भिद पौधा निकालिए, देखिए कि वह कितना शिथिल (*flaccid*) हो जाता है। ऐसा क्यों होता है और यह भी बताइए कि निमग्न जलोद्भिदों को अधिक मात्रा में आलम्बी ऊतक की आवश्यकता क्यों नहीं होती है ?

....

....

....

....

....

....

....

....

4. *Potamogeton* के पत्तियों तथा Hydrilla स्तंभ की निर्मित स्लाइडें देखिए, संवहनी ऊतक को देखिए और ध्यान दीजिए कि उसमें जाइलम का अभाव है। वह कौन सी प्रक्रिया है जिसके द्वारा जलीय पौधों के भीतर जल का प्रवेश होता है ?

....

....

....

....

....

....

....

....

5. जलोद्भिद पौधों के स्तंभ तथा उनकी पत्तियों के प्रदान किए गए अनुप्रस्थ सेक्शनों का अध्ययन कीजिए। क्या आप समझते हैं कि निमग्न जलोद्भिदों की द्वार-कोशिकाओं को आप देख पायेंगे ? यदि नहीं तो क्यों ?

....

....

....

....

....

....

....

....

6. तैरते जलोद्भिदों में आपको स्टोमैटा कहां दिखाई पड़ेंगे, और क्यों ?

....

....

....

....

....

....

....

....

7. पौधों की स्लाइडों में आकारीकीय तथा शरीरीय रूपांतरणों का जो आपने अध्ययन किया है उसकी सूची बनाइए तथा इनके आवासों के विशय में लिखिए।

....

....

....

....

....

....

....

....

आपको कुछ पौधे दिए गए हैं। आप सम्पूर्ण पौधे का अध्ययन कीजिए तथा पत्तियों एवं स्तंभ के सेक्शन बनाइए। इनमें विभिन्न संरचनाओं का अध्ययन कीजिए। क्या इनमें कोई अनुकूलन दिखाई पड़ते है, यदि नहीं तो क्यों।

आपको निम्नलिखित बातों का अध्ययन करना है :

क) जड़ तंत्र

ख) पत्तियां, उनकी आकारिकी तथा अनुप्रस्थ सेक्शन

  i) एपिडर्मिस की संरचना

  ii) स्टोमैटा का होना

  iii) मीज़ोफ़िल में विभेदन

ग) स्तंभ का T.S.

  i) संवहनी ऊतक

  ii) यांत्रिकीय ऊतक

....

चरण 3 : क्या पत्ती के रंग द्वारा अमरबेल के पौधे के पोषण के विषय में कोई ऐसा संकेत मिलता है, कि यह स्वपोषी हैं अथवा विषमपोषी ?

....

चरण 4 : क्या आप बता सकते हैं कि अमरबेल के पौधे को परजीवी क्यों समझा जाता है, न कि कवक ।

....

....

चरण 5 : स्लाइड में दिए गए अमरबेल और परपोषी पौधे के साथ निकट संपर्क बनाते हुए, इन दोनों का जो एक साथ अनुप्रस्थ सेक्शन T.S. दिया गया है उसका माइक्रोस्कोप में अध्ययन कीजिए। अपने प्रेक्षण का एक स्वच्छ आरेख बनाइए और चित्र 27.8 के साथ उसकी तुलना कीजिए।

2. प्राणी परजीवी

क) *पेडिकुलस ह्युमैनस*

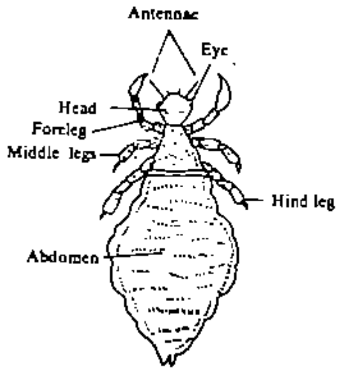
जो एक बाध्यपरजीवी के रूप में मानव शीर्ष पर पाया जाता है ।

चरण 1 : शीर्ष जूं की स्लाइड को माइक्रोस्कोप में निम्न आवर्धन पर देखिए तथा चित्र 27.9 से इसकी तुलना कीजिए। आप क्या क्या आकारकीय लक्षण देख पा रहे हैं ।

शरीर के विभाजन क्या क्या हैं..

पंख कितने हैं..

टांगों के कितने जोड़ हैं ....



चित्र 27.9 : पेडीकुलस *ह्युमैनस* (सिर की जूं)

चरण 2 : इस बाह्यपरजीवी में मानव परपोषी पर रहने तथा उससे आहार प्राप्त करने के लिये क्या–क्या अनुकूलन है ।

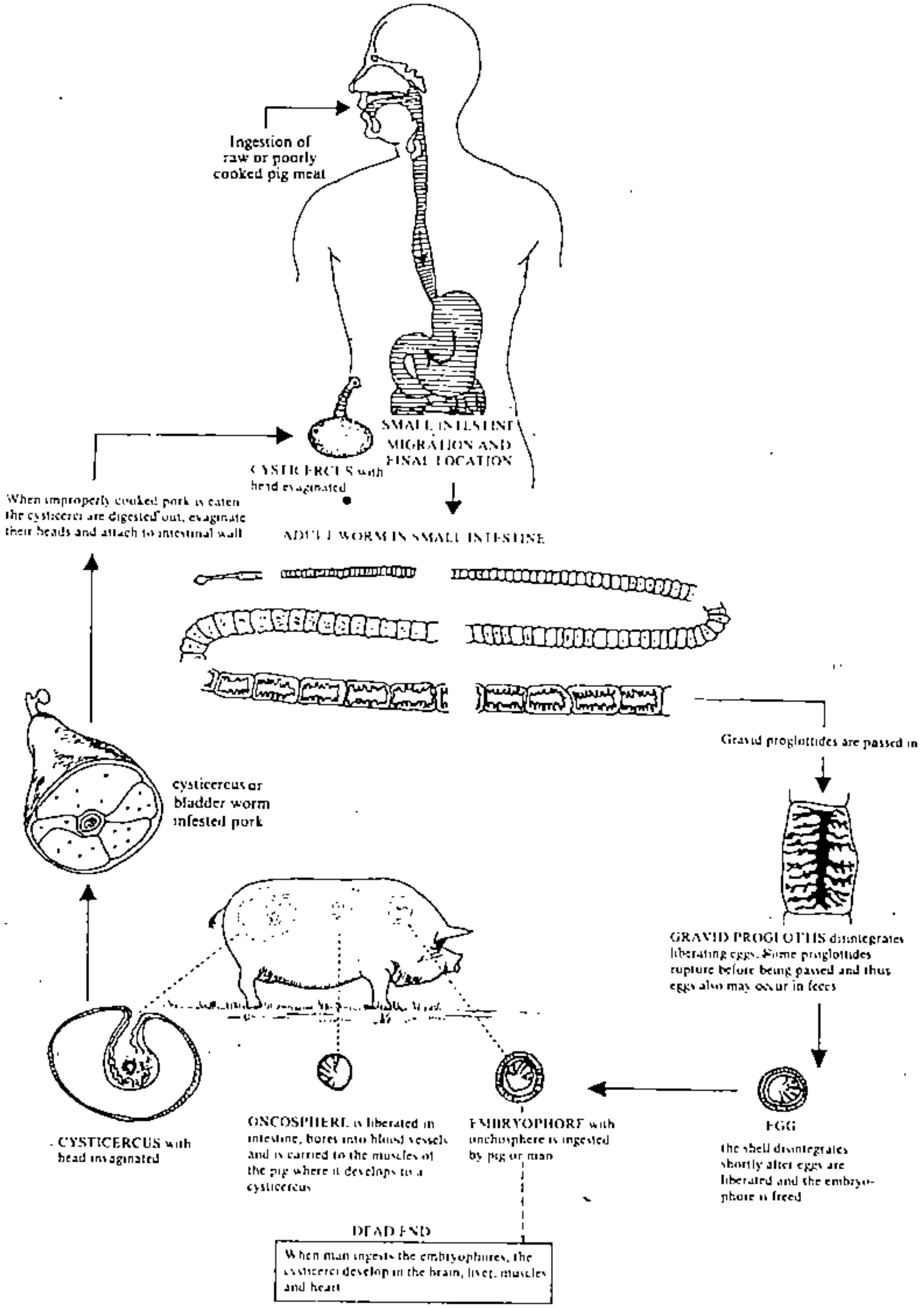
....

....

ख) *टीनीया सोलियम*

सूअर के मांस का फीताकृमि एक हेल्मिंथ परजीवी है, जो मनुष्य की छोटी आंत में पाया जाता हैं ।

चरण 1 : *टीनिया सोलियम* का वयस्क (adult) रूप मनुष्य में पाया जाता है, तथा मनुष्य इसका प्राथमिक (primary) परपोषी है । इसके विपरीत इसका लार्वा (larva) सूअर में पाया जाता है जो इसका द्वितीयक (secondary) परपोषी है । इस प्रकार टीनिया सोलियम का जीवन चक्र जटिल है जिसमें दो परपोषी आते हैं (चित्र 27.10) । चित्र 27.10 में परजीवी की संक्रमण विधि दिखायी गई है तथा साथ ही साथ लार्वा अवस्थाओं की संख्या एवं उनके पाए जाने का स्थान दिखाए गए है ।



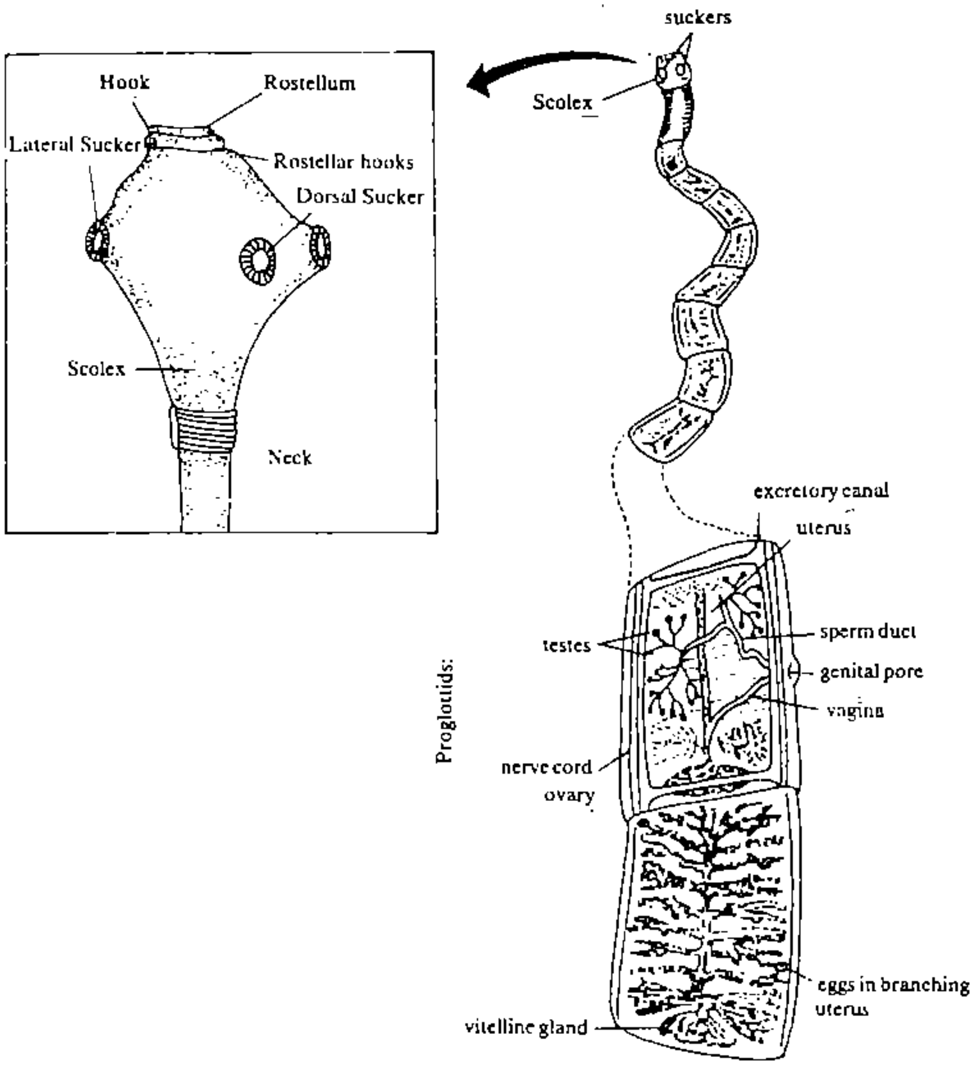
चित्र 27.10 *टीनिया सोलियम* **का जीवन चक्र ।**

चरण 2 : *टीनिया सोलियम* के जीवन चक्र में कितनी लार्वा अवस्थाएं पायी जाती हैं ।

....

चरण 3 : परजीवी का एक परिरक्षित नमूना देखिए और उसके शरीर के तीन भागों को

पहचानिए, ये भाग है स्कोलेक्स, गर्दन तथा खंड । प्रत्येक खंड को प्रोग्लौटिड (देहखन्ड) कहते हैं तथा फीताकृमि में अनेक प्रोग्लौटिड होते हैं । साथ ही माइक्रोस्कोप में स्कोलेक्स तथा अण्डपूर्ण प्रोग्लौटिड की स्थायी स्लाइडें देखिए तथा चित्र 27.11 से उनकी तुलना कीजिए ।



चित्र 27.11 : a. *टीनिया सोलियम* का स्कोलेक्स
b. *टीनिया सोलियम* के परिपक्व प्रोग्लौटिड की तफ़सीलें

ारण 4 : विभिन्न रूपांतरणों को नीचे दी जा रही सारणी 27.11 में भरिए, और संभव हो तो इन रूपांतरणों के लिए चित्र 27.10 तथा चित्र 27.11 देखिए ।

ारणी 27.1

ि. सं.	परजीवी अनुकूलन	कारण
	स्कोलेक्स (शीर्ष) में चूषक तथा हुक होते हैं	
	स्कोलेक्स में मुख नहीं होता (इस प्रकार यह केवल परपोषी के साथ जुड़े होने का कार्य करता है) ।	

(लगातार)

3.	शरीर लम्वा तथा चपटा होता है ।
4.	शरीर पर क्यूटिकल का आवरण होता है ।
5.	परिसंचरण तंत्र नहीं होता
6.	पाचन तंत्र नहीं होता
7.	तंत्रिक तंत्र तथा पेशी तंत्र कम विकसित होते हैं ।
8.	फीताकृमि की क्यूटिकल मोटी होती है और इससे ऐंटीएंज़ाइम निकलते हैं ।
9.	फीता कृमि का शरीर सखंड होता है तथा प्रत्येक खंड को प्रोग्लौटिड कहते है जिसमें नर और मादा दोनों प्रकार के जननांग होते हैं ।
10.	फीता कृमि के पीछे के खंड परिपक्व प्रोग्लौटिड कहलाते हैं, उनके जननांग समाप्त हो जाते हैं वे स्वयं साईज़ में बढ़ जाते हैं और उनके भीतर वहुत संख्या में अंडे भरे होते हैं ।
11.	समय समय पर फीता कृमि के पीछे से 2–3 परिपक्व प्रोग्लौटिड टूट कर अलग हो जाते हैं और परपोषी के मल के साथ परपोषी के शरीर से वाहर निकल जाते हैं ।
12.	श्वसन विधि अवायवीय प्रकार की होती है ।

चरण 5 : अपने उत्तरों को उन कारणों से मिलाकर जाँचिए जो हमने नीचे सारणी में दिए हैं ।

सारणी 27.2

क्र. स.	परजीवी अनुकूलन	कारण
1.	स्कोलेक्स (शीर्ष) में चूषक तथा हुक होते हैं	फीताकृमि के चूषक तथा चूषक हुक मानव परपोषी की छोटी आंत की दीवार से चिपक कर लटके रहने में काम आते हैं ।
2.	स्कोलेक्स में मुख नहीं होता (इस प्रकार यह केवल परपोषी के साथ जुड़े होने का कार्य करता है) ।	मुख का न होना यह दर्शाता है कि इस परजीवी को भोजन खाने की आवश्यकता नहीं है ।
3.	शरीर लम्वा तथा चपटा होता है ।	शरीर लम्वा और चपटा होता है ताकि वह परपोषी के पहले से ही पचे आहार अवशोषण के लिए अधिक सतही क्षेत्रफल प्रदान कर सके । आहार तरल रूप में कृमी की शरीर की पूरी लम्वाई में अवशोषित हो जाता है ।

(लगातार)

शरीर पर क्यूटिकल का आवरण होता है।	क्यूटिकल के कारण परजीवी पर परपोषी के पाचन एंजाइम की क्रिया नहीं होती
परिसंचरण तंत्र नहीं होता पाचन तंत्र नहीं होता	ये दोनों तंत्र अविद्यमान होते हैं क्योंकि परजीवी होने के कारण फीताकृमि को न तो परिसंचरण तंत्र की आवश्यकता है और न ही पाचन तंत्र की
तंत्रिका तंत्र तथा पेशी तंत्र कम विकसित होते हैं।	ये दोनों तंत्र कम विकसित होते हैं क्योंकि परजीवी एक ही स्थान पर कायम बना रहता है तथा उसे आहार प्राप्त करने के लिए अलवा जनन के लिए संचलन की आवश्यकता नहीं हैं।
फीताकृमि की क्यूटिकल मोटी होती है और इससे ऐंटीएंजाइम निकलते हैं।	ये दोनों लक्षण फीता कृमि को परपोषी के पाचन एंजाइमों की क्रिया से बचाते हैं।
फीताकृमि का शरीर सखंड होता है तथा प्रत्येक खंड को प्रोग्लौटिड कहते हैं जिसमें नर और मादा दोनों प्रकार के जननांग होते हैं।	नर और मादा दोनों प्रकार के जननांगों का होना यह निश्चित कर देता है कि निषेचन अवश्य ही होगा क्योंकि ऐसा हो सकता है कि परपोषी के शरीर के भीतर परजीवी को अपने और साथी उपलब्ध न हो। अतः निषेचन को संयोग पर नहीं छोड़ा जाता है।
फीताकृमि के पीछे के खंड परिपक्व प्रोग्लौटिड कहलाते हैं, उनके जननांग समाप्त हो जाते हैं और उनके भीतर बहुत संख्या में अंडे भरे होते हैं।	अंडों का अत्याधिक संख्या में होना इस बात को सुनिश्चित करता है कि परपोषी के शरीर के बाहर परजीवी का आगे परिवर्धन इस बात पर निर्भर है कि द्वितीयक परपोषी यानी सूअर की उपलब्धता एक संयोग है।
समय समय पर फीताकृमि के पीछे से 2–3 परिपक्व प्रोग्लौटिड टूट कर अलग हो जाते हैं और परपोषी के मल के साथ परपोषी के शरीर से बाहर निकल जाते हैं।	प्रत्येक परिपक्व प्रोग्लौटिड ढेर सारे अंडों से भरा एक थैले के रूप में कार्य करता हुआ अंडो की सुरक्षा करता है प्रोग्लौटिड के विघटित होने पर अंडे उसमें से बाहर आ जाते हैं।

(लगातार)

12.	श्वसन विधि अवायवीय प्रकार की होती है।	फीताकृमि क्योंकि परपोषी के शरीर के भीतर अंधेरे में एवं ऑक्सीजन के अभाव वाले पर्यावरण में रहता है अतः इसने अवायवीय प्रकार की श्वसन विधि अपना ली है।

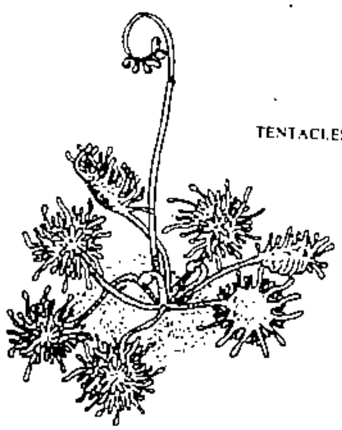
27.6 परभक्षण

आप जानते हैं कि कुछ प्राणी अपने स्वभाव से ही परभक्षी होते हैं। परभक्षण क्या होता यह बताने की आवश्यकता नहीं, आपने इसके अनेक उदाहरण देखे हैं जैसे छिपकली द्वार किसी कीट का खाया जाना, बिल्ली द्वारा चूहे को खाया जाना आदि। यहां हम आपको परभक्षण का केवल एक ही उदाहरण दे रहे हैं। हमने जो उदाहरण लिया है वह बड़ा ह असाधारण है क्योंकि हमने इसमें पादप जगत के एक परभक्षी को लिया है, यह है '*ड्रोसेरा*,' (सन ड्यू पादप)।

1. " सन-ड्यू " पौधा

चरण 1—अपने परामर्शदाता द्वारा दिए गए ड्रोसेरा के मॉडल अथ्वा नमूने का अध्ययन कीजिए तथा उसका आरेख बनाइए।

चरण 2—अपने बनाये हुये आरेख, की चित्र 27.12 से तुलना कीजिए।



चित्र 27.12 । परभक्षी कीटभक्षी पौधा *ड्रोसेरा* (सन ड्यू)।

चरण 3—आपके विचार में इस पौधे के किन अंग में कीट पकड़े जाते हैं।

....

चरण 4—*ड्रोसेरा* की पत्ती का अध्ययन कीजिए। गौर कीजिए कि यह वृंतयुक्त होती है इसका पत्रदल (लैमिना) लिपट कर अथवा वलिनित होकर एक गोल या चपटी सतह बन लेता है जिसके ऊपर बहुसंख्यक स्पर्शक हैं जो कीटों द्वारा छू जाने पर गति करते हैं। ‍ स्पर्शकों से एक गाढ़ा चिपचिपा तरल भी निकलता है जो चमकदार बूंदों का रूप ले लेत है। ये बूंदे भी कीटों को आकर्षित करती हैं। जब कोई कीट पत्ती पर आकर बैठता है स्पर्शक कीट के ऊपर मुड़कर उसे फांस लेता है। चिपकदार तरल भी कीट को भागने रोकता है।

योग 28 चुनिन्दा आवासों की प्राणिजात-संघटना का अध्ययन

रेखा

- । प्रस्तावना
- उद्देश्य
- 2 आवश्यक सामग्री
- 3 प्राणियों के आवासों की सामान्य रूपरेखा
- 4 जलीय आवास
- 5 अलवणजलीय आवास—(रोहू) मछली
- 6 गंभीर सागर आवास—ऐंग्लर मछली
- 7 अंतरज्वारीय मंडल—ऐकॉर्न बार्नेकल तथा सैंड मोल केकड़ा
- चट्टानीय तट आवास—ऐकॉर्न बार्नेकल
- रेतीला तट आवास— " सैंड-मोल " केकड़ा
- 8 स्थलीय आवास-मरूस्थल-श्रृंग-टोड

1 प्रस्तावना

पहले से ही जानते हैं कि किसी विशिष्ट पर्यावरण में जिसमें कोई जीव रहता है, उसे जीव का आवास (habitat) कहते हैं। आवास के भीतर पाया जाने वाला प्राणिजात एवं पतिजात दोनों मिलकर वहां का समुदाय (community) बनाते हैं। आवास और समुदाय साथ मिलकर वे सभी गतिज परस्परक्रियाएं जो उनके बीच होती है, पारितंत्र system) बनाती हैं। पारिस्थितिकीय अध्ययनों से पता चला है कि परितंत्र में गति होती वं वह बदलता रहता है। उसमें होने वाला परिवर्तन ऋतुपरक हो सकता है अथवा क वर्षों के लम्बे काल में होने वाला हो सकता है। इसके अतिरिक्त अधिसंख्य स्पीशीज़ ासाधारण रूप से अनुकूलन होते पाए जाते हैं ताकि वे पर्यावरण विशेष में सफलतापूर्वक ह कर सकें।

प्रयोगशाला अभ्यास में हमने प्राणियों के कुछ ऐसे खास उदाहरण चुने हैं, जिनमें उनके स के प्रति बहुत से अनुकूलन पाए जाते हैं।

ास	उदाहरण
य :	
अलवणजलीय —	कार्प (*Lablo rohita*) (रोहू)
समुद्री —	
सागर (बेंथिक) —	ऐंग्लर मछली (Angler fish) *Lophius*
ज्वारीय मंडल	
वट्टानीय तट —	ऐकॉर्न (Acorn barnacle-*Balanus*)
तीला तट —	" सैंड-मोल " केकड़ा (Sand mole crab-*Hippa*)
ीय :	श्रृंग-टोड (Horned toad-*Phrynosoma*)

उद्देश्य

इस प्रयोगशाला अभ्यासों को करने के बाद आप —

- विभिन्न आवासों को गिना सकेंगे,
- जैविकी नमूनों को देख सकेंगे एवं उनके चित्र बना सकेंगे,
- कुछ चुनिन्दा आवासों के प्राणियों के अनुकूलनों का वर्णन कर सकेंगे — अलवणजलीय आवास की कार्प (*लेबियो* – *Labeo*) गंभीर सागर की ऐंग्लर मछली (*लोफ़ियस* – *Lophius*), चट्टानीय तट आवास का ऐकॉर्न बार्नेकल (*बैलनस* - *Balanus*) रेतीले तटीय आवास का " सैंड–मोल " केकड़ा (हिप्पा– *Hippa*) तथा रेगिस्तानी आवास का श्रृंग–टोड (फिरनोसामा–*Phrynosoma*),
- समझा सकेंगे कि किसी विशेष आवास में किसी प्राणी के कुछ अनुकूलन इतने विशेषि होते हैं कि उनके प्राणियों का वितरण सीमित हो जाता है ।

28.2 आवश्यक सामग्री

i) विच्छेदन माइक्रोस्कोप

ii) नमूने/मॉडल

कार्प (रोहू) *(Labeo)*

ऐंग्लर मछली *(Lophius)*

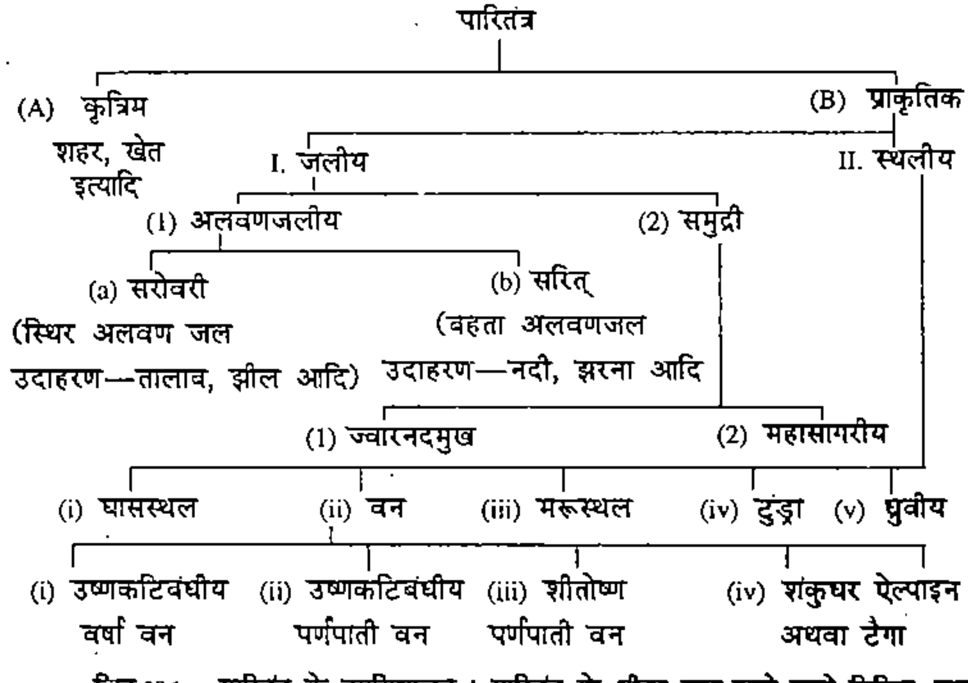
ऐकॉर्न बार्नेकल *(Balanus)*

" सैंड मोल " केकड़ा *(Hippa)*

श्रृंग–टोड *(Phrynosoma)*

28.3 प्राणियों के आवासों की सामान्य रूपरेखा

विशिष्ट अनुकूलनों को प्रारंभ करने से पूर्व आइए, चित्र 28.1 की सहायता से विविध प्राकृतिक एवं कृत्रिम पारितंत्रों की एक झलक ले लें ।



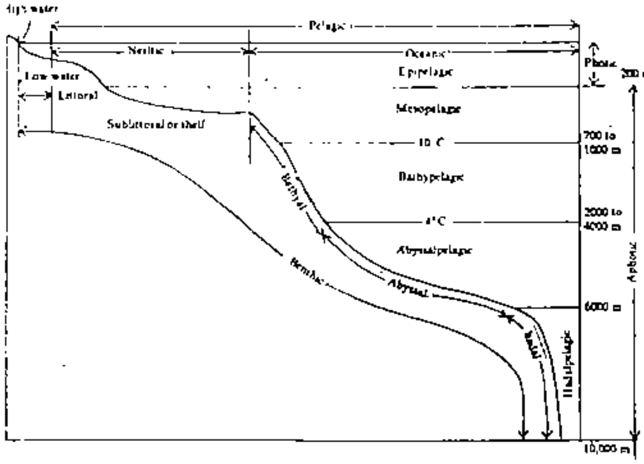
चित्र 28.1 : पारितंत्र के उपविभाजन । पारितंत्र के भीतर पाए जाने वाले विविध आवास विभिन्न प्रकार के जीवों के घर होते हैं ।

चित्र 28.1 में दिखाए गए जलीय एवं स्थलीय पारितंत्रों के मोटे उपविभाजन भी विविध प्राणियों के लिए आवास है और उनके भीतर छोटे पारितंत्र भी हैं। आइए, सारणी 28.1 की सहायता से जलीय आवासों तथा सारणी 28.2 की सहायता से स्थलीय आवासों के विषय में विचार करें।

सारणी 28.1 : जलीय आवास

आवास/पारितंत्र	औसत लवणता	प्रदेश
1. **समुद्री**(चित्र 28.2)	35 ppt	

Habitat/Ecosystem	Average Salinity	Region
I. Marine (Fig. 28.2)	35 ppt	



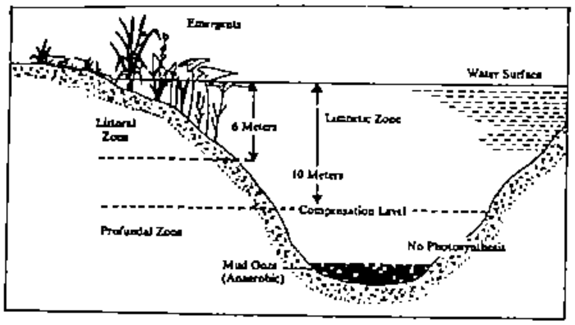
चित्र 28.2 : समुद्री आवास

A. **प्रकाशी** (Photic zone)		
1. **ज्वारनदमुखी** (Estuarine)	5-35 ppt	समुद्र तथा महाद्वीपों के बीच।
2. **पेलैजिक** (Pelagic)		समुद्र का सबसे ऊपरी क्षेत्र।
a) अधिज्वारीय मंडल (Supratidal zone)		यह उच्च ज्वार स्तर के ऊपर फैला होता है।
b) अंतरज्वारीय मंडल (Intertidal zone)		यह उच्च ज्वार स्तर तथा निम्न ज्वार स्तर के बीच फैला होता है।
c) उपज्वारीय (नेरेटिक मंडल) (subtidal zone)		यह क्षेत्र महाद्वीपीय शेल्फ़ के किनारे के अंतरज्वारीय मंडल की निचली सीमा से लेकर 200 मीटर की गहराई तक फैला होता है।

B. अप्रकाशी मंडल (Aphotic Zone)		
3. बेंथिक (Benthic) नितलस्थ		
a) अधिवेलांचली मंडल (Eulittoral zone)		यह क्षेत्र तटवर्ती क्षेत्र से लेकर गहरे समुद्र के प्रारंभ तक फैला होता है तथा यह अंतरज्वारीय क्षेत्र की तलहटी बनाता है ।
b) उपवेलांचली मंडल (Sublittoral zone)		यह 200 मीटर की गहराई तक के सागर की तलहटी बनाता है ।
c) गंभीर सागर मंडल (Deep sea zone)		यह सागर के उस भाग की तलहटी बनाता है, जो सूर्य के प्रकाश के प्रवेश की गहराई से नीचे है (अर्थात् 200 मीटर से नीचे) ।
4. पेलैजिक क्षेत्र के नीचे का जल जहां सूर्य का प्रकाश नहीं पहुंच पाता मध्यवेलापवर्ती		यह 200 मीटर की गहराई के नीचे का जल क्षेत्र होता है, जहां प्रकाश नहीं पहुंच पाता ।
a) (मीज़ोपेलैजिक मंडल) (Mesopelagic zone)		अप्रकाशी क्षेत्र का सबसे ऊपरी भाग जो 200 मीटर से लेकर लगभग 700 या 1000 मीटर नीचे तक फैला होता है ।
b) बैथीपेलैजिक मंडल (Bathypelagic zone)		मीज़ोपेलैजिक मंडल से नीचे 2000 से 4000 मीटर की गहराई तक फैला होता है ।
c) वितल पेलैजिक मंडल (Abyssalpelagic zone)		बैथीपेलैजिक मंडल से नीचे 2000 मीटर तक फैला होता है ।
d) हैडल पेलैजिक मंडल (Hadal pelagic zone)		गंभीर सागर की खाइयों में 6000 से 10,000 मीटर के बीच का जल ।

2. अलवण जल (Fresh water)	**औसत लवणता** < 5 ppt	

सरोवरी (जैसे तालाब, झील)(चित्र 28.3)



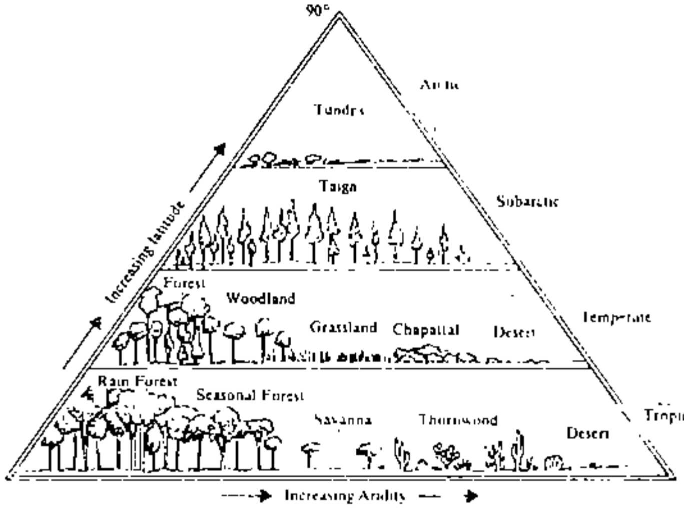
चित्र 28.3 : गहरे तालाब अथवा गहरी झील के विविध आवास ।

1. वेलांचली मंडल (Littoral zone)		जल के किनारे से लेकर 6 मीटर की गहराई तक फैला होता है ।
2. सरोवरी मंडल (Limnetic zone)		वेलांचली क्षेत्र से परे फैला हुआ प्रकाशयुक्त क्षेत्र ।
3. गंभीर मंडल (Profundal zone)		गहरे पानी का क्षेत्र जहां प्रकाश नहीं पहुंच पाता ।
सरित मंडल (Lotic zone) **जैसे — नदियां तथा झरने**		
1. प्रवाहरत क्षेत्र		पानी की गहराई कम-ज़्यादा किनारे पर उथला और बीच में बहुत गहरा हो सकता है ।
2. तीव्र रिफ़ल क्षेत्र		उथला जल क्षेत्र, जल तेजी से बहता है ।
3. ताल		नदी का शांत, न बहता हुआ जल ।

सारणी 28.2 : स्थलीय आवास (चित्र 28.4)

बायोम (Biome)	**मृदा**	**वनस्पति**	**औसत वार्षिक तापमान परास**	**औसत वार्षिक वर्षा**
ध्रुवी	बहुत कम, पोषकों से बहुत ज्यादा अभावयुक्त, वर्ष के अधिकतर भाग में बर्फ़ से ढकी	मॉसें, लाइकेन्स, तट के किनारे-किनारे छोटे पुष्पी पौधे	–40°C से 4°C	< 10 cm
टुंड्रा	पतली, चिरतुषार के ऊपर आर्द्र उपरिमृदा, पोषकों की अल्पता, मामूली अम्लीय	मॉसें, लाइकेन्स, बौने काष्ठीय पौधे	–26°C से 4°C	< 25 cm
शंकुधर वन	पोषकों की अल्पता, बहुत अम्लीय	सुई जैसी पत्तियां, सदाबहार वृक्ष	10°C से 14°C	35-75 cm
पर्णपाती वन	आर्द्र, पोषकों का स्तर सामान्य	चौड़ी पत्तियों वाले पर्णपाती वृक्ष तथा झाड़ियां	6°C से 28°C	75-125 cm
घास मैदान	पोषकों से भरपूर, उपरिमृदा की मोटी परत	घने, आर्द्र क्षेत्रों में ऊंची घास, अपेक्षाकृत सूखे क्षेत्रों में छोटी गुच्छेदार घासें	0°C से 25°C	25-75 cm

मरूस्थल	सूखी, रेतीली, पोषकों का अभाव	गूदेदार पौधे, छितरायी घासें और झाड़ियां	24°C से 34°C	< 25 cm
उष्णकटिबंधीय वर्षा वन	हल्की, आर्द्र, पोषक कम	चौड़ी पत्ती वाले सदाबहार वृक्ष तथा झाड़ियां	25°C से 27°C	200-400 cm
शीतोष्ण वर्षा वन	आर्द्र, पोषकबहुल, अत्यधिक अम्लीय	विशाल सुई जैसी पत्तियों वाले सदाबहार वृक्ष	10°C से 20°C	200-400 cm



चित्र 28.4 : स्थलीय आवास

अब तक जो विभिन्न आवास गिनाए गए हैं, उनमें से जैसा कि पहले ही कहा जा चुका है, हम कुछ ख़ास-ख़ास आवासों को और उनमें भी उनके कुछ चुनिन्दा प्राणियों को ही लेंगे जो उनके लिए अनुकूलित हो चुके हैं। तो आइए, शुरू करते है एक विशिष्ट प्राणी "मछली" से जो जलीय माध्यम के लिए अनुकूलित है।

28.4 जलीय आवास

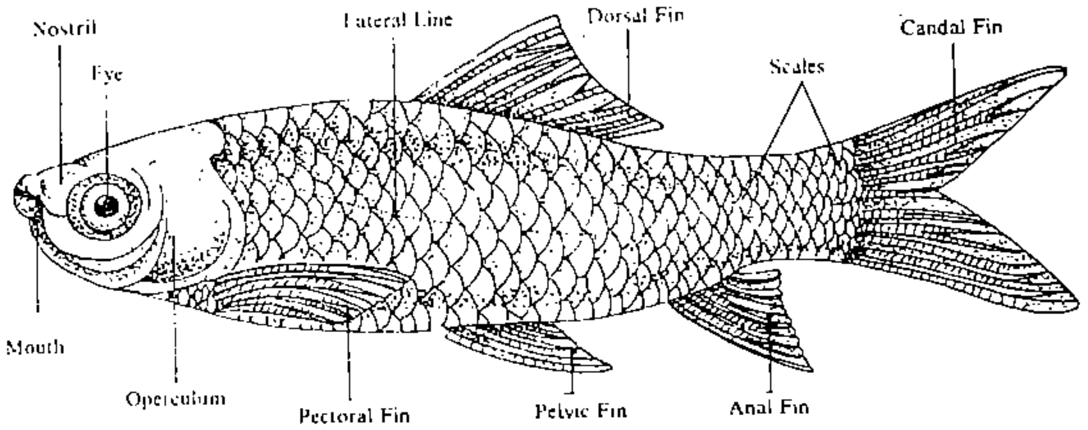
समुद्री पारितंत्र हो या अलवणजलीय पारितंत्र, सभी प्रकार के जलीय पारितंत्र में उनकी समान विशिष्टता है — जलीय माध्यम का होना। जलीय प्राणियों ने इस माध्यम में सफलतापूर्वक रहने के लिए कुछ विशेष अनुकूलन विकसित कर लिए हैं।

आइए, मछली को जलीय माध्यम में रह सकने के लिए एक सर्वोत्तम प्रकार से अनुकूलित प्राणी के नज़रिए से देखें। मछलियां चाहे तो समुद्र की हों, चाहे अलवण जल की, उन्हें जल में रहने के लिए अनुकूलित होना होता है और इसी हेतु उनमें समान अनुकूलन पाए जाते हैं। मछली को हमने इसलिए चुना है कि यह एक प्राथमिक जलीय प्राणी है जो लवण तथा अलवण दोनों प्रकार के जलों में पाया जाता है तथा यह एक ऐसा प्राणी है जिसके पूर्वज भी हमेशा से जलीय ही रहे, माने जाते हैं। इस उद्देश्य के लिए हमने दो मछलियां चुनी है — 1) कार्प-मछली *(लेबियो रोहिता)* जो अलवण जल में पायी जाती है और 2) ऐंग्लर मछली जो बहुत ज्यादा रूपांतरित है और गहरे सागर में पायी जाती है और जिसके अनुकूलन उसे उस आवास में सफलतापूर्वक रहने के लिए सक्षम बनाते हैं।

आपको यहां एक बात ध्यान में रखनी है कि कार्प मछली के जो अनुकूलन हम यहां ले रहें हैं, वे अलवण जल तथा समुद्री जल दोनों ही की मछलियों में काफ़ी हद तक प्रतिरूपतः पाए जाते हैं।

28.5 अलवणीय जलीय आवास — रोहू मछली

कार्प मछली का अध्ययन कीजिए तथा उसके लक्षणों की तुलना चित्र 28.5 से कीजिए



चित्र 28.5 : कार्प मछली (*Labeo rohita*)।

1. कार्प एक अस्थिमय मछली है और उसे अंग्रेजी में सामान्यतः कार्प तथा भारत में रोहू कहते हैं। यह लगभग 1 मीटर लम्बी और वज़न में लगभग 4 किलो ग्राम होती है।

2. शरीर की आकृति पर ध्यान दीजिए। यह तर्कुरूपी दिखाई पड़ती है, जिसमें सिर सम्पीडित तथा थूथन उपशंक्वाकार होता है। इस आकृति के लिए आप कौन-सा एक संभव कारण बता सकते हैं ?

   ....

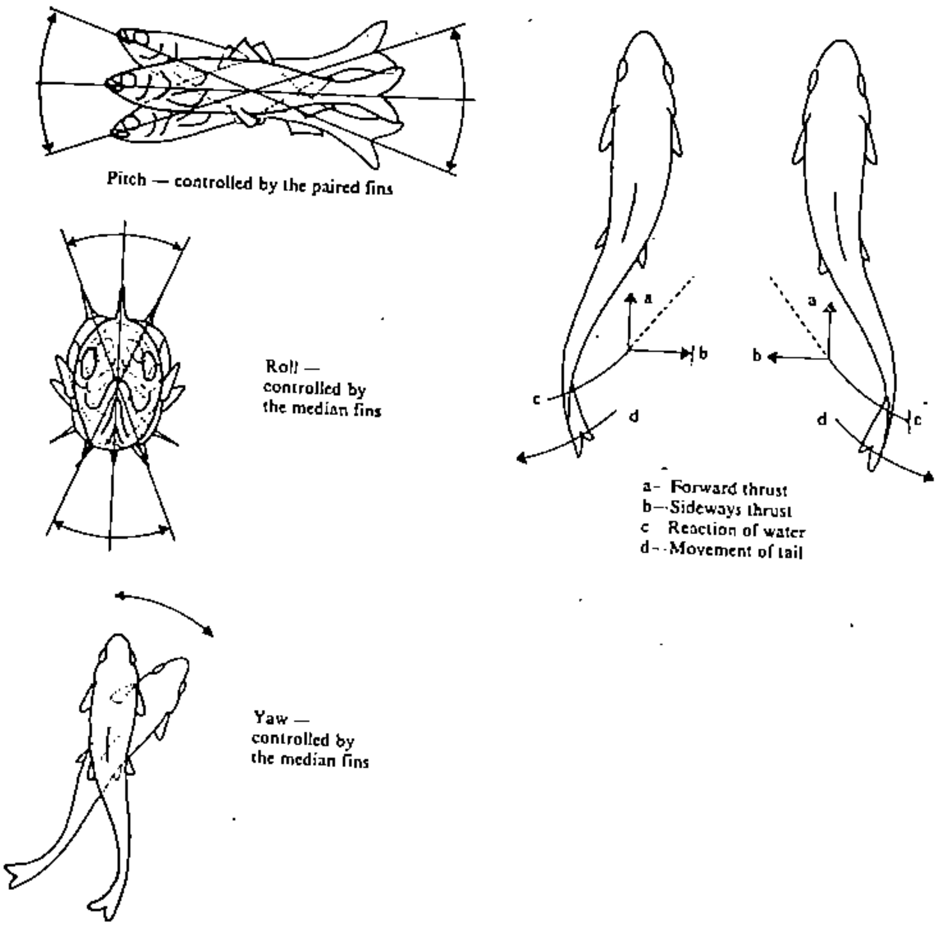
   यह आकृति तैरने के दौरान जल में न्यूनतम प्रतिरोध प्रदान करने के लिए सर्वोत्तम है।

3. आप देखेंके कि *लेबियो* का शरीर बड़े कोरछादी साइक्लाइड शल्कों से ढका होता है। कुछ मछलियों में, जिनमें से यह भी एक है, आपको शरीर के ऊपर श्लेष्म की एक पतली परत भी चढ़ी पता चलेगी। ये दोनों लक्षण भी पानी में घर्षण को कम करने में सहायक होते है, जिसके कारण मछली को तैरने में आसानी होती है।

4. आप देखेंगे कि मछली में पाद (हाथ-पैर) नहीं होते, उनके स्थान पर फ़िन (fins) होते है। कार्प में फ़िनों की शक्ल, उनकी संख्या तथा उनका स्थान देखिए। आपको ये फ़िन दिखायी देंगे — दो युग्मित अंस फ़िन (pectoral fins) दो युग्मित श्रोणि फ़िन (pelvic fins) और एक या दो मध्यक-पृष्ठ (dorsal), अधर (ventral) तथा पुच्छीय (caudal) फ़िन। अंस फ़िन, श्रोणि फ़िन, तथा गुदा एवं पृष्ठ-अधर फ़िन मूलतः संतुलनकारियों (balancers) का काम करते हैं। अंस फ़िन तथा श्रोणि फ़िन स्थिरता का नियंत्रण करते एवं दिशा-परिवर्तन में सहायता करते हैं। अतः इन फ़िनों का मुख्य काम मछली को ऊपर-नीचे की गति प्रदान करना है। मध्यक फ़िन (पृष्ठ एवं अधर) मछलियों में वेल्लन (rolling) का नियंत्रण करते हैं।

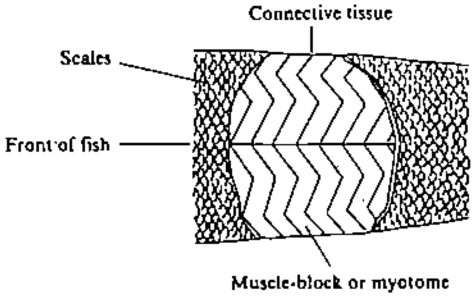
5. पूंछ का सर्वाधिक योगदान एक संचलन अंग के रूप में कार्य करने में होता है, यह मछली को आगे को नोदन (propulsion) प्रदान करने में कार्य करती है। इसकी

दाएं–बाएं की कशाघाती गति कदाचित् इसके मेरूदण्ड की लचीली प्रकृति के कारण ही संभव हो पाती है। कशेरूक दण्ड के व्यष्टिगत कशेरूक एक–दूसरे से पर्याप्ततः लचीले स्नायुओं (ligaments) द्वारा जुड़े होते हैं जिसके कारण कुल मिलाकर पूरी रीढ़ को कुछ गति प्राप्त हो सकती है। कुछ मछलियों में उनका कंकाल कार्टिलेज का बना होता हैं, और इसलिए वह अधिक नरम एवं अधिक लचीला होता है जिसके कारण अधिक गति सम्पन्न हो सकती है। निहित गतियों को हम चित्र 28.6 में देख सकते हैं। जब प्राणी जल के भीतर गति कर रहा होता है तब पार्श्व दिशाओं में होने वाले दो प्रणोद (thrusts) बराबर होने के कारण वे एक–दूसरे को काट करते है और परिणामी गति सीधी सामने की होती है।



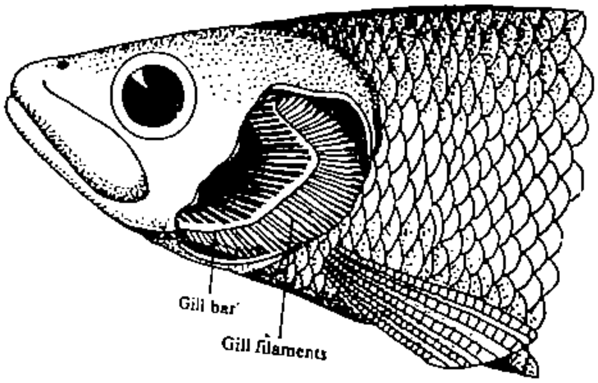
चित्र 28.6 : मछली में तरण गतियों को पैदा करने वाले बल।

6. मछली को गति देने में एक और साधन सहायक है, यह है — रीढ़ के विपरीत पार्श्वे में मौजूद पूरी लम्बाई में व्यवस्थित पेशी खंडों का होना जो एकांतर क्रम में संकुचित तथा शिथिल होते रहते हैं (चित्र 28.7)।



चित्र 28.7: मछली की पीठ के सहारे पीछे को चलते जाते पेशी–खंडों की व्यवस्था। त्वचा का एक अंश हटाकर दिखाया गया है।

7. आप इससे भी अवगत हैं कि स्थल पर श्वसन के लिए फेफड़ों की आवश्यकता होती है । मगर मछलियां तो पानी में रहती हैं और श्वसन के लिए वे फेफड़ों का उपयोग नहीं कर सकतीं अतः फेफड़ों की बजाए उनमें गिल बन गए हैं जिनके द्वारा वे जल में श्वसन गैसों का विनिमय कर सकती हैं (चित्र 28.8) ।



चित्र 28.8 : अस्थिमय मछली के गिल । आच्छद (ऑपर्कुलम) के काटकर निकाल दिया गया है ताकि नीचे स्थित गिल दिखाई पड़ सकें । गिल सूत्र बार-बार विभाजित होकर एक बहुत बड़ा सतह क्षेत्रफल प्रदान करते हैं जिसके द्वारा श्वसन में ऑक्सीजन के अवशोषण में सहायता मिलती है ।

8. कार्प में आच्छद (ऑपर्कुलम) पर गौर कीजिए । यदि संभव हो तो आच्छद को ऊपर को उठाइए । आच्छद बड़ा है तथा वह दोनों पार्श्वें की ओर लटकता हुआ गिलों तथा गिल-कक्ष को भीतर बंद किए रहता है । जो गिल आप देखेंगे उनमें रक्त-वाहिकाएं बहुत संख्या में होती हैं ताकि गैस-विनिमय में सुविधा हो ।

9. कार्प में तथा अन्य अस्थिमय मछलियों में भी एक लम्बा वायु से भरा थैला होता है जिसे वायुआशय अथवा वाताशय कहते हैं । इससे प्राणी में उत्प्लावन आ जाता है ताकि जब वह तैरना बंद कर देता है तब नीचे को न डूबता जाए । इसके विपरीत कार्टिलेजी मछलियों में यह वाताशय नहीं होता इसलिए जब वे तैर नहीं रहीं होती हैं, तब वे नीचे को बैठती जाती हैं । अलग-अलग गहराइयों पर वायु-आशय के भीतर की वायु-दाब को मछली स्वयं नियंत्रित करती रहती है ।

10. शरीर के दोनो पार्श्वें पर एक पार्श्व-रेखा को देखिए । यह एक संवेदी पार्श्व रेखा होती है जिसमें बहुसंख्य न्यूरोमास्ट अंग होते हैं । ये अंग धाराग्राहियों का कार्य करते हैं तथा जल में वस्तुओं के प्रतिध्वनि निर्धारण में सहायता करते है ।

11. अन्य संवेदी अंग सुविकसित होते हैं । गंध ज्ञान खासतौर से प्रखर होता है आखें भी सुविकसित होती हैं हालंकि वे गंध ज्ञान से कुछ कम तीव्र होती है । बाहरी कान नहीं होते । भीतरी कान होता है और यह कार्यशील होता है ।

12. लवण जल और अलवण जल की मछलियों में कुछ विपरित समस्याएं पाई जाती हैं जिनका संबंध शरीर में लवण संतुलन बनाए रखने से है । लवण जल में लवण का सांद्रण, रक्त में पाई जाने वाले लवण सांद्रण से अधिक होता है । अतः लवण जल की अस्थिमय मछलियों में यह प्रवृत्ति होती है कि परासरण की क्रिया द्वारा वे अपनी कोशिकाओं से जल को बाहर निकालती जाती हैं । जल के लिए अपारगम्य शल्क लवण जलीय मछली में जल के बाहर निकलने को रोकते हैं और इस दृष्टि से ये शल्क गिलों के सहायक होते हैं, गिल सक्रिय रूप में लवण को शरीर से बाहर निकालते रहते हैं । उनके वृक्क अत्यधिक सांद्रित मूत्र को केवल सूक्ष्म मात्राओं में ही बाहर निकालते हैं । इससे शरीर में जल का संरक्षण करने में सहायता मिलती है । अलवण जलीय मछलियों की समस्या इससे बिल्कुल विपरीत होती है । उनमें परासरण

की क्रिया से अपने परिवेश से पानी के अवशोषण की प्रवृत्ति होती है । अतः अलवण जल की मछलियों के शल्क जल को शरीर के बाहर ही रोके रखते हैं । और तो और इन मछलियों के गिल, जो भी थोड़ी बहुत मात्रा में लवण बाहरी जल में होता है उसे सक्रिय परिवहन द्वारा शरीर के भीतर को लेते रहते हैं । जल की बड़ी-बड़ी मात्रा को शरीर से बाहर निकालते रहने में वृक्क (गुर्दे) भी सहायक होते हैं । केवल सामन (salmon) जैसी कुछ इनी-गिनी अस्थिमय मछलियां हैं जो लवण जल से अलवण जल में जा सकती हैं । इन मछलियों के गिल तथा वृक्क इस प्रकार अनुकूलित होते है वे अपने जल एवं लवण परिवहन कार्य को उलटा कर सकते हैं ।

बोध प्रश्न 1

यदि किसी अलवणजलीय मछली को समुद्र में पहुंचा दिया जाए, तो आपके विचार में उसके सम्मुख क्या मुख्य समस्या आएगी ?

....

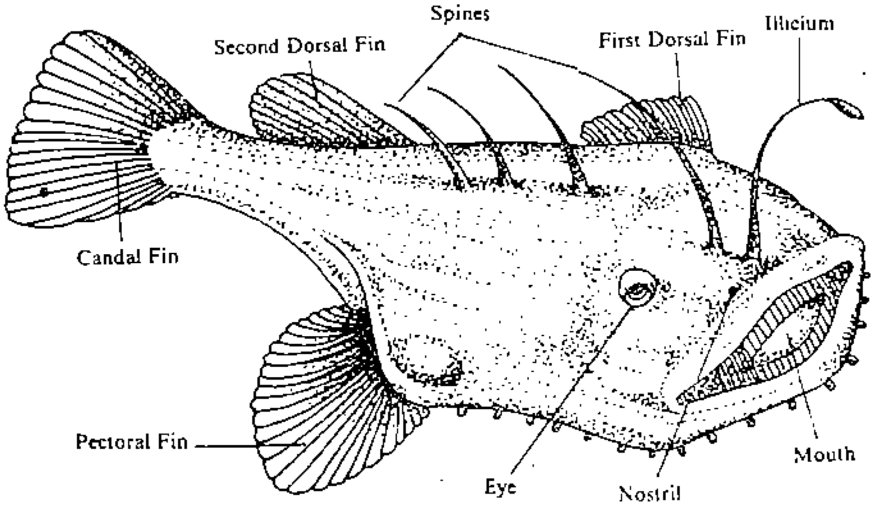
....

....

28.6 गंभीर सागर आवास—ऐंग्लर मछली

आप मछलियों के मूलभूत अनुकूलनों से परिचित है । फिर भी, विभिन्न पारितंत्रों एवं मंडलों की मछलियों में कुछ उनके अपने विशिष्ट अनुकूलन पाए जाते हैं । आइए, ऐंग्लर मछली के उदाहरण से गहरे समुद्र की मछलियों के अनुकूलनों पर विचार करें ।

1. यह एक समुद्री, गहरे सागर की वेधिक मछली है ।
2. इस मछली की देह पर गौर कीजिए । यह पिचकी हुई-सी दिखाई पड़ती है जो पृष्ठ-अधर दिशा में चपटी हो गई है और यह चपटा होना ऊपर के पानी के अत्यधिक दवाव के कारण हुआ है (चित्र 28.9) ।



चित्र 28.9 : ऐंग्लर मछली

3. आप देखेंगे कि इसका शीर्ष तथा शरीर का अग्र भाग बहुत बड़े हैं तथा उन पर शल्क नहीं है। मुख बहुत बड़ा है तथा दांत मजबूत और भीतर की ओर मुड़े हुए से हैं जिनके कारण पकड़ा हुआ शिकार चाहे वह छोटा हो या बड़ा बाहर बचकर नहीं निकल सकता। इस लक्षण का संबंध है क्षेत्र में पोषण की अल्पता से जहां यह रहती है। कभी-कभी तो यह अपने आकार से भी बड़ा शिकार निगल जाती है। मुख का बड़ा होना तथा उसका खूब चौड़ा होकर खुल सकना उस संधि की विधि से संभव हो पाता है, जो कपाल तथा जबड़ों के बीच पाई जाती है।

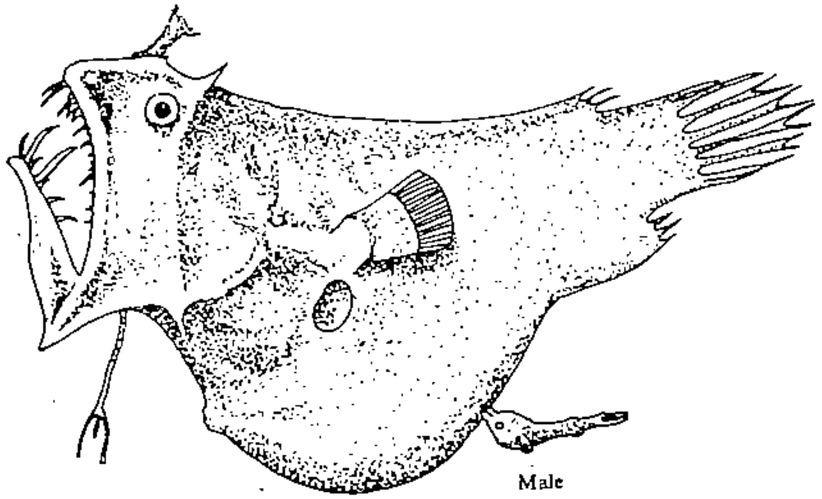
4. ध्यान दें कि आंखें बड़ी तथा पार्श्व-स्थित हैं जिससे कि मछली को उस आवास में उपलब्ध प्रकाश की बहुत थोड़ी सी मात्रा में भी देखने में सहायता मिल सके।

5. गिल छिद्र अंस फ़िन के निचले चाप में स्थित होकर सुरक्षित बना रहता है।

6. ऐंग्लर मछली में सजीव शिकार के लिए एक चारा मौजूद होता है। यह चारा पहले पृष्ठ फ़िन के रूपांतरण से बन जाता है। यह एक लम्बी छड़ जैसी संरचना होती है जिसके अंतिम सिरे पर एक मांसल पिंड अथवा प्रलोभन चारा होता है, इस प्रलोभन से कृमि तथा छोटी मछली जैसा शिकार खिंचा चला आता है। जब शिकार इस प्रलोभन चारे के निकट आ जाता है तब ऐंग्लर मछली उस पर खुंखार तरीके से झपट पड़ती है और उसे खा जाती है। कुछ ऐंग्लर मछलियों में यह प्रलोभन-चारा प्रकाशमान होकर और भी अधिक आकर्षक बन जाता है।

7. अंस फ़िन तथा पुच्छ फ़िन नहीं होते क्योंकि यहां का जल शांत होता है और यहां के चरम दबाव एवं चरम अंधियारे के कारण इनकी गतिशीलता सीमित होती है।

8. अंधेरे के पर्यावरण में संगमन साथी को ढूंढ़ पाना कठिन है। जनन को सुनिश्चित करने और नर मछली को ढूंढ पाने की कठिनाई को दूर करने के लिए ऐंग्लर मछली का नर अपेक्षाकृत छोटा होता है और परजीवी के रूप में मादा के शरीर पर चिपका रहता है (चित्र 28.10)।



चित्र 28.10 : बड़ी मादा ऐंग्लर मछली जिसके ऊपर छोटा परजीवी नर चिपका हुआ है।

बोध प्रश्न 2

रोहू मछली तथा ऐंग्लर मछली दोनों के आरेख बनाइए तथा इनके बीच की समानताओं एवं असमानताओं को लिखिए।

28.7 अंतरज्वारीय मंडल (ऐकॉर्न बार्नेकल और सैंड मोल" केकड़ा)

समुद्र तट चाहे रेतीला हो या चट्टानीय वह उच्च ज्वार तथा निम्न ज्वार चिंह्नों के बीच का क्षेत्र होता है और जैसाकि आप आशा करेंगे, इस मंडल का मुख्य प्रभावकारी आवासीय कारक है इस भाग का एकांतर क्रम में खुल जाना और फिर समुद्र के जल से जलमग्न हो जाना । यहां के जीवों को इस एकांतर क्रम वाले परिवर्तनों को सहना होता है । यहां की अन्य परिवर्तनशील भौतिक दशाएं हैं—तापमान का घटना-बढ़ना, एकांतर क्रम में सूखना और गीला होना, कभी-कभी एकदम बहुत-सा लवण जल अथवा अलवण जल आ जाना जिसके फलस्वरूप यहां के pH में उतार-चढ़ाव आते रहते हैं तथा लहरों के थपेड़े, आदि । ऐसी परिस्थितियों में हमें शायद ऐसा लगे कि यहां रहने वाले जीव कम ही होंगे । मगर यह बात नहीं है, यहां अनेक स्पीशीज़ के प्राणियों का अच्छा ख़ासा प्रतिनिधित्व मिलता है । इनमें से कुछ स्पीशीज़ में अंतरज्वारीय मंडल के जीवन के प्रति अनेक विलक्षण अनुकूलन पाए जाते हैं ।

इस अंतरज्वारीय मंडल के अधिसंख्य प्राणी मूलतः समुद्री प्राणी हैं । अतः उन्हें ऐसे अनुकूलन अर्जित करने होते हैं, जो उन्हें हर दिन होने वाले वायु एवं धूप के उद्भासन से तथा ज्वारीय लहरों के बल से होने वाले कष्टभार से वचने अथवा उसे न्यूनतम कर देने में सहायक हों ।

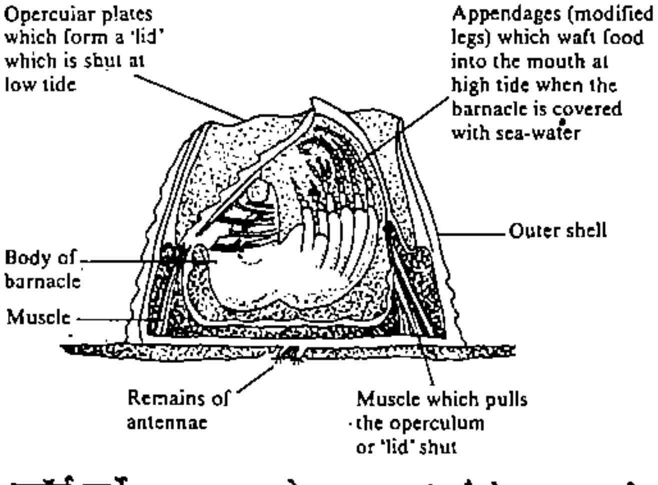
आप दो प्राणियों का अध्ययन कर सकते हैं जो फ़ाइलम आर्थ्रोपोड के क्लास क्रस्टेशिया में आते हैं और रेतीले तथा चट्टानीय तट पर रहते हैं । ये हैं :

i) ऐकॉर्न बार्नेकल जो चट्टानीय समुद्र तट का है ।

ii) परसैंड-मोल केकड़ा जो रेतीले समुद्र पर पाया जाता है ।

28.7.1 चट्टानीय तट आवास—ऐकॉर्न बार्नेकल

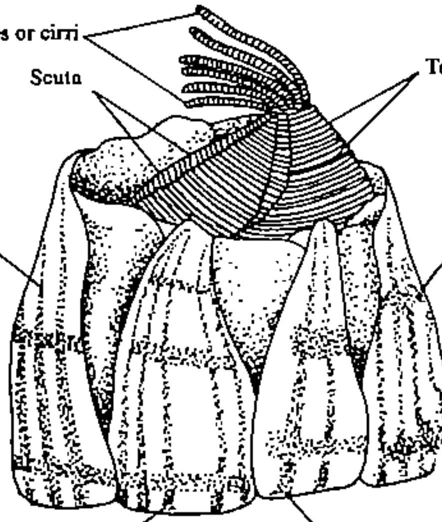
ऐकार्न बार्नेकल एक स्थानवद्ध प्राणी है जो वहुत-बहुत की संख्या में उथले जल में ज्वार चिंह्नों के बीच या तो चट्टानी तट से अथवा मौलस्को के कवचों पर चिपके रहते हैं (चित्र 28.11) । प्रेक्षण करें कि इस प्राणी के मुख्य अनुकूलनी लक्षण इस प्रकार हैं :



चित्र 28.11 : एकॉर्न बार्नेकल का ठदग्र सेक्शन । स्वछंद तैरने वाला लार्वा अपने शीर्ष द्वारा किसी सतह पर चिपक जाता है । लोवो के चारों ओर एक कठोर कवच स्रवित हो जाता है और फिर व परिचित वस्तु बन जाती है जिसे हम अक्सर ही समुद्र तट पर देखते हैं, और ऐसी चीज़ अति रूद्र समुद्र को भी सह लेती है ।

. यह स्थानवद्ध है और चट्टानी अधःस्तर के साथ मजबूती से चिपका रहता है । इस तरह यह ज्वारीय लहरों द्वारा वहा लिए जाने से अपने को बचा लेता है ।

. जैसा कि चित्र 28.12 में दिखाया गया है, ऐकॉर्न बार्नेकल में एक मेंटल– (mantle) प्रावार होता है, जो प्राणी के शरीर को घेरे रहता है । इस कवच में छह केल्सियमयुक्त प्लेटें होती हैं — एक अयुग्मित केराइना (unpaired carina), एक अयुग्मित रॉस्ट्रम (unpaired rostrum) तथा दो जोड़ी केराइनो–लेटरल प्लेटें (two pairs of carino-lateral plates)। प्लेटें के किनारे कोरछादी होते हैं और इस प्रकार फ़िट हुए रहते हैं कि एक सिलिंडर (cylinder) वन जाता है । प्रत्येक प्लेट की वाहरी सतह पर तीन विभाजन दिखाई पड़ते हैं — एक मध्य भाग तथा दो पंख ।



चित्र 28.12 : ऐकॉर्न बार्नेकल का बाह्य पार्श्व दृश्य ।

ापके विचार में कवच का क्या कार्य है ? यह प्राणी के कोमल शरीर को तीन चीज़ों से चाने में सहायता करता है — ज्वारीय लहरों के थपेड़ों से, परभक्षियों से तथा र्जलीकरण से ।

. कवच तथा मेंटल के छिद्र को देखिए । आप उसमें चार अंशों का बना एक ढक्कन देखेंगे – ये चार अंश हैं – दो स्क्यूटम तथा दो टर्गम । जव ज्वार उतर जाता है, तव मेंटल की प्लेटें वंद हो जाती है जिससे सुरक्षा मिलती है और साथ ही देह से वाष्पन के द्वारा निर्जलीकरण भी नहीं होता ।

. आप देखेंगे कि इस प्राणी में छह जोड़ी कोमल झब्वेदार टांगें होती हैं जो ज्वार के उतरने पर कवच के भीतर सीमित हो जाती हैं । मगर जब ये प्राणी जल में डूब जाते हैं, तव ये टांगें छिद्र में से वाहर को निकल आयी होती हैं और आहार का संग्रहण करके उसे मुंह में धकेलती हैं ।

. ऐकार्न बार्नेकल में अपने शरीर की गर्मी को कायम बनाए रखने की भी एक विधि है । गर्म होने पर यह अपने को ठंडा करने के लिए कुछ पानी की हानि भी होने देता है । क्योंकि इसमें वह युक्ति विकसित हो चुकी है, जिसके द्वारा यह अत्यधिक निर्जलीकरण को रोकता है । ऐसा करने के लिए यह अपनी मेंटल गुहा के भीतर कुछ अतिरिक्त जल सप्लाई इकट्ठा कर लेता है जो जल की हानि की क्षतिपूर्ति कर देती है ।

. यह प्राणी स्थानवद्ध है जिसके कारण यह अपना मैथुन–साथी सक्रिय रूप में नहीं ढूंढ़ सकता । जनन को सुनिश्चित करने के लिए वार्नेकलों ने दो रणनीतियां विकसित की

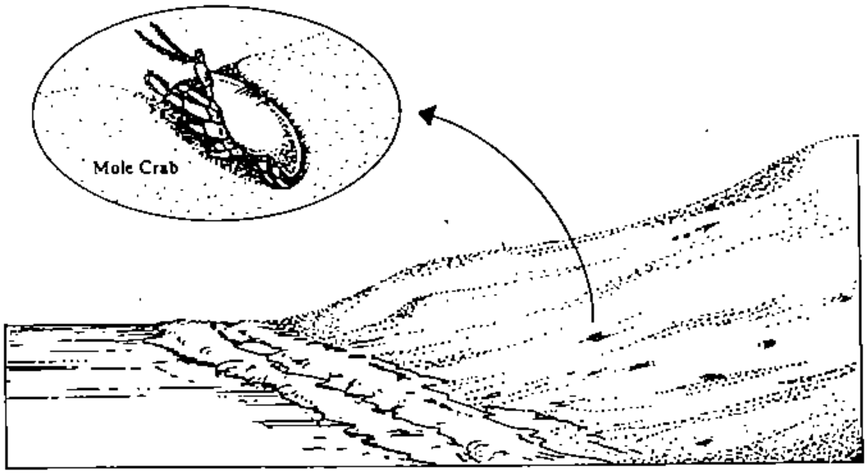
है — 1) या तो नर और मादा दोनों ही स्थायी साहचर्य में रहते हैं या 2) प्राणी उभयलिंगी हो सकता है।

7. इस प्राणी के जीवन चक्र में एक स्वच्छंद तैरने वाला लार्वा भी होता है जिसे नौप्लियस लावा कहते हैं। गतिशीलता के कारण ये लार्वा अपने आवास में वितरित हो जाते हैं और इस प्रकार एक ही स्थान पर भीड़-भाड़ होने से रूक जाती है।

28.7.2 रेतीला तट आवास—"सैंड मोल" केकड़ा

रेतीले समुद्रतट के प्राणियों के सम्मुख यह समस्या है कि वे ज्वारीय लहरों की क्रिया के कारण जो रेत खिसकती रहती है उससे ये प्राणी अपने आपको अधः स्तर पर चिपका कर नहीं रख सकते। ऐसा होने के कारण यहां के अधिसंख्यक प्राणी बिल बनाकर उनमें रहने वाली प्रकृति के वन जाते हैं। सैंड-मोल केकड़े के अनुकूलन इस प्रकार हैं :

1. Hippa अथवा सैंड मोल केकड़ा जैसा कि इसके नाम से ही लगता है, रेत में बिल बनाकर रहने वाला है। यह बड़ी तेज़ी से रेत में घुस जाता है तथा अपने मुखांगों को ऊपर निकाले रहता है ताकि जल से निस्यंदक रूप से आहार को पकड़ता रह सके (चित्र 28.13)।



चित्र 28.13 : सैंड-मोल केकड़ा रेत में घुसकर अपने परभक्षियों से तथा ज्वारीय लहरों की क्रिया एवं निर्जलीकरण से बचता है।

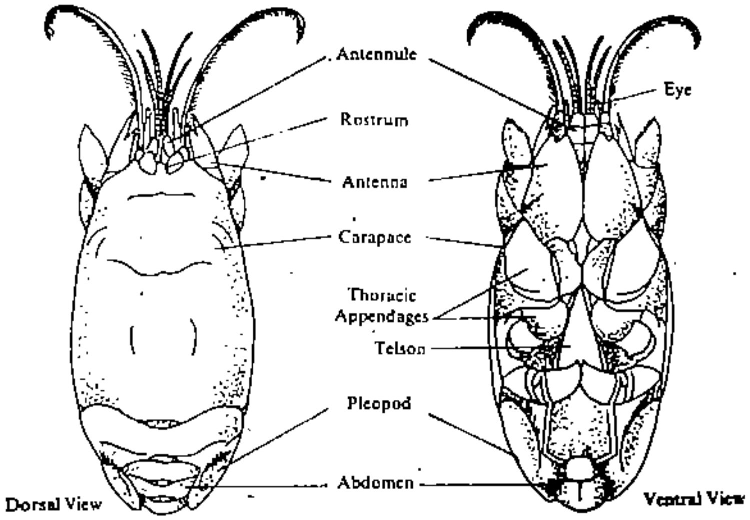
2. इसमे एक ऐसी विधि भी विकसित कर ली है, जिसके द्वारा यह अपनी श्वसन सतहों को निलम्बित रेत के द्वारा अवरूद्ध हो जाने से बचा लेता है। यह अपने ऐंटेनाओं को इस प्रकार एक साथ जोड़ लेता है कि उनसे ऊपर सतह पर को खुलती हुई एक नलिका-को बन जाती हैं जिसमें से होकर जल भीतर गिल-कक्ष में जाता रहता है। साथ ही रेत के कण इसलिए भी अंदर नहीं जा पाते क्योंकि ऐंटेनाओं के ऊपर पास-पास सटे हुए बहुत संख्या में रोम वने होते हैं।

3. सैंड मोल केकड़े का शरीर ह्रासित हुआ होता है और अण्डाकार आकृति का होता है। इसमें होते हैं जो नीचे की ओर टांगों को भी ढके रहती है (चित्र 28.14)। अन्य अनुकूलनों के लिए आप चित्र 28.4 की सहायता ले सकते हैं।

4. शीर्ष पर एक जोड़ी वृंतयुक्त आंखें होती हैं, एक जोड़ी छोटे ऐटेन्यूल, एक जोड़ी लम्बे रोमिल ऐटना, तथा ह्रासित रॉस्ट्रम (reduced rostrum) होता है। तीसरा मैक्सिलीपीड चौड़ा होता है।

;. देखें कि वक्ष में सात जोड़ी उपांग हैं जिनमें से पहले दो आंशिक रूप में कीलायुक्त हैं।

.. शेष उपांगों को खोदने में उपयोग किया जाता है।



चित्र 28.14 : सैंड मोल केकड़े का पृष्ठ एवं अधर दृश्य।

. आप देख सकते हैं कि प्रत्येक वक्ष टांग (उपांग) पर एक गिल लगा हुआ है।

. अंतिम एक या दो जोड़ी उपांग प्रायः छोटे होते हैं और अकसर केरापेस के नीचे छिपे होते हैं।

. ध्यान दें कि उदर न्यूनाधिक रूप में घटा हुआ है तथा नरम भी है और वह अपने ही ऊपर को मुड़ा हुआ-सा है। उदर के प्ल्यूरॉन छोटे होते हैं।

). प्लीयोपॉड (pleopods) नामक प्रथम तीन उदर उपांगों पर तरण उपांग होते हैं जिनसे जल धाराएं पैदा होती हैं और गिल पानी से भीगते रहते हैं। अंतिम तीन को यूरोपॉड (uropod) कहते हैं और वे पश्च दिशा को रूख किए रहते हैं, इनका उपयोग किसी दिशा-विशेष में तीव्रता से झटके की गति पैदा करने में किया जाता हैं।

. इस प्राणी की जल्दी से रेत में घुस जाने की क्षमता से यह ज्वारीय लहरों के थपेड़ों से और परभक्षियों तथा निर्जलीकरण से भी वच जाता है।

ोध प्रश्न 3

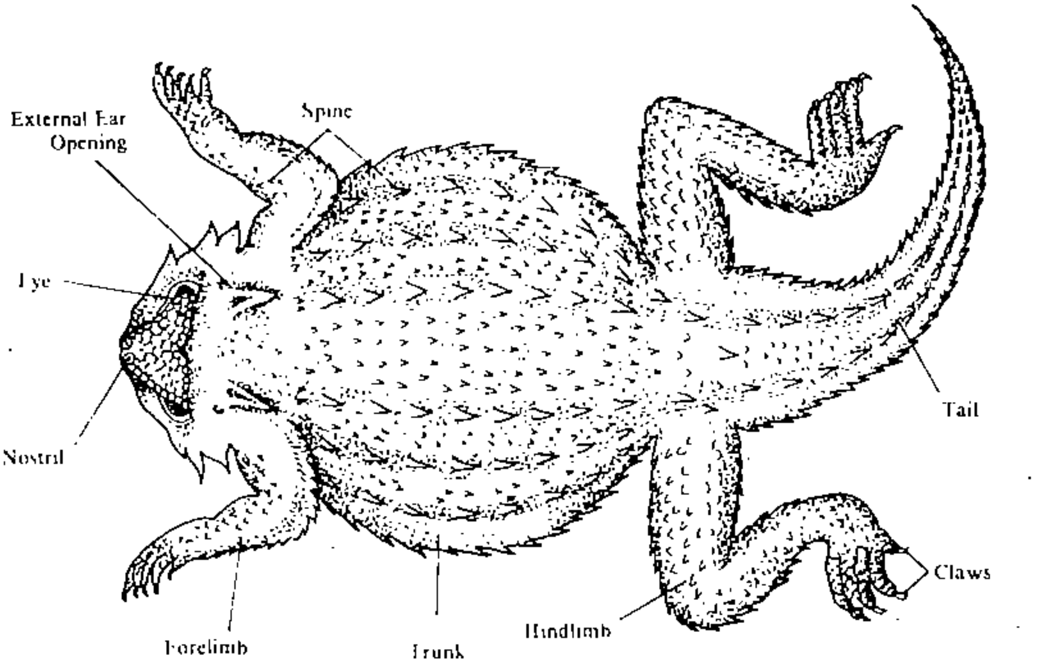
ापने ऐकॉर्न वार्नेकल तथा सैंड-मोल केकड़ा, दोनों को ही देखा। दोनों ही उपफ़ाइलम स्टेशिया के अंतर्गत आते हैं। इन प्राणियों की समानताओं को नोट कीजिए तथा अपने तर को मिलाइए।

्स्टेशिया	देह खंड	उपांग	श्वसन
		जोड़ी ऐंटेना चलन टांगों की भिन्न संख्या	गिलों के द्वारा
कॉर्न वार्नेकल			
ड मोल केकड़ा			

28.8 स्थलीय आवास—मरूस्थल—श्रृंग–टोड

सारणी 28.2 स्थलीय आवास को देखने पर आपको पता चलेगा कि मरूस्थलों में, जो कि शुष्क मंडल होते हैं, ऐसी प्रतिकूल परिस्थितियां होती हैं, जिनसे वहां जीवन चलते रहना असंभव हो सकता था। मगर ऐसा नहीं है। आश्चर्य होता है कि वहां बहुत बड़ी संख्या में प्राणी पाए जाते हैं। इनमें से अधिकतर प्राणी सूखे से बचाव कर लेते हैं और वहां की विकट परिस्थितियों के लिए विशेषतः अनुकूलित हो गए होते हैं। इन प्राणियों के अधिसंख्य अनुकूलनों का संबंध मुख्यतः इन तीन बातों से होता है — जल का संरक्षण, चरम गर्मी तथा ठंड से बचाव तथा आहार प्राप्त करना। अनुकूलन रणनीतियां अलग–अलग प्राणियों में अलग–अलग होती हैं।

हमने श्रृंग–टोड का उदाहरण लिया है, जिसमें हम उसके कठोर मरूस्थलीय अनुकूलनों का अध्ययन करेंगे।



चित्र 28.15 : श्रृंग–टोड इसके शरीर के ऊपर कांटेदार मोटी त्वचा होती है जो इसे एक ओर तो से बचाती है और दूसरी ओर जल की हानि नहीं होने देती।

1. इसे अंगेजी में सामान्यतः श्रृंग–टोड कहते हैं, परंतु वास्तव में यह एक सरीसृप (रेप्टाइल) है।

2. इस सरीसृप के शरीर का अध्ययन कीजिए। इसका शीर्ष पच्चड़ के आकार का होता है जिस पर बड़े–बड़े सींग जैसे शल्क होते हैं। इसकी निचली सतह पर नौतलयुक्त शल्क होते हैं।

3. आप देखेंगे कि त्वचा एक सुरक्षाकारी कवच जैसी है। इसके द्वारा इसे कड़ी गर्म धूप से तो बचत होती है, साथ में कुछ हद तक शत्रुओं से भी बचाव हो जाता है। इसके अलावा यह त्वचा लगभग पूर्णतः अपारगम्य होती है, जिससे सामान्य देह सतह से जल हानि नहीं हो पाती।

4. पृष्ठ सतह पीलापन लिए हुए धूसर होती है और प्राणी के परिवेश के साथ ऐसी

घुल-मिल जाती है कि छद्मापरण के फलस्वरूप वह न तो अपने दुश्मनों को दिख पाता है और न ही अपने शिकार को।

5. शीर्ष पर बने कांटों को गिनिए। आप प्रत्येक पार्श्व पर पांच कांटे पाएंगे – एक पश्च नेत्रकोटरी, तीन टेम्पोरल तथा एक ऑक्सीपिटल।

6. निचले जबड़े के पार्श्व सुव्यक्त कगरों की शक्ल में बाहर को उभरे रहते हैं तथा इन पर भी सुरक्षाकारी छोटे कांटों की श्रृंखला बनी होती है।

7. जीभ मांसल और बाहर को न निकल सकने वाली होती है। पलकें संपूर्ण होती हैं। दांत प्रायः समदंती एवं पार्श्वदंती प्रकार के होते हैं।

8. नासाद्वार ऊपर को मुड़ गए हुए होते हैं तथा उनमें वाल्व होते हैं जो आंधी तूफ़ानों में अथवा रेत में घुसते हुए नासाद्वारों में रेत को घुसने से रोकते हैं।

9. पूंछ छोटी तथा कांटेदार होती है, जैसा आप देख सकते हैं।

10. रेप्टाइल होने के नाते यह असमतापी होता है। परंतु इसके बावजूद यह रेगिस्तान के उच्च तापमानों के लिए अभ्यस्त होकर मरूस्थलीय जीवन के लिए भलीभांति समंजित होता है। इसके लिए जब तक बर्दाश्त हो सके तब तक धूप सेंकता रहता है और बहुत ज़्यादा गर्म हो जाने पर छाया में आ जाता है।

11. धरती की सतह की प्रतिकूल परिस्थितियों से बचने के लिए यह मिट्टी में घुस जाता है तथा अपने श्रृंगयुक्त शीर्ष को बाहर को निकाले रहता है। रात हो जाने पर यह मिट्टी में घुस जाता है। यह रेत में बहुत तेजी से भीतर को घुस जाता है। रेत में घुसने में इसका पच्चड़ की आकृति का शीर्ष खास तौर से उपयोगी होता है।

12. लम्बी अवधि तक बिना पानी के रह सकता है। इसकी कांटेदार तथा लगभग अपारगम्यखाल सामान्य देह सतह से जल की अधिक हानि होने से बचाने में सहायता करती है तथा इसके द्वारा भीतरी आर्द्रता संरक्षित हुई रहती है।

13. यह छोटे कीटों तथा चींटियों का आहार करता है।

14. यह अपने शत्रुओं से बचने के लिए अपनी आंख में से शत्रु की ओर एक सूक्ष्म रक्त धारा छोड़ता है जो दो फुट तक जा सकती है।

15. कान नहीं होते।

बोध प्रश्न 4

श्रृंग-टोड का एक नामांकित आरेख बनाइए।

NOTES

NOTES

NOTES

उत्तर प्रदेश
राजर्षि टण्डन मुक्त विश्वविद्यालय

UGZY/BY-L2

प्रयोगशाला पाठ्यक्रम-II

प्रयोग सूची

1. बीजों की जीवन क्षमता के लिए परीक्षण
2. पौधों में ऑक्सीजन के उद्ग्रहण की दर का मापन
3. पर्ण वर्णकों का क्रोमैटोग्रैफी द्वारा पृथक्करण
4. पृथक्कृत क्लोरोप्लास्टों द्वारा रंजकों का प्रकाशापचयन
5. प्रकाश संश्लेषण पर प्रकाश की गुणवत्ता और तीव्रता का प्रभाव
6. नाइट्रेट आयन और प्रकाश द्वारा नाइट्रेट रिडक्टेस एंज़ाइम का प्रेरण
7. रंध्रों का खुलना और बंद होना, सूक्ष्मदर्शी द्वारा प्रेक्षण
8. पादप ऊतक के जल विभव का मापन
9. जिबरेलिक अम्ल द्वारा जौ के दानों में α-एमिलेस के संश्लेषण का प्रेरण
10. 2, 4-D के प्रभाव से प्रांकुर चोल की दैर्घ्य वृद्धि का प्रेक्षण
11. पराग नलिका का पथ ज्ञात करना
12. अवलम्बी-बिन्दु विधि के प्रयोग द्वारा परागकणों के अंकुरण को देखना
13. भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं का *रेफेनस सेटाइवस* में अध्ययन
14. *कुकुमिस सेटाइवस* के भ्रूणपोष चूषकांग को निकालना
15. आवृतबीजी पौधों के नर और मादा युग्मकोद्भिद का स्थाई स्लाइडों द्वारा अध्ययन
16. कुछ प्रमुख द्विबीजपत्री तथा एकबीजपत्री कुलों का अध्ययन
17. तिलचट्टे के पाचक एंज़ाइमों का सर्वेक्षण
18. तिलचट्टे में श्वसन मापी यंत्र के द्वारा ऑक्सीजन के उपभोग की दर ज्ञात करना
19. मेंढ़क के पादजाल में सूक्ष्मपरिसंचरण का निरीक्षण करना
20. मनुष्य के रक्त में हीमोग्लोबिन, समस्त लाल रक्त कणिकाओं तथा श्वेत रक्त कणिकाओं का आकलन
21. विभिन्न आवासों में रहने वाले जंतुओं के उत्सर्जित पदार्थों के परीक्षण
22. मेंढ़क में पेशी संकुचन का अभिलेखन
23. चूहे/मूषक में प्रजनन और अंतःस्त्रावी अंगों का अध्ययन
24. चूहे/मूषक की योनि आलेप की स्लाइड तैयार करना
25. मेंढ़क के विकास की विभिन्न अवस्थाओं का स्थाई स्लाइडों द्वारा अध्ययन
26. चिक भ्रूण की कोरकचर्म का अभिरंजन तथा आरोपण
27. तैयार स्लाइडों के द्वारा चिक भ्रूणों का अध्ययन
28. अनुकूलनशीलता को विकसित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को प्रदर्शित करते हुए एक प्रयोग
29. उपयोगी अनुकूलनशीलता को रखने और अनुपयोगी अनुकूलनों को निष्कासित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका दर्शाते हुए एक प्रयोग
30. आनुवंशिक विस्थापन की धारणा को दर्शाने के लिए एक प्रयोग
31. पादपालय पर परियोजना कार्य
32. कीड़ों का संग्रह, पहचान तथा प्रतिरक्षण

प्रयोगशाला पाठ्यक्रम - II

इस 4 क्रेडिट की प्रयोगशाला पाठ्यक्रम में आप पादप कार्यिकी (Plant Physiology), प्राणि शरीरक्रियाविज्ञान (Animal Physiology), परिवर्धन जीवविज्ञान (Developmental Biology), वर्गिकी और विकास (Taxonomy and Evolution) से संबंधित प्रयोग करेंगे । प्रयोगों का विषयवार वितरण इस प्रकार है :

	प्रयोग संख्या
पादप कार्यिकी	1 से 10
पादप परिवर्धन जीवविज्ञान	11 से 15
वर्गिकी	16
प्राणि शरीरक्रियाविज्ञान	17 से 24
परिवर्धन जीवविज्ञान	25 से 27
विकास	28 से 30
परियोजनाएँ	31 और 32

पादप कार्यिकी के प्रयोग पौधों में श्वसन, प्रकाशसंश्लेषण, प्रेरण, हॉर्मोनों के प्रभाव और जल-विभव की संकल्पना से संबंधित हैं । आपको कागज वर्णलेखन (paper chromatography) की तकनीक भी सिखाई जाएगी ।

पादप परिवर्धन जीव विज्ञान में जो प्रयोग शामिल किए गए हैं वे हैं : युग्मकों का बनना, निषेचन, भ्रूणपोष का अध्ययन और भ्रूण का परिवर्धन ।

प्रयोग 16 में द्विबीजपत्री और एकबीजपत्री कुलों के प्रतिनिधि पौधों के अभिलक्षणों के अध्ययन से आपको इन कुलों के बारे में विस्तृत जानकारी मिलेगी ।

प्राणि शरीरक्रियाविज्ञान के प्रयोग पाचक एन्ज़ाइमों, श्वसन दर, कोशिकाओं में रक्त परिसंचरण के अध्ययन, हीमोग्लोबिन, लाल रुधिर कणिका और श्वेत रुधिर कणिका के मात्रात्मक अध्ययनों, उत्सर्जी उत्पाद (excretory products), पेशी संकुचन, जनन और अंतःस्रावी अंगों के अध्ययनों से संबंधित है ।

प्राणि परिवर्धन जीवविज्ञान में आप बनी हुई स्लाइडों की सहायता से मेंढक और कुक्कुट भ्रूणों की परिवर्धन अवस्थाओं का अध्ययन करेंगे ।

इस प्रयोगशाला पाठ्यक्रम में दो परियोजनाएं भी शामिल की गई हैं : आप अपने अध्ययन केंद्र के शिविर से पौधों का पादपालय (herbarium) तैयार करेंगे और कीटों का संग्रह करेंगे । हमें आशा है कि आपको इन परियोजनाओं पर कार्य करने में आनन्द आयेगा ।

इं.गां.रा.मु.वि.वि. के अन्य प्रयोगशाला पाठ्यक्रमों की तरह यह पाठ्यक्रम भी एक गहन आवासीय कार्यक्रम है और इसे पूरा करने के लिए दो सप्ताह लगेंगे । 4 क्रेडिट का पाठ्यक्रम होने के नाते यह 120 घंटों में पूरा हो जाना चाहिए । प्रतिदिन चार-चार घंटों के दो प्रयोगशाला सत्र होंगे । प्रत्येक सत्र में आप तीन घंटे के लिए प्रयोगात्मक कार्य करेंगे और बाकी के 1 घंटे में प्रतिवेदन (report) लिख सकते हैं और अपनी किसी भी समस्या को लेकर परामर्शदाता से चर्चा कर सकते हैं या प्रयोगों पर बनी वीडियो फिल्म देख सकते हैं । पहले दिन आपको प्रयोगों की अनुसूची (schedule) दे दी जाएगी ताकि आपको हर रोज जो प्रयोग करना है उसके लिए आप तैयार होकर आ सकें ।

आप जानते हैं कि समय के प्रतिबंध के कारण हम प्रयोगशाला कार्य के लिए आपको सीमित समय ही दे सकते हैं इसलिए हमारी सलाह है कि आप किसी भी प्रयोगशाला सत्र से अनुपस्थित न रहें ।

आपके कार्यनिष्पादन (performance) का प्रतिदिन मूल्यांकन होगा और इस कार्यक्रम के अंतिम दिन 4 घंटे की अवधि की एक परीक्षा होगी । परीक्षा उत्तीर्ण करना भी अनिवार्य है और इसके 30% अंक हैं ।

1 बीजों की जीवन क्षमता के लिए परीक्षण

1.1 प्रस्तावना

बुवाई से पहले यह जान लेना महत्वपूर्ण है कि बीजों का नमूना अंकुरण के लिए पर्याप्त रूप से जीवनक्षम है या नहीं। बीजों की जीवनक्षमता एक सरल परीक्षण द्वारा जांची जा सकती है। सजीव भ्रूण सक्रियता से श्वसन करते हैं जबकि मृत भ्रूण नहीं करते। आपको याद होगा कि श्वसन एंज़ाइमों का एक महत्वपूर्ण समूह **डिहाइड्रोजेनेस** है। इसलिए भ्रूणों में डिहाइड्रोजेनेस की क्रियाशीलता का परीक्षण कर हम बीजों की जीवनक्षमता का निर्धारण कर सकते हैं।

डिहाइड्रोज़ेनेस एंज़ाइमों कोशिकाओं में मैलिक अम्ल और सक्सिनिक अम्ल जैसे श्वसन मध्यवर्तियों से इलेक्ट्रॉनों का NAD^+ या FAD को स्थानांतरण करते हैं (इस क्रिया में अपचयन से $NADH_2$ और $FADH_2$ बनते हैं)अंततः ये इन इलेक्ट्रानों को ऑक्सीजन को स्थानांतरित कर देते हैं और पानी बनता है। यह पूर्ण रूप से ज्ञात है कि पात्रे *(in vitro)* डिहाइड्रोजेनेस इलेक्ट्रॉनों का स्थानांतरण रंजक (dyes) जैसे कृत्रिम इलेक्ट्रॉन ग्राहियों को भी कर सकते हैं जिनका अपचित होने पर रंग बदल जाता है।

इस प्रयोगशाला में, आप 2,3,5 - ट्राईफेनिल टेट्राजोलियम क्लोराइड का प्रयोग करेंगे। डिहाइड्रोजेनेस की क्रिया द्वारा अपचित होने पर जल में अविलय एक लाल ट्राइफेनिल फार्मेजन वर्णक बनता है जो कि जीवनक्षम बीजों का एक सूचक है।

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के बाद आप

- डिहाइड्रोजेनेस की क्रियाशीलता के परीक्षण द्वारा जीवनाक्षम बीजों को जीवनक्षम से अलग कर सकेंगे और
- एक प्रदत्त ऊतक में डिहाइड्रोजेनेस की क्रियाशीलता का पता लगा सकेंगे।

1.2 आवश्यक सामग्री

मटर के बीज जिन्हें रात में भिगोया गया हो

0.1 % 2,3,5 - ट्राइफेनिल टेट्राजोलियम क्लोराइड (TTC)

पेट्रीडिश

चिमटियां

1.3 प्रयोग विधि

1. 50 से 100 बीज रात भर पानी में भीगने के लिए रख दें। इनमें से 25 दानों को बीच से दो भागों में विभक्त कर लें और उन्हें 0.1 % 2,3,5 - ट्राइफेनिल टेट्राजोलियम क्लोराइड (TTC) में डुबो दें। अब भ्रूण की जांच करें। बीजों के उन दानों को अलग कर लें जिनके भ्रूणों का रंग गुलाबी पड़ गया हो।
2. अन्य 25 बीजों को विभाजित करके उबलते पानी में 10 मिनट के लिए छोड़ दें और फिर TTC परीक्षण करें। अब अपने परिणामों को लिख लें।

1.4 परिणाम

नकारात्मक परीक्षण प्रदर्शित करने वाले बीजों की संख्या =

सकारात्मक परीक्षण प्रदर्शित करने वाले बीजों की संख्या =

जीवनक्षम बीजों का प्रतिशत निकालें

$$\text{जीवनक्षम बीजों का प्रतिशत} = \frac{\text{सकारात्मक परीक्षण प्रदर्शित करने वाले बीजों की संख्या} \times 100}{25}$$

उबले बीजों का परीक्षण = +/−

1.5 सावधानियां

टेट्राजोलियम लवण का घोल ताजा तैयार करना चाहिए। यह कुछ ही दिनों के लिए रखा जा सकता है। इसे काली बोतल में ही रखा जाए क्योंकि प्रकाश पड़ने पर यह अपघटित हो जाता है।

बोध प्रश्न

1. उबले बीजों से प्राप्त परिणामों को समझाइए।

   ....

   ....

   ....

2. NADH डिहाइड्रोजेनेस एंज़ाइमों कोशिका के किस भाग में स्थित होता है?

   ....

   ....

   ....

3. TCA चक्र में सम्मिलित चार प्रकार के डिहाइड्रोजेनेस के नाम बताइए?

   ....

   ....

   ....

4. इनमें से कौन सा एंज़ाइम NAD^+ के बजाय FAD को अपचित करता है?

   ....

   ....

   ....

2 पौधों में ऑक्सीजन के उद्ग्रहण की दर का मापन

2.1 प्रस्तावना

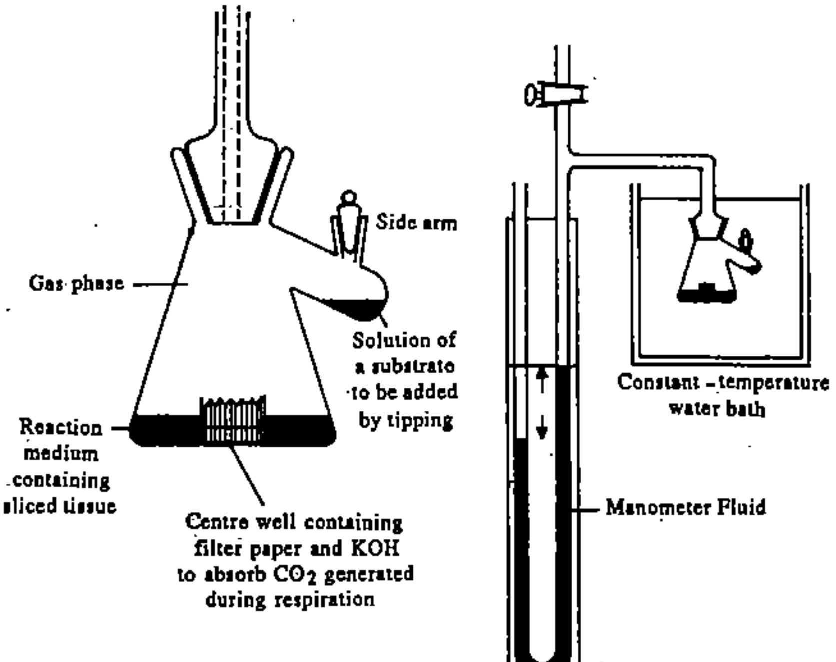
प्रकाश संश्लेषण और श्वसन प्रक्रमों में गैसों का निकास और उद्ग्रहण होता है। ऑक्सीश्वसन के दौरान जीव ऑक्सीजन का उपयोग करते हैं और कार्बन डाइऑक्साइड छोड़ते हैं। ऑक्सीजन कार्बोहाइड्रेट और वसा जैसे श्वसन के सबस्ट्रेटों के ऑक्सीकरण में काम आती है। ग्लूकोस का ही उदाहरण लें जिसका ऑक्सीकरण निम्न समीकरण के अनुसार होता है:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$$

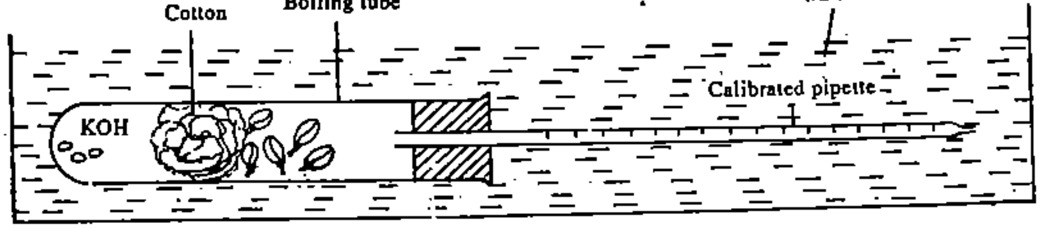
श्वसन के दर की माप, इकाई समय में ग्रहण की गई O_2 या छोड़ी गई CO_2 की मात्रा के निर्धारण द्वारा की जा सकती है।

गैस विनिमय के मापन के लिए साधारणतया वारबुर्ग मैनोमीटर (चित्र 2.1 a) काम में लाया जाता है। स्थिर ताप और आयतन पर यह यंत्र श्वसन कर रहे पौधों या जंतुओं द्वारा ऑक्सीजन के अवशोषण से पैदा होने वाले दाब परिवर्तनों को दर्शाता है। अगर वारबुर्ग मैनोमीटर प्रयोगशाला में न हो तो एक सरल

(a)
Warburg's manometer
(Constant - Volume)

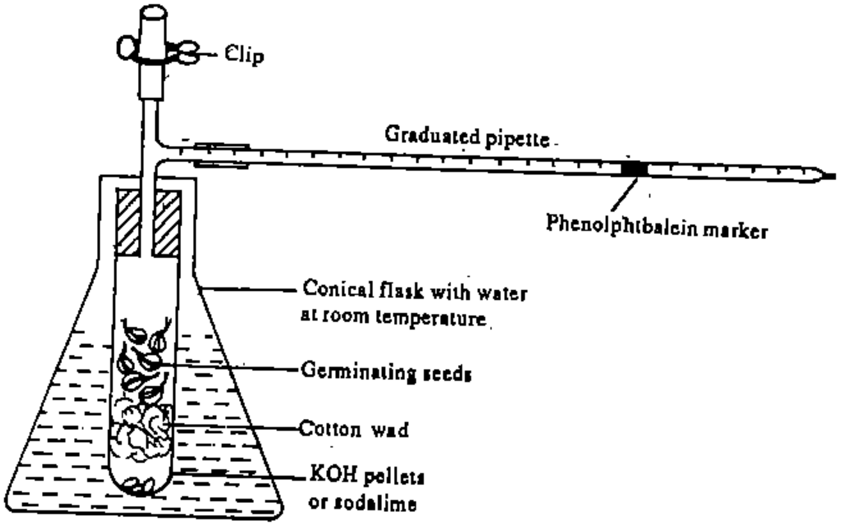


(b)
A simple pipette manometer

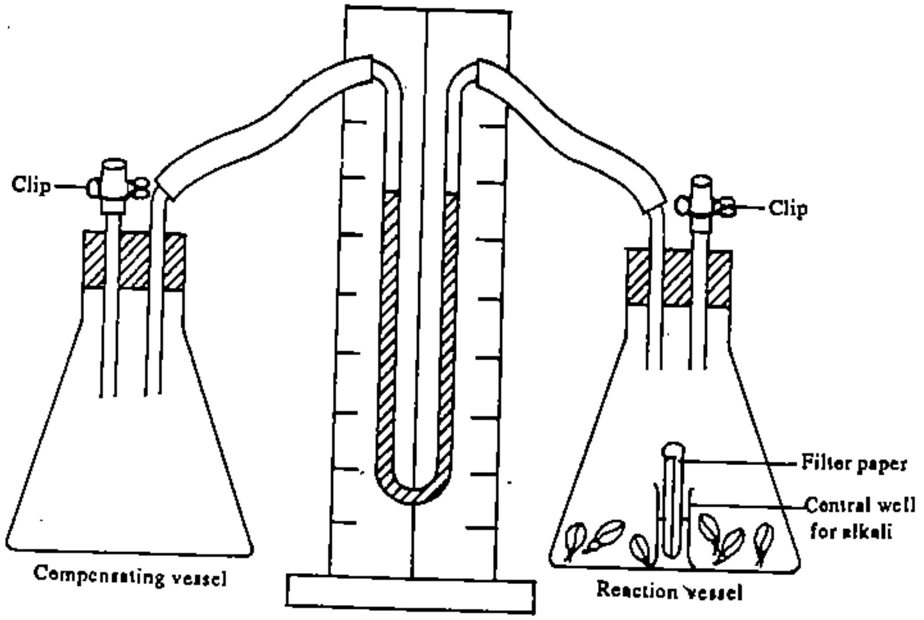


चित्र 2.1 : विभिन्न प्रकार के मैनोमीटर की रचना (a से c तक)

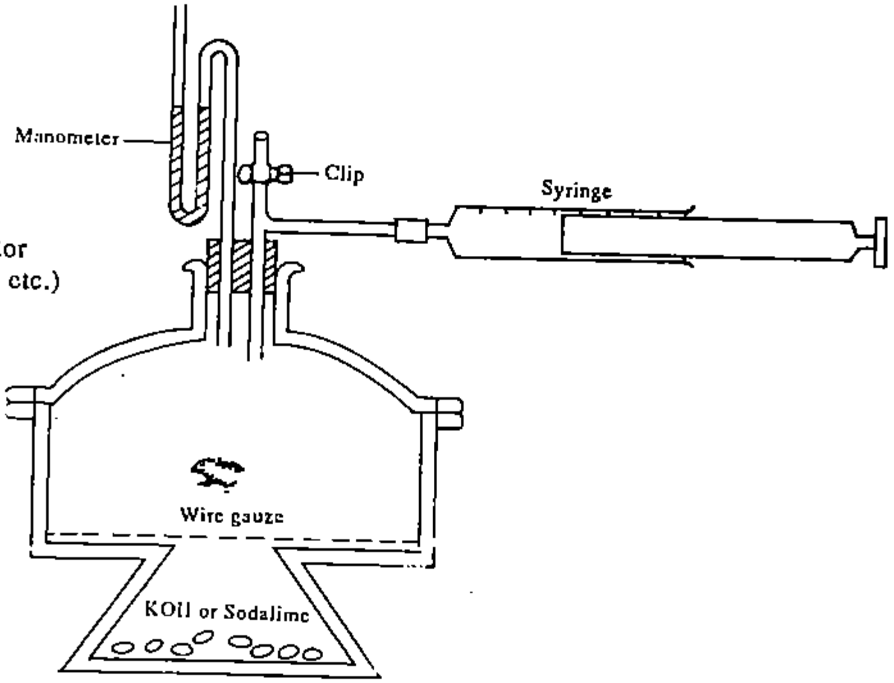
(c)
A simple pipette manometer



(d)
A double chambered manometer (Barcroft)



(e)
Vaccum desiccator manometer (for rats etc.)



पिपेट मैनोमीटर या द्विकक्षीय मैनोमीटर (double chamber manometer) जुटा सकते हैं। यह स्थिर ताप और वायुमंडलीय दाब पर अभिक्रिया के दौरान गैस के आयतन में होने वाली वृद्धि या ह्रास को दर्शाता है। श्वसन कर रहे ऊतक या जीव को एक छोटे वायुरोधी फ्लास्क में बंद किया जाता है। एक लघु नली या किसी दूसरी युक्ति द्वारा फ्लास्क में सांद्रित KOH के घोल को या KOH की टिकिया को रखा जाता है जो मुक्त होने वाली CO_2 को सोख ले। हरे पादप ऊतकों के लिए जरुरी है कि प्रयोग मद्धिम रोशनी में किया जाए जिससे प्रकाश संश्लेषण न हो सके।

शोध कार्यों के लिए गैस विनिमय का मापन एक अत्याधुनिक यंत्र जैसे इंफ्रा-रेड गैस विश्लेषक (infra red gas analyser) या ऑक्सीजन इलेक्ट्रोड द्वारा किया जाता है। चित्र 2.1 में विभिन्न प्रकार के मैनोमीटरों का निर्माण दिखाया गया है।

इस प्रयोग में हम आपको एक सरल मैनोमीटर का प्रयोग करने की सलाह देंगे। हो सकता है कि आपके परामर्शदाता आपको कुछ अलग किस्म का मैनोमीटर दें। पर सभी प्रकार के मैनोमीटर एक ही सिद्धांत पर काम करते हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के बाद आप:

- यह प्रदर्शित कर सकेंगे कि सजीव जड़ें सक्रियता से श्वसन करती हैं,
- एक सरल मैनोमीटर बना सकेंगे और
- पादप ऊतकों में श्वसन की दर को माप सकेंगे।

2.2 आवश्यक सामग्री

क्वथन नली या कठोर कांच से बनी चौड़े मुंह वाली परखनली

अंकुरणशील सेम या गुलाब कलिका या किसी बूटी की जड़ें

T-ट्यूब

रबड़ की डॉट

रबड़ की नली

पिंच क्लिप

2 मिली अंशांकित पिपेट (प्रतिअंश 100 μl)

शंक्वाकार फ्लास्क — 500 मिली

थर्मामीटर

स्टॉप वाच

KOH की टिकिया

फीनॉलफ्थेलिन

2.3 प्रयोग विधि

क जड़ों में श्वसन की क्रिया का प्रदर्शन

(चार-चार) विद्यार्थी समूहों में काम करें।

1 अपने विद्यालय के प्रांगण से दो छोटे पौधे जड़ सहित उखाड़ें। जड़ों को चलते पानी में अच्छी तरह से धो लें।

2 एक पौधे की जड़ों को 5 मिनट के लिए उबलते पानी में डुबो दें।

3 नल के पानी से दो छोटे बीकर भर लें और दोनों में फीनॉलफ्थेलिन सूचक की दो-दो बूंदे डाल दें।

4 एक बीकर में सादी जड़ों को और दूसरे बीकर में उबली जड़ों को डुबो दें।

5 पांच मिनट बाद दोनों बीकरों में फीनॉलफ्थेलिन के रंग का अवलोकन करें।

6 अपने परिणामों को दर्ज कर लें।

फीनॉलफ्थेलिन के रंग में परिवर्तन

सादी जड़ों में	–	हाँ/नहीं
उबली जड़ों में	–	हाँ/नहीं

ख ऑक्सीजन उद्ग्रहण की दर का मापन

(आपके परामर्शदाता मैनोमीटर को समायोजित करना सिखायेंगे)

एक सरल मैनोमीटर का निर्माण

चित्र 2.1 c में एक सरल मैनोमीटर दिखाया गया है। रबड़ की डॉट से जुड़ी T-नली की बीच की भुजा को एक रबड़ नली से 2 मिली वाली अंशांकित पिपेट से जोड़ दिया जाता है। T-नली के मुक्त सिरे पर एक रबड़ की नली लगाई जाती है, जिसे पिंच क्लिप से कस दिया जाता है। इस समाहार को अब एक क्वथन नली (boiling tube) से जोड़ दिया जाता है। इस तरीके से आप मैनोमीटर बना सकते हैं। आइए अब प्रयोग करते हैं:-

1. फिल्टर पत्र के एक टुकड़े में KOH की दो टिकिया लपेट लें और उन्हें परख नली की तली में रख दें। उस पर पानी की कुछ बूंदे डाल दें।
2. KOH को नमूने से अलग रखने के लिए रुई का एक फोया सावधानी से नली में घुसेड़ें (चित्र 1.2 c को देखें) रुई को फिल्टर पत्र से उचित दूरी पर ऊपर रखें।
3. अंकुरशील सेम के 20 दानों को तोलिए और उन्हें रुई के फोये पर रख दीजिए।
4. उपकरण को जोड़िए और उसे कमरे के तापमान पर 500 मिली के शंक्वाकार फ्लास्क में रख छोड़िए जिसमें पानी हो। या फिर इसके लिए कोई दूसरी उपयुक्त नांद या टब काम में लाएं। तापक्रम नापने के लिए अब इसमें थर्मामीटर रख दें। मैनोमीटर के 2 मिली अंशांकित पिपेट पर अंकित चिन्हों का अवलोकन करें और इसके आयतन में न्यूनतम परिवर्तन के जो भी संकेत मिलते हैं उसे μl में परिकलित करें। मान लीजिए 2 मिली की पिपेट 20 अंशों में विभाजित है तो प्रत्येक अंश 100 μl के तुल्य होगा (1ml = 1000 μl)
5. पिंच क्लिप को ढीला कर दें और 5 से 10 मिनट तक साम्यनित (equilibrate) होने के लिए छोड़ दीजिए।
6. रंगीन घोल (फीनॉलफ्थेलिन) की एक बूंद को पिपेट में छोड़ दें। यह बाईं और गमन करने लगेगी। पिंच क्लिप को सावधानी से ढीला करते हुए इस बूंद को एकदम दाएं किसी अंकित चिन्ह पर व्यवस्थित कर दें और नोट कर लें।
7. स्टॉप वाच को चालू करें। शून्य पर और फिर 5,10,15,20 मिनट के अंतराल पर पाठ्यांक लें।
8. μl इकाई में आयतन परिवर्तनों (यानि रंगीन बूंद द्वारा तय की गई दूरी) को आंकलित करें।

2.4 परिणाम

अपने परिणामों को इस प्रकार दर्ज कीजिए :

समय	रंगीन चिन्हक द्वारा तय किये गए अंक	ग्रहण की गई O_2 μl में
0		
5		
10		
15		
20		
25		

1. अंकुरणशील बीजों द्वारा अलग-अलग समय में O_2 के उपभोग (μl) को प्रदर्शित करने के लिए नीचे दिए गए ग्राफ में एक प्लॉट बनाइए।

2. अंकुरणशील बीजों द्वारा ऑक्सीजन उपभोग की दर निकालिए (ग्रहण की गई O_2 μl/g ऊतक/घंटा)

3. अपने मानों की दूसरे छात्र समूहों से तुलना कीजिए जिन्होंने अंकुरणशील बीजों की जगह पुष्प कलिकाओं का प्रयोग किया हो।

2.5 सावधानियां

1 रबड़ की डाट पर ग्रीज न लगाएं। ऐसा करने पर यह क्वथन नली से फिसल कर बाहर निकल आएगी।

2 रबड़ नली की संधियों से हवा लीक नहीं होनी चाहिए।

3 उपकरण का साम्यन करते समय ऊर्ध्व नली को क्लिप न लगायें।

बोध प्रश्न

1. जड़ों के साथ प्रयोग A में फीनॉलफ्थेलिन रंगहीन क्यों हो जाती है?

....

....

2. उबली जड़ों के प्रयोग से भिन्न परिणाम क्यों मिलते हैं?

....

....

3. पिपेट मैनोमीटर की क्वथन नली में KOH की टिकिया क्यों रखी जाती है?

....

....

4. पिपेट में रंगीन घोल की एक बूंद क्यों डाली जाती है?

....

....

5. पिंच क्लिप किस उद्देश्य से लगाई जाती है?

....

....

6. रबड़ नली अगर ऊपर से बंद कर दें तो क्या होगा?

....

....

3 पर्ण वर्णकों का क्रोमैटोग्रैफी द्वारा पृथक्करण

3.1 प्रस्तावना

सजीव वस्तुओं की एक अकेली कोशिका में भिन्न प्रकार के हजारों अणु होते हैं। अगर हम किसी एक अणु का अध्ययन करना चाहें तो उसे शेष अणुओं से अलग करना जरुरी होता है। जैवाणुओं के पृथक्करण और पहचान के लिए एक सबसे कारगर और आम उपयोग में लाई जाने वाली तकनीक क्रोमैटोग्रैफी या वर्णकलेखन है। पिछले पचास वर्षों में विभिन्न प्रकार की क्रोमैटोग्रैफी तकनीकों का विकास और उनमें सुधार किया गया है। इस तकनीक में कुछ परिवर्तन करने के बाद इसे यौगिकों के बड़े पैमाने पर पृथक्करण करने के लिए भी काम में लाया जा सकता है।

उच्च पादपों के क्लोरोप्लास्टों में प्रकाशसंश्लेषी वर्णक होते हैं जिनमें मुख्य रूप से क्लोरोफिल *a* और *b* व दो कैरोटिनाइड - β कैरोटिन और जैन्थोफिल होते हैं। ये वर्णक लिपिड द्विस्तर में थाइलैकॉइड झिल्लियों में वर्णक प्रोटीन सम्मिश्र के रुप में स्थित होते हैं। क्रोमोप्लास्ट में भी कैरोटिनाइड मौजूद रहते हैं, जो फूलों की रंग बिरंगी पंखुड़ियों और फलों में पाए जाते हैं। इन वर्णकों को कार्वनिक विलायकों के द्वारा निष्कर्षित किया जा सकता है।

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के बाद आप :

- पत्तियों से वर्णकों को निष्कर्षित कर सकेंगे,
- पेपर क्रोमैटोग्रैफी द्वारा पर्ण वर्णकों को अलग कर सकेंगे और
- ऐमीनो अम्ल और शर्करा जैसे दूसरे कार्बनिक यौगिकों के पृथक्करण के लिए पेपर क्रोमैटोग्रैफी की तकनीक का प्रयोग कर सकेंगे।

3.2 आवश्यक सामग्री

लॉन में उगाई जाने वाली ताजा घास *(Cyanodon)*

पृथक्कारी कीप (25 मिली)

पानी की नांद

फिल्टर पेपर (व्हटमैन 5 MM या व्हटमैन 1)

पेट्रोलियम ईथर

ठोस सोडियम सल्फेट

आसुत जल

गलनांक के लिए उपयोग में लाई जाने वाली केशिका नलिका या महीन पेंटिंग ब्रुश

नमूना रखने वाले जार जिनका ढक्कन हो या ढक्कन वाले गैस संग्राहक जार

3.3 प्रयोग विधि

क वर्णकों का निष्कर्षण

(प्रयोग के इस हिस्से को आपके परामर्शदाता कर के दिखायेंगे)

1. प्रति विद्यार्थी के लिए 10 ग्राम सूखी पत्तियों के हिसाब से (1 इंच लंबी 10 पत्तियां) एक छोटे से फ्लास्क में लें और उसमें 90% ऐसीटोन की 5 मिली मात्रा मिलाएं। अब इसमें चुटकी से कुछ कम ही मात्रा में $CaCO_3$ मिला दें। इसे निष्कर्षण के लिए उबलते नांद में ध्यानपूर्वक रखें। साफ सत्व प्राप्त करने के लिए तरल को निथार लें। निष्कर्ष या सत्व को एक छोटी पृथक्कारी फनल में लेकर उसमें 10 मिली पेट्रोलियम ईथर डाल दें । इसे 30 सेकंड तक धीरे से घुमाकर मिलाएं। फिर इसे 10 मिली आसुत जल से धो लें। फनल को एक स्टेंड पर रख दें ताकि यह निथर जाए। जलीय ऐसीटोन स्तर को निकाल कर उसे फैंक दीजिए। पेट्रोलियम ईथर स्तर को एक परखनली में लें और उसमें 1 ग्राम ठोस सोडियम सल्फेट मिला कर उसे निथरने के लिए

कुछेक मिनट के लिए छोड़ दें। तरल को एक छोटे बीकर में उलट लें और इसे अब क्रोमैटोग्रैफी के लिए काम में लाएं।

वर्णक सत्व को प्रतिदीप्ति के प्रेक्षण और वर्णकों के अवशोषण स्पेक्ट्रम के निर्धारण के लिए बचा कर रखें।

ख क्रोमैटोग्राम को चलाना

1 नमूना जार को पेट्रोलियम ईथर और ऐसीटोन के (9:1 के अनुपात में) मिश्रण से 1 सेमी तक भर लें। इसे ढक्कन से बंद कर विलायक के वाष्पन से संतृप्त हो जाने के लिए छोड़ दें।

2 ह्वटमैन 1 फिल्टर पत्र की एक 20 सेंमी लंबी और 2.5 सेंमी चौड़ी (या नमूना जार की लंबाई के अनुसार) पट्टी काटें। पेंसिल से 2.5 की दूरी पर इस पर एक रेखा खींचे। किसी महीन पेंटिंग ब्रुश या केशिका नली से सावधानीपूर्वक इस रेखा पर नमूना लगाएं। सूखने पर नमूना उसी रेखा पर दुबारा लगाएं। इस प्रक्रम को तब तक दोहराते रहिए जब तक कि नमूने का एक अच्छा सांद्रण (एक गहरी हरी रेखा) न बन जाए। ध्यान रहे कि नमूना फैले नहीं। यह बस एक महीन हरी रेखा भर हो।

3 जार के बीचों बीच में पट्टी को रखने के लिए एक वर्गाकार थोड़ा मोटा पत्र लें जो जार के मुंह से कुछेक इंच बड़ा हो। इसे मोड़ लें और उसकी तहों के बीच पट्टी को तह की रेखा के अवलंब रख दें। एक पेपर क्लिप से उन्हें पिन कर लें। तह लगे किनारों को खोल लें। अब पट्टी को जार में लटकाकर मोटे पत्र को जार के मुंह से ऊपर रखा जा सकता है। आप पत्र को लटकाने के लिए कोई और युक्ति भी काम में ला सकते हैं या इसे गोंद लगे कागज पर चिपका सकते हैं।

4 जार को खोलिए और पट्टी को सावधानी से उसमें लटका दीजिए। ध्यान रहे कि पट्टी का निचला छोर विलायक में डूबा तो रहे मगर वर्णक ऊपर ही रहे। पत्र जार की भित्तियों को न छू पाए। जार को निश्चल छोड़ दें। समय-समय पर विलायक के अग्रांत को देखें और इसे चलने दें जब तक कि विलायक अग्रांत पत्र के ठीक शीर्ष छोर से 1 या 2 सेंमी कम न पहुंच जाए या जब तक अलग अलग घटक चार बिल्कुल स्पष्ट पट्टियों के रूप में पृथक न हो जाए।

5 क्रोमैटोग्राम को सावधानी से बाहर निकाल लें और उसे सुखा लें। तत्काल ही आप विलायक अग्रांत को चिह्नित कर लें और वर्णकों पर घेरा लगा दें। सूखने पर वर्णक बड़ी तेजी से अपना रंग खोने लगते हैं।

ग प्रतिदीप्ति का प्रेक्षण

1 एक परखनली में ऐसीटोन सत्व रखें और इसे पारगत प्रकाश के सामने प्रेक्षण करें। घोल का रंग कैसा है?

....

2 अब इसी घोल को अपने पीछे से आने वाले प्रकाश यानि परावर्तित प्रकाश में देखें। आप क्या रंग देखते हैं?

....

घ वर्णकों के अवशोषण स्पेक्ट्रम का निर्धारण

(यह आपके परामर्शदाता करके दिखायेंगे)

3.4 परिणाम

वर्णकों को उनके रंगों से पहचानिए। क्रोमैटोग्राम का चित्र बनाइए और यथेष्ट रंगों का प्रयोग कर वर्णकों को दर्शाइए (यह काम रंगीन पैंसिल या क्रेयान(crayon) से कर सकते हैं)।

वर्णकों के Rf मान नीचे दर्ज कीजिए।

वर्णक	रंग	Rf मान
क्लोरोफिल *a*	नीला हरा	
क्लोरोफिल *b*	हरा	
β कैरोटिन	पीला	
ज़ैन्थोफिल	पीला भूरा	

आधार रेखा से हरेक बिंदु के केंद्र तक की दूरी नाप लें। हरेक बिंदु के लिए Rf मान निकालें।

$$Rf = \frac{\text{वर्णक द्वारा आरंभ से चली गई दूरी}}{\text{विलायक द्वारा चली गई दूरी}}$$

अगर आपको अतिरिक्त वर्णकों की पट्टियां दिखें, तो वे क्लोरोफ़िलाइड (chlorophyllide-हरे रंग का) और फ़िओफ़ीटिन (Phaeophytin-पीला धूसर रंग का) की वजह से हो सकती है। ये पृथक्करण प्रक्रम के दौरान बनने वाले क्लोरोफिल के खंडित उत्पाद हैं। प्रयोग के दौरान कोई भी समस्या सामने आए तो उसकी नीचे चर्चा करें। क्रोमैटोग्राम का चित्र नीचे दिये गये खाली स्थान में बनायें।

3.5 सावधानियां

1. क्रोमैटोग्राम को एक ही छोर से पकड़े रहें ताकि उस पर उंगलियों के निशान नहीं लग पाएं।
2. वर्णक की एक बिल्कुल छोटी मगर सांद्रित रेखा प्राप्त करने की कोशिश कीजिए।
3. प्रयोग के लिए एक धुंधला कोना चुनिए। वर्णक घोल और क्रोमैटोग्राम को प्रकाश से दूर रखिए क्योंकि प्रकाश द्वारा वर्णक खंडित हो जाते हैं।
4. जार विलायक से संतृप्त होना चाहिए। इसलिए क्रोमैटोग्राम को लटकाने के समय के अलावा जार को ढक्कन के बिना नहीं छोड़ें। पेट्रोलियम ईथर तेजी से वाष्पित होता है यह पलक झपकते ही गायब हो जाएगा।
5. विलायक पेपर के अंतिम छोर से बाहर न निकले।

बोध प्रश्न

1. वर्णकों के निष्कर्षण के दौरान हम $CaCO_3$ क्यों मिलाते हैं?

   ....

2. वर्णक सत्व में हम Na_2SO_4 क्यों मिलाते हैं?

   ....

3. वर्णकों के रंगों से पूर्वानुमान लगाइए कि कौन से प्रकाश में वे अवशोषण शिखर दिखायेंगे?

   ....

   ....

   ....

4. प्रकाश संश्लेषण में कैरोटीन की क्या भूमिका है?

....

....

5. क्लोरोफिल *a* और क्लोरोफिल *b* में क्या रसायनिक भिन्नता होती है?

....

....

6. वर्णक जल में घुलनशील क्यों नहीं होते?

....

....

7. पेट्रोलियम ईथर निष्कर्ष या सत्व में जलीय मेथैनैल मिलाने पर क्लोरोफिल *b* और जैन्थोफिल इस स्तर में घुल जाते हैं, मगर क्लोरोफिल *a* और कैरोटिन पेट्रोलियम ईथर में ही बने रहते हैं, यह क्या बताता है?

....

....

8. निम्न में प्रकाश के कौन से रंग प्रकाश संश्लेषण के लिए सबसे अधिक काम में आते हैं?

   i) हरा

   ii) नीला और लाल

   iii) पीला

   iv) बैंगनी और पीला

9. पतझड़ की पत्तियों का लाल, नारंगी और पीला भूरा रंग निम्न में से किन की उपस्थिति की वजह से होता है?

   i) क्लोरोफिल *a*

   ii) क्लोरोफिल *b*

   iii) कैरोटिनाइड

10. पीछे से प्रकाश आने पर आपको सत्व या निष्कर्ष का रंग लाल क्यों दिखाई देता है?

....

....

4 पृथक्कृत क्लोरोप्लास्टों द्वारा रंजकों का प्रकाशापचयन

4.1 प्रस्तावना

प्रकाश संश्लेषण के प्रक्रम में, प्रकाश की उपस्थिति में जल के विघटन (photolysis) से ऑक्सीजन और इलेक्ट्रॉन मुक्त होते हैं जो इलेक्ट्रॉन वाहको की एक श्रृंखला - साइटोक्रोम, प्लैस्टोक्विनोन और फेरिडॉक्सिन से गुजरते हैं और अंततः $NADP^+$ को NADPH में अपचयित कर डालते हैं। रॉबिन हिल और उनके सहयोगियों ने 1937 में सबसे पहले पृथक्कृत क्लोरोप्लास्ट के प्रदीप्त निलंबन में फेरिसायनाइड जैसे कृत्रिम इलेक्ट्रॉन ग्राहियों द्वारा O_2 का विमोचन दिखाया था। फेरिसायनाइड जल के प्रकाश अपघटन से फेरोसायनाइड में अपचयित हो जाता है। इस प्रयोग से यह साबित हो गया कि कृत्रिम इलेक्ट्रॉन ग्राही प्राकृतिक रूप से पाये जाने वाले ग्राहियों की जगह काम में लाए जा सकते हैं। रंजकों के क्लोरोप्लास्ट द्वारा प्रकाशापचयन को आमतौर से हिल अभिक्रिया (Hill reaction) कहते हैं। इस प्रयोग में आप पृथक्कृत क्लोरोप्लास्ट द्वारा 2,6 - डाइक्लोरोफीनॉल इंडोफीनॉल नाम के एक कृत्रिम इलेक्ट्रॉन ग्राही के प्रकाशापचयन का अध्ययन करेंगे।

ऑक्सीकृत रूप (क्विनोन रूप) में यह ग्राही नीले रंग का होता है। मगर अपचयित होने पर रंगहीन (फीनॉल रूप) यौगिक बन जाता है।

$$2\ \text{DCPIP (नीला)} + H_2O \xrightarrow[\text{क्लोरोफिल}]{\text{प्रकाश}} \underset{\text{रंगहीन}}{2\ \text{DCPIP} - H_2} + \frac{1}{2}O_2$$

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के बाद आप :

- पत्तियों से क्लोरोप्लास्टों को पृथक कर सकेंगे और
- पृथक्कृत क्लोरोप्लास्टों के प्रदीप्त निलंबन द्वारा रंजक के प्रकाशापचयन को प्रदर्शित कर सकेंगे।

4.2 आवश्यक सामग्री

इन पौधों में किसी एक की 30 ग्राम पत्तियां –एमारेन्थस *(amaranthus)* म्यूर्सा *(mursa)* हरी पत्तागोभी, फूलगोभी की पत्तियां या पालक

0.5 M सुक्रोस

0.4 M फ़ॉस्फेट बफर

0.1 %, 2,6-डाइक्लोरोफीनॉल इंडोफीनॉल (DCPIP)

किलारी वस्त्र (cheese cloth), नाइलॉन या महीन मलमल

हावन दस्ता (mortar and pestle)

हिमकुंडक (ice bucket)

अपकेंद्रण, (centrifuge)

4.3 प्रयोग विधि

क क्लोरोप्लास्टो का पृथक्करण

(चार-चार छात्र मिल कर काम करें)

1 प्रयोग से पहले पत्तियों को रात भर के लिए अंधेरे में रख छोड़ें। क्लोरोप्लास्टों की क्रियाशीलता को बनाए रखने के लिए विभिन्न विलायकों, पत्तियों, हावन दस्ता और कांच के सामान को 0° से ताप पर प्रशीतन के लिए रख दीजिए।

2 धुली और पूर्वशीतित 30 ग्राम पत्तियां लें और उन्हे हिम कुंडक में रख कर ठंडे किए गए हावन दस्ते में 40 मिली हिमशीत 0.5 M सुक्रोस के साथ पीस लें।

3. किलारी वस्त्र या मलमल की चार तहें बना कर उससे इस समांगीकृत मिश्रण को छान लें। इस

निस्यंदनित (filtrate) को एक प्रयोगशालायी अपकेन्द्रण यंत्र में 5 मिनट तक 500 × g पर अपकेन्द्रण करें। प्रयोगशाला के अपकेन्द्रण की अधिकतम गति 3000 rpm होती है।

4 अधिप्लावी (supernatant) को निकाल फेंके और पेलेट को 3 मिली सुक्रोस घोल में लटका दें और उसका 2000 × g पर फिर अपकेन्द्रण करें। पेलेट को फिर से लटका दें। इसे फ्रिजर में या हिम कुंडक में रख छोड़ें। ध्यान रहे कि रोशनी से ये दूर, अंधेरे में हों।

ख रंजक का प्रकाशापचयन

1 तीन परखनलियां लें और उन्हें 1 से 3 तक अंकित करें। हरेक परखनली में 8 मिली 0.4 M फ़ॉस्फ़ेट बफर (pH 6.5) डाल दें।

2 अब परखनली 1 और 2 में 1 मिली क्लोरोप्लास्टों का निलंबन लें और उसमें 0.1 % रंजक घोल मिला दें। परखनली 1 को प्रकाश और 2 को अंधेरे में रख दें ।

3 1 मिली क्लोरोप्लास्ट निलंबन को 5 मिनट तक उबलते पानी में रख दें। इसे परखनली 3 में बफर के साथ मिला दें और अब उसमें 1 मिली रंजक घोल डाल दें। 10 मिनट बाद तीनों परखनलियों में रंग परिवर्तन का प्रेक्षण करें।

अगर अपकेन्द्रण यंत्र सुलभ न हो तो निस्यंदनित को सीधे ही DCPIP के अपचयन के लिए काम में लाया जा सकता है।

4.4 परिणाम

अपने परिणामों को इस प्रकार दर्ज करें :

परखनली संख्या	क्लोरोप्लास्टों का निलंबन	अभिक्रिया	रंजक के रंग में परिवर्तन
1	सादा (यानि अनाभिक्रियत)	प्रकाश	हाँ/ना
2	सादा (यानि अनाभिक्रियत)	अंधेरा	हाँ/ना
3	उबला	प्रकाश	हाँ/ना

4.5 सावधानियां

1 पत्तियों को प्रयोग में लाने से पहले रात भर के लिए अंधेरे में छोड़ दें।

2 सभी विलायकों, सामग्रियों और क्लोरोप्लास्टों के पृथक्करण के काम में आने वाले उपकरणों को पृथक्करण से पहले और उसके दौरान शीतित रखें।

3 जितना संभव हो सके उतनी जल्दी विभिन्न कार्य संपन्न कर लिए जाएं।

4 पत्तियों को हल्के से पीसें।

बोध प्रश्न

1 क्लोरोप्लास्टों के पृथक्करण के लिए उपकरण और घोल का द्रुतशीतन करना क्यों जरुरी है?

....

....

2 अंधेरे में रखे गए क्लोरोप्लास्टों द्वारा रंजक का अपचयन क्यों नहीं होता?

....

....

3 पृथक्कारी मिश्रण में सुक्रोस क्यों मिलाया जाता है?

....

....

4 पीसाई को अल्पतम रखना क्यों जरुरी है?

....

....

5 प्रकाश संश्लेषण पर प्रकाश की गुणवत्ता और तीव्रता का प्रभाव

5.1 प्रस्तावना

प्रकाश संश्लेषण जैसे जटिल प्रक्रम को हम निम्न सामान्य समीकरण में सारबद्ध कर सकते हैं:

$$6\,CO_2 + 12\,H_2O \xrightarrow[\text{क्लोरोफिल}]{\text{प्रकाश}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O$$

प्रकाश संश्लेषण की दर को हम CO_2 के ग्रहण या O_2 के मोचन को नापकर मालूम कर सकते हैं। इस प्रयोग में आप प्रकाश संश्लेषण के द्वारा बनने वाली O_2 के आयतन को एक मैनोमीटर का प्रयोग करके मापेंगे। चूंकि श्वसन प्रक्रम के दौरान O_2 ग्रहण की जाती है और यह प्रक्रिया अंधेरे और प्रकाश दोनों में ही होती है, इसलिए प्रकाश संश्लेषण की प्रेक्षित दर संशोधित करने के लिए एक कंट्रोल प्रयोग अंधेरे में किया जाता है। जिससे हम श्वसन के दौरान ऑक्सीजन उद्ग्रहण की दर को जान लेते हैं।

प्रकाश संश्लेपण की दर को तीन पर्यावरणीय कारक प्रभावित करते हैं। ये हैं - प्रकाश की गुणवत्ता और तीव्रता, CO_2 का सांद्रण और तापक्रम। इस प्रयोग में आप सेम के पौधे में प्रकाश संश्लेपण की दर पर प्रकाश की गुणवत्ता और तीव्रता के प्रभाव के बारे में जानेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के याद आप :

- प्रकाश की भिन्न स्थितियों में प्रकाश संश्लेषण की दर की माप कर सकेंगे।

5.2 आवश्यक सामग्री

किसी भी पौधे को नई ताजा हरी पत्तियां

पिपेट मैनोमीटर (प्रयोग 2 के लिए तैयार किए गए उपकरण को लें)

टेयल लैंप – आंतरिक परावर्तक युक्त व 60 वाट वाला बल्य,

1 % सोडियम बाईकार्बोनेट का विलयन

फ्लास्क (500 मिली)

थर्मामीटर

स्टॉप वाच

रुई का फोया

काले पेपर की एक वड़ी शीट

कार्क वेधक (cork borer 1 cm)

5.3 प्रयोग विधि

(विद्यार्थी चार-चार के समूहों में यह प्रयोग करें)

श्वसन की दर की माप में प्रयुक्त होने वाले सरल पिपेट मैनोमीटर को प्रकाश संश्लेषण के इन तीनों प्रयोगों में इस्तेमाल किया जायेगा।

क प्रकाश संश्लेषण की दर का मापन

1. मैनोमीटर को अच्छी तरह से साफ कर लें और उसे सुखा लें।
2. परखनली में 2 मिली 1 % सोडियम बाइकार्बोनेट का घोल डालें। ध्यान रहे कि यह परखनली की दीवार को न लगे। इस घोल को अलग करने के लिए नली में रुई का एक फोया घुसेड़ दें।
3. एक सेंमी व्यास के कार्क वेधक से पत्तियों की अनेक डिस्क काट कर पेट्रीडिश में रखें इन्हें नम रहने के लिए अंधेरे में रख दें। पत्ती का एक टुकड़ा लंबवत परखनली में रुई के फोये पर रखें।

4. उपकरण को जोड़ कर 500 मिली के फ्लास्क में रखें जिसमें कमरे के ताप पर पानी भरा हो। फ्लास्क को काले पेपर से अच्छी तरह से ढक लें। इसे 5 से 10 मिनट तक साम्यन होने के लिए छोड़ दें।

5. पिपेट में चिन्हक रंजक की एक बूंद डालें और उसे एकदम दाएं बने एक चिन्ह पर व्यवस्थित करें।

6. स्टॉप वाच चालू करें और तत्काल पिपेट पर पाठ्यांक ले। फिर 5 और 10 मिनट के अंतराल पर पाठ्यांक लें।

7. अब काले पेपर को कुछ इस तरह से व्यवस्थित करें कि एक ऊर्ध्व छिद्र (vertical slit) बन जाए और पत्ती पर स्रोत से प्रकाश पड़ने लगे। प्रकाश स्रोत को उपकरण से 10 सेमी की दूरी पर रखें।

8. चिन्हक बूंद को एक दम बाएं बने एक चिन्ह पर व्यवस्थित करें।

9. पहले शून्य समय पर और फिर 5,10,15,20 और 25 मिनट के अंतराल पर पाठ्यांक लें।

समय मिनटों में	अंधकार में ग्रहण की गई O_2 µl में	प्रकाश में बनी O_2 µl में
0		
5		
10		
15		
20		
25		

ख प्रकाश संश्लेषण की दर पर प्रकाश गुणवत्ता का प्रभाव

1. प्रकाश स्रोत को हरे, नीले या लाल सेलोफ़ान पेपर से ढक दीजिए और अब पूर्व प्रयोग की तरह पाठ्यांक लें।

समय मिनटों में	हरे प्रकाश में बनी O_2 µl में	नीले प्रकाश में बनी O_2 µl में	लाल प्रकाश में बनी O_2 µl
0			
5			
10			
15			

ग प्रकाश संश्लेषण की दर पर प्रकाश तीव्रता का प्रभाव

1. प्रकाश स्रोत और पर्ण डिस्क के बीच में जल से भरा एक बीकर रख दें। प्रकाश स्रोत को पत्ती के नमूने से 10, 15, 20, 30, 40, और 50 सेमी की दूरी पर हटाकर पहले की तरह पाठ्यांक लें। (प्रकाश तीव्रता वर्ग दूरी के विलोमानुपाती होता है $= I \propto \frac{1}{d^2}$) पांच-पांच मिनट के अंतराल पर दो से तीन पाठ्यांक एक ही तीव्रता पर लें।

प्रकाश स्रोत की दूरी सेमी में	बनी O_2 का µl/5 मिनट	बनी O_2 का µl/10 मिनट	बनी O_2 का µl औसत
10			
20			
30			
40			
50			

5.4 परिणाम

निम्न प्लॉट बनाएं :

1. स्थिर प्रकाश स्रोत में बनी O_2 के μl/मिनट/पत्ती के वर्ग सेंमी

2. विभिन्न प्रकाश तीव्रता ($\frac{1}{d^2}$) में बनी O_2 के μl /मिनट/पत्ती के वर्ग सेंमी

प्रकाश संश्लेषण की दर निकालें,

$$\text{दर} = \frac{\text{बनी } O_2 (\mu l) + \text{अंधेरे में ग्रहण की गई } O_2 (\mu l)}{\text{पत्ती का भार (ग्राम में)} \times \text{समय (घंटों में)}}$$

जब प्रकाश के विभिन्न रंगों का प्रयोग किया गया हो तो प्रकाश संश्लेषण की दर को बढ़ते क्रम में दर्शाएं।

....

5.5 सावधानियां

1. ध्यान रहे कि पिपेट क्षैतिज स्थिति में हो।
2. समूची प्रणाली वायुरोधी हो। प्रयोग करने से पहले जांच कर लें (प्रयोग 2 देखिए)।
3. रबड़ की डॉट पर ग्रीज न लगाएं।
4. उपकरण का साम्यन करते समय पिंच क्लिप को ढीला छोड़ दें।
5. उपकरण का साम्यन पाठ्यांक लेने से पहले कर लिया जाए।
6. प्रकाश स्रोत और नमूने के बीच में पानी से भरा एक बीकर अवश्य रखें।

बोध प्रश्न

1. रात, सुबह, दोपहर और शाम को पौधे और वातावरण के बीच गैस विनिमय का पैटर्न क्या होगा?

   ....

   ....

   ....

2. परखनली में सोडियम बाइकार्बोनेट क्यों लिया जाता है?

   ....

   ....

3. श्वसन के दौरान चिन्हक पिपेट के एकदम दाएं और प्रकाश संश्लेषण के दौरान एकदम बाएं क्यों रखा जाता है?

   ....

   ....

6 नाइट्रेट आयन और प्रकाश द्वारा नाइट्रेट रिडक्टेस एंजाइम का प्रेरण

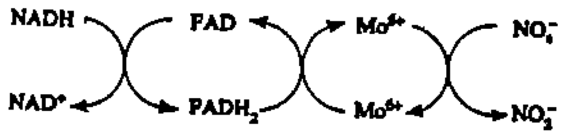
6.1 प्रस्तावना

अधिकतर पौधे मिट्टी से नाइट्रेट आयन या अमोनियम आयन के रूप में नाइट्रोजन प्राप्त करते हैं। अवशोषित नाइट्रेट वाष्पोत्सर्जन धारा के साथ जड़ों से ऊपर पत्तियों की ओर गमन करता है, जहाँ यह अमोनिया में अपचयित हो जाता है। इस अपचयन में दो चरण आते हैं :

$NO_3^- + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow NO_2^- + H_2O$
नाइट्रेट नाइट्राइट

$NO_2^- + 7\,H^+ + 6\,e^- \longrightarrow NH_3 + H_2O$
नाइट्राइट अमोनिया

नाइट्रेट के नाइट्राइट में रूपांतरण को नाइट्रेट रिडक्टेस नामक एंज़ाइम उत्प्रेरित करता है। यह एंज़ाइम एक मॉलिब्डो फ्लैवोप्रोटीन (molybedo flavoprotein) है। मॉलिब्डेनम और FAD दोनों ही इलेक्ट्रॉन वाहक का काम करते हैं। नाइट्रेट के नाइट्राइट में अपचयन के लिए हाइड्रोजन ऑयनों और इलेक्ट्रॉनों की आपूर्ति NADH द्वारा की जाती है। नाइट्राइट के अमोनिया में रूपांतरण को नाइट्राइट रिडक्टेस एंज़ाइम करता है।



NO_3^- आयनों की अनुपस्थिति में पौधों में नाइट्रेट रिडक्टेस की क्रियाशीलता देखने में नहीं आती। मगर वे इस एंज़ाइम का संश्लेषण कर सकते हैं बशर्ते उनके वृद्धि माध्यम के साथ नाइट्रेट की आपूर्ति की जाए। दूसरे शब्दों में, नाइट्रेट आयन खुद ही नाइट्रेट रिडक्टेस को प्रेरित कर सकता है

इस एंज़ाइम का संश्लेषण प्रकाश द्वारा नियंत्रित होता है। यह भी प्रमाणित किया जा चुका है कि एंज़ाइम का संश्लेषण प्रकाश रूपांतरकारी वर्णक फ़ाइटोक्रोम द्वारा मध्यस्थ होता है।

इस प्रयोग के पहले भाग में आप पत्तियों में नाइट्रेट रिडक्टेस की क्रियाशीलता की उपस्थिति की जांच करना सीखेंगे। उसके बाद आप NO_3^- आयन और प्रकाश द्वारा *हाइड्रिला* में एंज़ाइम के प्रेरण का अध्ययन करेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- नाइट्रेट रिडक्टेस एंज़ाइम की उपस्थिति का परीक्षण कर सकेंगे और
- नाइट्रेट आयन और प्रकाश द्वारा एंज़ाइम के प्रेरण का अध्ययन कर सकेंगे।

6.2 आवश्यक सामग्री

सात दिन की गेहूं की पौद

शीर्षस्थ कलिका युक्त *हाइड्रिला* पौधा

0.1 % KNO_3

5 मिली प्रोपेनॉल

सल्फेनिल एमाइड (तनु 1% HCl में)

N-(1-नैफ़िथल) ऐथिलीन डाइऐमीन हाइड्रोक्लोराइड

तेज धार वाली ब्लेड

परखनलियां

चिमटियां

6.3 प्रयोग विधि

क नाइट्रेट रिडक्टेस के लिए परीक्षण

1. दो परखनलियों को 1 और 2 अंकित करें। हरेक में 5 मिली KNO_3 और प्रोपेनॉल की 5 बूंदे डाल दें। अब हरेक परखनली में छोटी छोटी कतरनों में कटी 1 वर्ग सेंमी गेहूं की पत्ती को डाल दें।
2. एक परखनली (1) को प्रकाश में दूसरी (2) को अंधेरे में 15 से 30 मिनट तक रख छोड़ें।
3. बाद में पत्तियों की कतरनों को चिमटी से निकाल दें और 1 मिली सल्फैनिलएमाइड डालें। इसके बाद 1 मिली N- एथिलीन डाइऐमीन हाइड्रोक्लोराइड डालें।

   क्या आपको रंग में कोई परिवर्तन नजर आता है ?

   ....

   जब नाइट्रेट रिडक्टेस द्वारा नाइट्रेट, नाइट्राइट में अपचयित हो जाता है तो घोल गुलाबी हो जाता है।

ख नाइट्रेट आयन द्वारा नाइट्रेट रिडक्टेस का प्रेरण

1. एक बीकर में नल या तालाब के पानी से 0.1 % KNO_3 का 100 मिली घोल तैयार कर लें।
2. इस घोल में *हाइड्रिला* की 4 सेंमी लंबी शाखा डाल दें जिसमें शीर्षस्थ कलिका हो।
3. प्रयोग के शुरू में और प्रयोग के 24 घंटे बाद नाइट्रेट रिडक्टेस के लिए परीक्षण करें।

ग नाइट्रेट रिडक्टेस पर प्रकाश का प्रभाव

पोटेशियम नाइट्रेट और *हाइड्रिला* वाले चार बीकरों या परखनलियों को इस प्रकार तैयार कर लीजिए:

परखनली संख्या	अभिकर्मक	*हाइड्रिला* पौधा	अभिक्रिया
1	15 मिली KNO_3	ताजा संग्रहित	अंधकार
2	,,	,,	प्रकाश
3	,,	*हाइड्रिला* जिसे 24 घंटे तक KNO_3 में रखा गया हो	अंधकार
4	,,	,,	प्रकाश

30 मिनट बाद सभी परखनलियों में नाइट्रेट के लिए परीक्षण कीजिए।

6.4 परिणाम

अपने नकारात्मक या सकारात्मक परिणामों को इस प्रकार बताएं :

1 नाइट्रेट के लिए परीक्षण हां/नां

2. नाइट्रेट आयन द्वारा एंजाइम का प्रेरण:

   1. आरंभ में परीक्षण हां/नां
   2. 24 घंटे बाद परीक्षण हां/नां

3. प्रकाश द्वारा एंजाइम का प्रेरण हां/नां

अपने परिणामों को स्पष्ट कीजिए

....

....

....

....

....

7 रंध्रों का खुलना और बंद होना, सूक्ष्मदर्शी द्वारा प्रेक्षण

7.1 प्रस्तावना

पौधों में कार्बन डाइऑक्साइड और ऑक्सीजन जैसी गैसों का विनिमय और जलक्षय पत्ती की बाह्यत्वचा (epidermis) में उपस्थित रंध्रों (stomata) के द्वारा होता है। रंध्र छिद्र (stomatal pore) एक जोड़ा द्वार कोशिकाओं (guard cells) से घिरा होता है जो इसके खुलने को नियंत्रित करती हैं। द्वार कोशिकाओं में स्फीति दाब (turgor pressure) जब बढ़ जाता है तो रंध्र खुल जाते हैं और जब यह दाब घटता है तो द्वार कोशिकाएं पिचक जाती हैं और रंध्र बंद हो जाते हैं। स्फीति दाब में यह परिवर्तन आस-पास की बाह्यत्वचा की कोशिकाओं से द्वार कोशिकाओं में K^+ आयनों के प्रवेश और निर्गम से पैदा होता है। K^+ आयनों के उद्ग्रहण के लिए ATP की जरूरत पड़ती है। मैलेट जैसे ऋण आवेशित आयन भी K^+ आयनों के साथ गमन करते हैं जो वैद्युत संतुलन बनाए रखते हैं और द्वार कोशिकाओं के परासरण विभव के परिवर्तन में सहायक होते हैं।

इस अभ्यास में आप 0.5M KCl घोल द्वारा प्रेरित रंध्री संचलन (movement) को प्रकाश सूक्ष्मदर्शी में देखेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को कर लेने के बाद आप :

- स्फीति दाब में परिवर्तन करके, रंध्रों के खुलने और बंद होने को प्रदर्शित कर सकेंगे।

7.2 आवश्यक सामग्री

रोज डिसकलर (*Rhoeo discolour*) की पत्तियां

आसुत जल

प्रकाश सूक्ष्मदर्शी

पेट्रीडिश (दो)

ड्रॉपर

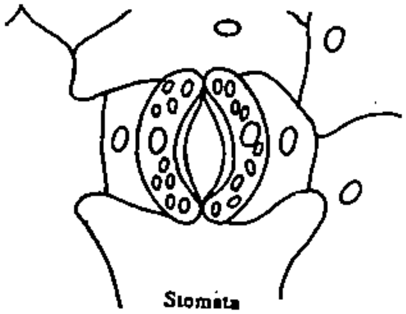
स्लाइड

कवर स्लिप

0.5 M KCl का विलयन

7.3 प्रयोग विधि

एक चिमटी से पत्ती की निचली अधिचर्म स्तर यानि बाह्यत्वचा (lower epidermis) को छील लें। इससे 1 मिमी वर्ग के आकार का टुकड़ा काट कर उसे एक बूंद पानी में स्लाइड पर रख दें। और कवर स्लिप लगा दें। अब इसे सूक्ष्मदर्शी के नीचे रख कर देखें और रंध्रों का अध्ययन करें। रंध्री छिद्रों का चित्र नीचे बनाकर अपने प्रेक्षणों को दर्ज कर लें। अब स्लाइड पर कवर स्लिप के एक ओर से 0.5 M KCl घोल डालें और दूसरी ओर से एक फिल्टर पेपर की सहायता से पानी सोख लें। जरा सी देर बाद रंध्र छिद्र में आए परिवर्तनों को देखिए। अब आप KCl घोल फिल्टर पेपर से सोख लें और उसमें आसुत जल डालें। 5 से 10 मिनट बाद फिर से प्रेक्षण करें।



चित्र 7.1: रंध्र की संरचना

7.4 परिणाम

1 किसी भी अभिक्रिया से पहले रंध्री तंत्र की संरचना

2. निम्न के द्वारा रंध्र कोशिकाओं में होने वाले परिवर्तन

   i) KCl का घोल और फिर

   ii) आसुत जल

   रंध्र छिद्र की संरचना जैसी आपको सूक्ष्मदर्शी से दिखाई दी नीचे दिये गये रिक्त स्थान पर बनायें।

7.5 सावधानियां

1. स्लाइड और सूक्ष्मदर्शी का उपयोग करने से पहले अपने हाथों को अच्छी तरह धो लीजिए।
2. स्लाइड, कलर स्लिप , ड्रॉपर, चिमटियां आदि सामग्री रखने के लिए अपनी मेज पर एक स्वच्छ सफेद कागज बिछा लें।
3. माऊंट तैयार करते समय पत्ती की निचली सतह को ऊपर की ओर रखें।
4. स्लाइड में KCl घोल न फैलायें। इसे ध्यानपूर्वक व सफाई से करने की कोशिश कीजिए।
5. आवरण स्लिप को किनारे से पकड़िये।

बोध प्रश्न

1. माना कोई छात्र KCl के बजाए NaCl का प्रयोग करता है क्या उसे भी वही परिणाम मिलेंगे? अपने उत्तर को तर्क द्वारा स्पष्ट करें।

   ....

   ....

   ....

2. K^+ और मैलेट आयनों के प्रवेश होने पर द्वार कोशिकाओं के जल विभव में क्या परिवर्तन होंगे?

   ....

   ....

   ....

8 पादप ऊतक के जल विभव का मापन

8.1 प्रस्तावना

पौधों की कार्यिकीय (physiological) क्रियाशील अवस्था को बनाए रखने के लिए एक महत्वपूर्ण शर्त है अनुकूल जल का संतुलन जल पादप कोशिका का एक महत्त्वपूर्ण घटक है। पदार्थों की प्रविष्टि और परिवहन के लिए यह एक विलायक है, उपापचयी अभिक्रियाओं के लिए जरूरी है और अक्सर एक अभिकारक है। पौधे की जल आपूर्ति अपर्याप्त होने पर उनके वृद्धि और विकास में कमी आ जाती है क्योंकि तब इनके सभी जैव कार्यों की गति धीमी पड़ जाती है। दीर्घकालीन जलशुष्कन (desiccation) सक्रिय रूप से वृद्धि कर रहे पौधे के लिए घातक होता है।

इकाई 11 [LSE-05] में आपने उन भौतिक सिद्धांतों के बारे में पढ़ा था जो मृदा-पादप-वायुमंडलीय तंत्र में एक कोशिका से दूसरी कोशिका तक नेट जल अभिवाह (net water fluxes) और जल के समष्टि अभिगमन (bulk movement of water) को संचालित करते हैं। जल विभव वह प्रेरक शक्ति है जो पादप तंत्र में पानी को गमन करने देती है।

इस प्रयोग का लक्ष्य एक पादप ऊतक का जल विभव निर्धारित करना है। एक ज्ञात भार और आयतन वाले ऊतक के एक रूप टुकड़ों को सुक्रोस घोल के सांद्रणों की श्रृंखला में डालकर यह निर्धारित किया जा सकता है कि किस घोल में ऊतक में जल का कोई नेट अभिगमन नहीं होगा। यह तब होगा अगर बाह्य घोल का जल विभव Ψ_{wc} ऊतक के जल विभव Ψ_{wc} के तुल्य हो। दूसरे शब्दों में, बाह्य घोल और ऊतक के $\Delta\Psi$ में भिन्नताओं से ऊतक के भार और आयतन में या तो वृद्धि होगी या कमी आयेगी।

आयतन और भार के बजाए ऊतक की लंबाई में वृद्धि या कमी को नाप कर एक ऊतक के जल विभव का पता लगाना भी संभव है। इस अभ्यास में आप आलू के टुकड़ों को विभिन्न सांद्रणों वाले सुक्रोस के घोलों में रख कर और फिर कुछ समय बाद उनकी लंबाई में परिवर्तनों का पता लगाकर आलू के जल विभव का निर्धारण करेंगे।

उदेयश्य

- इस प्रयोग को करने के पश्चात आप: पादप ऊतकों में जल विभव माप सकेंगे

8.2 आवश्यक सामग्री

बड़ा ठोस आलू

1 M सुक्रोस घोल

4 या 5 मिमी कार्क वेधक

चौड़े मुंह वाली 12 परखनलियां (15-20 मिली) या 12 लघु बीकर (50 मिली)

कांच की छड़

रेजर ब्लेड

ग्राफ पेपर

8.3 प्रयोग विधि

12 परखनलियां लीजिए और उन पर 1 से 6 और 1a से 6a अंकित कर लें। इन दोनों सेटों को एक परखनली रैक में व्यवस्थित कर दीजिए। अपने परामर्शदाता से 100 मिली 1M सुक्रोस घोल लीजिए और जिस तरह तालिका 8.1 बताया गया है, इस घोल के उचित अशेषभाजक (aliquots) लेकर तनु करिए और 0.15 M, 0.2 M, 0.25 M, 0.3 M, 0.35 M और 0.4 M सुक्रोस घोल बनाइए।

1. लगभग 0.5 मिमी व्यास के एक कार्क वेधक से एक आलू से 12 सिलेंडर निकालिए। रेजर ब्लेड से सभी को 4 सेंमीकी समान लंबाई में छंटाई कर लीजिए। इन्हें एक नम पेपर टॉवल या फिल्टर पेपर में लपेट कर रख लीजिए।
2. एक एक कर हर टुकड़े को ग्राफ पेपर पर रख दीजिए, और उनकी लंबाई नापिए। एक टुकड़े को लंबाई नापते ही तालिका 8.2 में दर्ज कर लीजिए।
3. इसे 8 बराबर टुकड़ों में काट दीजिए और उन्हें सुक्रोस घोल युक्त परखनली 1 में डाल दीजिए।

तालिका 8.1: विभिन्न सांद्रणों का सुक्रोस घोल बनाना

परखनली संख्या	हर परखनली में सुक्रोस की मात्रा	हर नली में आसुत जल	मोलरता
1 और 1a	3 मिली	17	0.15 M
2 और 2a	4 मिली	16	0.20 M
3 और 3a	5 मिली	15	0.25 M
4 और 4a	6 मिली	14	0.30 M
5 और 5a	7 मिली	13	0.35 M
6 और 6a	8 मिली	12	0.40 M

शेष टुकड़ों के लिए भी यही प्रक्रिया दोहराइए (1 परखनली से 6 और 1a से 6a तक) और फिर उन्हें दो घंटे तक छोड़ दीजिए और कांच की छड़ से उसे बीच बीच में हिलाते रहिए।

4. परखनली 1 से शुरू कर दो घंटे बाद टुकड़ों को निकालिए। फिल्टर पेपर पर उन्हें धीरे-धीरे सुखाइए, उन्हें लंबाई के अनुसार साथ-साथ क्रमवद्व रखिए और ग्राफ पेपर पर उनकी लंबाई को नापिए। इसी तरह उसी क्रम में अन्य परखनली के टुकड़ों की लंबाई को नापिए। जिस क्रम में आपने उन्हें परखनली में रखा था।

8.4 परिणाम

नीचे दी गई तालिका में अपने परिणाम दर्ज कीजिए :

तालिका 8.2: प्रयोग के परिणाम

परखनलियों की संख्या	सुक्रोस की मोलरता	आरंभिक लंबाई		लंबाई में परिवर्तन		औसत x और xa का	लंबाई में % परिवर्तन
		x	xa	x	xa		
1 और 1 a	0.15 M						
2 और 2 a	0.2 M						
3 और 3 a	0.25 M						
4 और 4 a	0.3 M						
5 और 5 a	0.35 M						
6 और 6 a	0.4 M						

लंबाई में परिवर्तन का प्रतिशत इस प्रकार निकालें :

$$\text{लंबाई में परिवर्तन का प्रतिशत} = \frac{\text{अंतिम लंबाई} - \text{आरंभिक लंबाई}}{\text{आरंभिक लंबाई}} \times 100$$

लम्बाई में प्रतिशत अंतर बनाम सुक्रोस की मोलरता का प्लाट बनाइये।

8.5 सावधानियां

1. सुक्रोस अशेषभाजक (sucrose aliquots) को ठीक-ठीक नापिए।
2. आलू के टुकड़े तैयार करते ही शुरू हो जाइए और सभी टुकड़ों के घोल में डाले जाने तक बिना रुके काम जारी रखिए।
3. लंबाई नापते समय कटे टुकड़ों को उसी क्रम में नापें जिस क्रम में उन्हें घोल में डाला गया था।

बोध प्रश्न

1. सुक्रोस के किस सांद्रण घोल में ऊतक का जल विभव न्यूनतम है?

....

....

2. Ψ_w को प्रभावित करने वाले कारकों के नाम बताइये।

....

....

9 जिबरेलिक अम्ल द्वारा जौ के दानों में α - एमिलेस के संश्लेषण का प्रेरण

9.1 प्रस्तावना

बीजों में भ्रूणों के विकास के लिए प्रोटीन, वसा और स्टार्च के रूप में भोजन के भंडार होते हैं। इन खाद्य अणुओं को जल अपघटनीय (hydrolytic) एंज़ाइमों द्वारा सरल अणुओं में पचाने की जरूरत पड़ती है ताकि उन्हें भ्रूण तक पहुंचाया जा सके और भ्रूण उनका उपयोग कर सके। प्रोटिएस, लाइपेस और एमिलेस जल अपघटनीय एंज़ाइमों है। इनमें से कुछ एंज़ाइम पहले से ही बीज में मौजूद रहते हैं, जो बीज के पानी का अंत:शोषण करते ही अपनी क्रिया शुरु कर देते हैं। दूसरे एंज़ाइमों को सक्रियण की जरुरत पड़ सकती है। मगर α-एमिलेस नामक एक महत्वपूर्ण एंज़ाइमों का संश्लेषण एमीनो अम्लो से नये सिरे से होता है। ये एंज़ाइमों स्टार्च को शर्करा में निम्नीकृत करता है। इस एंज़ाइमों का संश्लेषण परोक्ष रूप से अंकुरणशील भ्रूण द्वारा नियंत्रित होता है। भ्रूण GA_3 (जिबरेलिन) हॉर्मोन बनाते हैं जो उपापचयी रूप से सक्रिय ऐल्यूरोन (aleurone) कोशिका स्तर में विसरित हो जाता है। (ऐल्यूरोन स्तर भ्रूणपोश को घेरे रहता है) यह हार्मोन α- एमिलेस के संश्लेषण में वृद्धि को प्रेरित करता है जो भ्रूणपोश के स्टार्च भंडार का पाचन करता है।

इस प्रयोग में आप जौ के बीज में α-एमिलेस की क्रियाशीलता पर बाहरी स्रोत से संपूरित GA_3 के प्रभाव का अध्ययन करेंगे।

उद्देश्य

यह प्रयोग कर लेने के बाद आप :

- बाहरी स्रोत से संपूरित जिबरेलिक अम्ल द्वारा α-एमिलेस के संश्लेषण का प्रेरण प्रदर्शित कर सकेंगे।

9.2 आवश्यक सामग्री

निर्जर्मित पेट्रीडिश (ढक्कन सहित)

जौ के बीज (50)

बीकर (100 मिली)

निर्जर्मित जल (100 मिली)

धारदार ब्लेड युक्त स्कैल्पेल

एक जोड़ा चिमटी

4 पिपेट (1 मिली)

सोडियम हाइपोक्लोराइट (NaOCl)

आयोडिन घोल

95% एथॉनॉल

डिटर्जेंट (अपमार्जक)

रुई

9.3 प्रयोग विधि

प्रयोग के चरण 2 को आपके परामर्शदाता करके दिखायेंगे (चार या पाँच विद्यार्थी इक्ट्ठे प्रयोग कीजिए)

1. प्रयोग निर्जर्म या रोगाणुरहित स्थितियों में ही कीजिए। आपको निर्जर्मित पेट्रीडिश और निर्जर्मित जल दिया जाएगा। स्कैल्पेल और चिमटियों को 95% एल्कोहॉल में धोकर और एक ज्वाला में जलाकर निर्जर्म कर लीजिए। काम की जगह को डिटर्जेंट (अपमार्जक) और पानी से धो लीजिए और आखिर में 95% एल्कोहॉल में भीगी रुई के टुकड़े से भी साफ कर लीजिए।

2. परामर्शदाता से आपको 5 पेट्रीडिश मिलेगी, जिनमें निर्जर्म स्टार्च ऐगार (1% बैक्टोऐगार और 2% आलू का स्टार्च) होगा। उन्हें 1 से 5 तक अंकित कीजिए और अपने नाम का पहला अक्षर, समय और दिनांक आदि लिखिए।

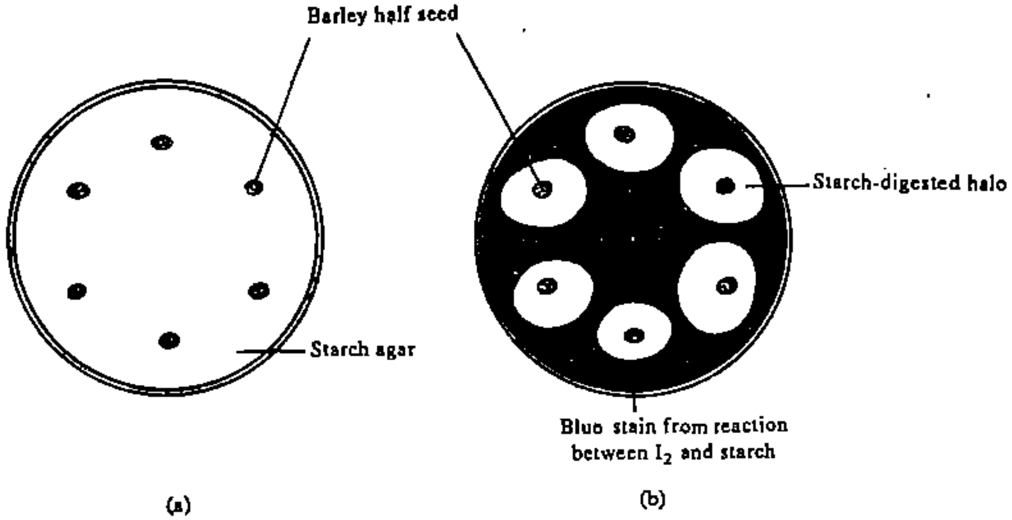
3. एक बीकर में जौ के 50 बीज लीजिए और इसमें सोडियम हाइपोक्लोराइट (NaOCl) डालिए। इसे 10 से 20 मिनट तक रख दीजिए बीच-बीच में बीकर को घुमा कर हिलाते रहिए घोल को निथार लेने के बाद बीजों को निर्जर्मित जल में खूब हिलाकर पांच बार धो लीजिए। हर बार 10 मिली जल का प्रयोग कीजिए।

4. बीजों को एक पेट्रीडिश में रख लें, जिसमें 10 मिली निर्जर्मित जल हो। अपने स्कैल्पेल को निर्जर्मित करिए और बीजों को बीचोंबीच से अनुप्रस्थ काट लीजिए। बीजों के भ्रूण युक्त अर्धभाग को और भ्रूणहीन अर्धभागों को अलग-अलग समूहों में रखिए।

अब हर पेट्रीडिश में 1 मिली निर्जर्मित जल डालिए और उन सभी को इस तरह तैयार कीजिए। बीजों के अर्धभाग को चिमटी से उठाइये।

पेट्रीडिश संख्या	घटक
1	भ्रूण युक्त 6 अर्धभागों को रखें
2	6 भ्रूणहीन अर्धभाग रखें
3	1.0μM GA के 10μl डालें और 6 भ्रूणहीन अर्धभाग रखिए
4	1.0μM GA के 100μl डालें और 6 भ्रूणहीन अर्धभाग रखिए
5	ऐगार पट्टिकाओं पर बीज अर्धभाग के बजाए GA की एक बूंद डालिए।

पेट्रीडिशों को 20° सें. पर सुविधाजनक स्थान पर रख दीजिए। 24 घंटे बाद, ऐगार में आयोडिन अभिकर्मक मिलाइये (100 मिली जल में 0.1 ग्राम I_2 और 0.2 ग्राम KI) और हर पेट्रीडिश को देखिए जिनमें बीज अर्धभागों के इर्दगिर्द रंजित प्रभामंडल हो।



चित्र 9.1: जौ के बीजों के अर्धभाग स्टार्च ऐगार में क) उष्मायन से पहले ख) उष्मायन के बाद I_2/KI के घोल से क्रिया। स्टार्च के पाचन से बने गोलों को नोट करें।

9.4 परिणाम

रंजित प्रभामंडल को + चिन्ह और प्रभामंडल रहित को -चिन्ह से दर्शाया गया है। आप चिन्ह (+/) लगाकर परिणाम नोट करिए।

पेट्रीडिश संख्या	औसत प्रेक्षित प्रभामंडल
1	
2	
3	
4	
5	

बोध प्रश्न

1. अनाभिक्रियित (non-treated) भ्रूणयुक्त अर्धबीज के प्रभामंडल की तुलना भ्रूणहीन अर्धबीज के प्रभामंडल से करिए और अपने परिणामों को स्पष्ट कीजिए।

   ....

   ....

2. इस प्रयोग के लिए निर्जर्मित परिस्थितियों की जरूरत क्यों पड़ती है?

   ....

   ....

3. भ्रूणहीन अर्धबीजों को इस प्रयोग में क्यों इस्तेमाल किया गया?

   ....

   ....

10 2,4-D के प्रभाव से प्रांकुर-चोल की दैर्ध्य वृद्धि का प्रेक्षण

10.1 प्रस्तावना

पादप वृद्धि नियामक पौधे की वृद्धि और विकास को बढ़ावा देते हैं। ये नियामक हैं-ऑक्सिन, जिबरेलिन और साइटोकाइनिन। प्राकृतिक ऑक्सिन इंडोल ऐसीटिक अम्ल (IAA) पौधों में व्यापक रूप से पाया जाता है। यह तने, नई पत्तियों और कलिकाओं के वर्धनशील भागों में पाया जाता है। इसका वहन तने से नीचे की ओर होता है। कोशिका विवर्धन, पार्श्विक कलिकाओं के संदमन और कैम्बियम क्रियाशीलता में इसकी मुख्य भूमिका है।

IAA की तरह की रासायनिक संरचना वाले यौगिकों का व्यावसायिक स्तर पर निर्माण किया जाता है और उन्हें विभिन्न उद्देश्यों के लिए कृषि में काम लाया जाता है। व्यावसायिक कृषि उत्पादन में सर्वाधिक काम आने वाले कृत्रिम ऑक्सिनों में 2, 4 -डाइक्लोरो ऐसीटिक अम्ल (2, 4-D) मुख्य है। इसे खरपतवार मारने के लिए इस्तेमाल किया जाता है। बहुत निम्न सांद्रणों में यह वृद्धि को बढ़ावा देता है मगर उच्च सांद्रण में पौधे को मार डालता है। पतली पत्तियों वाले पौधों की तुलना में चौड़ी पत्ती वाले पौधे इस शाकनाशी के प्रति अधिक संवेदी होते हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- पौधों के प्रांकुर-चोल की वृद्धि पर 2, 4-D के प्रभाव का अध्ययन कर सकेंगे।

10.2 आवश्यक सामग्री

4 दिन की सोयाबीन पौद

2, 4-D के घोल

पेट्रीडिश (10 × 1.5 सेमी)

5 मिली अंशांकित पिपेट

रेजर ब्लेड कटर

ग्राफ पेपर

पैमाना

वर्मिक्यूलाइट

10.3 प्रयोग विधि

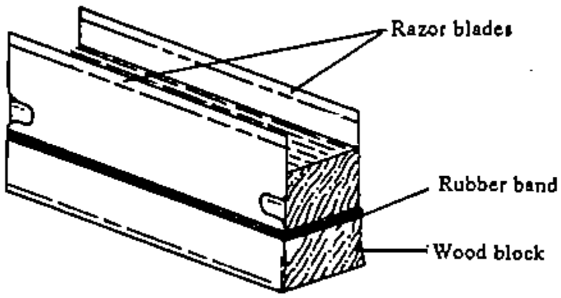
क. प्रांकुर-चोल पर ऑक्सिन का प्रभाव

(चार या पांच के दल में काम करें। आपको सोयाबीन की 4 दिन की पौद और 2, 4-D के विभिन्न सांद्रणों वाले घोल दिए जाएंगे)

1. 6 पेट्रीडिश लीजिए और हरेक की तली में एक फिल्टर पत्र लगा दीजिए। उनके ढक्कन पर 1 से 6 अंकित कीजिए और अपने नाम का आरंभिक अक्षर, दिनांक और समय लिख लीजिए।
2. 3 सेमी ऊंचाई की 60 पौद लीजिए और शेष को फैंक दीजिए। समय बचाने के लिए दल का हर छात्र 15 पौदों की लंबाई नाप सकता है।
3. साधारण रेजर ब्लेड (चित्र 10.1) से एक-एक कर प्रांकुर-चोलों को उच्छेदित कर लीजिए जिसमें ऊपरी काट शीर्ष से 5 मिली नीचे हो। शीर्ष को फेंक दें और कटे खंड को आसुत जल में डाल दीजिए।
4. खंडों को ग्राफ पेपर पर रख कर या एक पैमाने से कम से कम 1 मिमी तक नाप लीजिए।
5. हर पेट्रीडिश में (1 से 5 तक)10 खंडो को चपटा और बराबर दूरी पर रख दीजिए। ऊपर से

फिल्टर पत्र रखिए और एक पिपेट से 4 मिली 2, 4-D के उचित सांद्रण (तालिका 10.1) घोल को फिल्टर पत्र पर डालिए। हरेक डिश के प्रांकुरचोलों या घोल को हिलाए बिना सावधानी से काले कागज से ढक दीजिए और उन्हें 24 घंटे के लिए छोड़ दीजिए ।

6. 2, 4-D के बजाए जल से एक कंट्रोल तैयार कीजिए। अपने परिणामों को दर्ज कर लीजिए।



चित्र 10.1 : एक सरल रेजर ब्लेड काटने के लिए

ख. प्रांकुर-चोल के विभिन्न भागों पर 2, 4-D का प्रभाव

1. 6 पेट्रीडिश लीजिए। उन पर 1 से 6 अंकित कीजिए और उनकी तलियों में फिल्टर पेपर रख दीजिए।

2. 10 प्रांकुर-चोल लीजिए। इन्हें मूल से शीर्ष तक 0.5 सेमी. के 6 खंडों में काटिए। एक ही भाग के खंडों को इकट्ठा कीजिए और उन्हें पेट्रीडिशों में इस तरह क्रम से डालिए कि पेट्रीडिश एक में शीर्ष खंड और पेट्रीडिश 6 में अंतिम खंड हो।

3. अब हर पेट्रीडिश के ऊपर एक-एक फिल्टर पत्र रखिए और 4 मिली सांद्रण का 10^{-8} 2, 4-D घोल रखिए। पेट्रीडिशों को काले कागज से ढक कर उन्हें 24 घंटे के लिए छोड़ दीजिए।

   24 घंटे बाद हर खंड की लंबाई नापिए और खंडों में हुई औसत वृद्धि निकाल लीजिए।

10.4 परिणाम

2, 4-D के विभिन्न सांद्रणों में प्रांकुर-चोल की लंबाई में वृद्धि

खंड संख्या	1 10^{-6}	2 10^{-7}	3 10^{-8}	4 10^{-9}	5 10^{-10}	जल
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

लंबाई में कुल वृद्धि

लंबाई में वृद्धि का औसत निकालिए :

$$\frac{\text{लंबाई में कुल वृद्धि}}{10} =$$

भाग B के परिणामों को नीचे दी गई तालिका में दर्ज कीजिए :

शीर्ष से मूल तक खंड का क्रम	24 घंटे बाद लंबाई में वृद्धि	लंबाई में औसत वृद्धि
1		
2		
3		
4		
5		
6		

बोध प्रश्न

1. कौन सा प्रांकुर-चोल का खंड 2, 4-D में सर्वाधिक वृद्धि दर्शाता है?

....

....

11 पराग नलिका का पुष्प में पथ ज्ञात करना

11.1 प्रस्तावना

परागकणों का निर्माण परागकोषों में होता है और स्फुटन के पश्चात् ये मुक्त हो जाते हैं। परागकणों का अलगन दो अथवा तीन केन्द्रकों की अवस्था में होता है। ये परागकण विभिन्न माध्यमों के द्वारा अपने गंतव्य स्थल, स्त्रीकेसर (Pistil) में, वर्तिकाग्र की सतह (stigmatic surface) पर पहुँचते हैं। परागकणों की एक पुष्प के परागकोष से अन्य पुष्प के वर्तिकाग्र पर पहुँचने की प्रक्रिया, परागण (Pollination) कहलाती है। वर्तिकाग्र पर पहुँचने के पश्चात् परागकणों को निषेचन (Fertilisation) के लिये, नर युग्मकों (Male gametes) को अण्डे तक पहुंचाने के लिए रास्ते की जरूरत होती है जो मादा युग्मकोद्‌भिद (Female gametophyte) के अंदर स्थित होता है। इसके लिए, पराग कण, वर्तिकाग्र पर अंकुरित होकर कुछ नलिकाएं निकालते हैं, जो कि पराग नलिकाएं कहलाती हैं। ये पराग नलिकाएं वर्तिका (Style) से होती हुई बीजाण्ड (Ovule) में प्रवेश करती हैं जहाँ नर युग्मक मुक्त हो जाते हैं और निषेचन संपन्न हो जाता है।

उद्‌देश्य

- *पोर्टुलाका* पुष्प (*Portulaca* flower) के वर्तिकाग्र और वर्तिका से होते हुए स्त्रीकेसर तक पहुंचने के लिए पराग नलिका के पथ को ज्ञात करना।

11.2 आवश्यक सामग्री

पोर्टुलाका पुष्प (*Portulaca* flower)

लैक्टो-फीनोल (Lactophenol)

कॉटन ब्लू

चिमटी

सुई

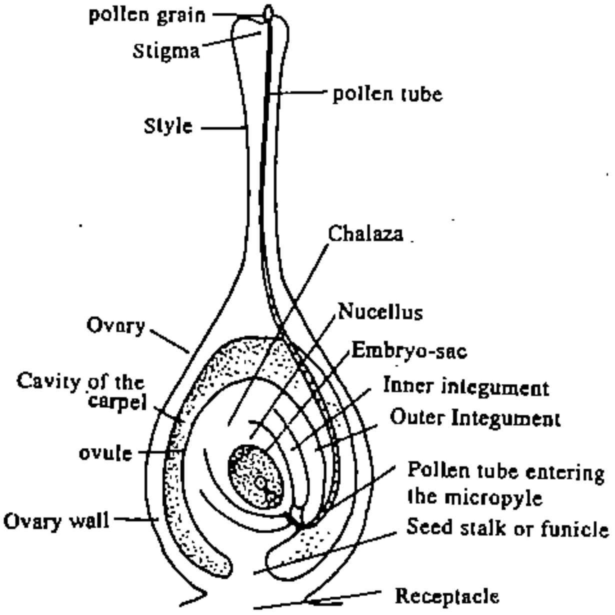
स्लाइड्स

कवर स्लिप्स

सूक्ष्मदर्शी

11.3 प्रयोग विधि

पोर्टुलाका पुष्प के स्त्रीकेसर को निकालकर एक स्वच्छ स्लाइड पर रखिए। चिमटी की सहायता से वर्तिकाग्र और



चित्र 11.1: पराग नलिका का पथ

वर्तिका को सावधानी से विच्छेदित कीजिए। उसके ऊपर दो-तीन बूंदें काटन ब्लू की फिर दो तीन बूंदें लैक्टो-फीनोल की डालिए। स्लाइड को दो-तीन मिनट तक हल्का गर्म कीजिए। वर्तिकाग्र और वर्तिका के ऊतकों को धीरे से अलग कीजिए। कवर स्लिप को स्लाइड पर रखिए और आरोपित (mounted) सामग्री को विस्तारित करने के लिए उंगली से धीरे-धीरे कवर स्लिप को थपथपाइये। अब यह स्लाइड प्रेक्षण के लिए तैयार है। (चित्र 11.1)

11.4 प्रेक्षण

बोध प्रश्न 1. परागकणों से निकलती हुई पराग नलिकाओं को देखिए और आरेख बनाइए।

बोध प्रश्न 2. पराग नलिका के पथ को दिखाते हुए आरेख बनाइए।

बोध प्रश्न 3. पराग नलिका का क्या महत्व है और यह किस कारण वर्धित (grow) होती है?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 4. पराग नलिका बाह्य चोल (exine) अथवा अंतः चोल (intine) में से किस का विस्तार है?

पराग नलिका का पथ ज्ञात करना

....

....

....

....

बोध प्रश्न 5. पराग नलिका के अग्रांग पर आपने क्या देखा?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 6. दोनों नर युग्मकों का भविष्य क्या है?

....

....

....

....

11.5 सावधानियाँ

1. सामग्री को अत्यधिक गर्म ना करें।
2. थपकी देने की क्रिया धीरे-धीरे करनी चाहिए।
3. स्लाइड बनाने से पहले, यह निश्चित कर लें, कि वर्तिकाग्र परागित (pollinated) हों।
4. सामग्री को बहुत अधिक विस्तारित ना करें।

12 अवलंबी बिन्दु (Hanging drop) विधि के प्रयोग द्वारा परागकणों के अंकुरण को देखना

12.1 प्रस्तावना

पुष्पीय पौधे द्विगुणित होते हैं। और पुष्प में प्रजनन के लिए विशिष्ट अंग मौजूद रहते हैं। नर अंगों को पुंकेसर कहते हैं। अधिकांश आवृतबीजी पौधों में प्रत्येक पुंकेसर एक परागकोष तथा एक तंतु का बना होता है। परागकोष में अधिकांशत: चार लघुबीजाणुधानियां होती हैं जोकि संयोजक से जुड़ी रहती हैं। पराग कोष की भित्ति चार सतहों से बनी होती है: (i) बाह्य त्वचा (ii) अंत: स्थीसियम (iii) मध्य सतह/सतहें और (iv) टेपीटम।प्रत्येक लघुबीजाणु धानी के मध्य भाग में लघु बीजाणु मातृ कोशिका या परागण मातृ कोशिका होती है जो कि अंततोगत्वा परागकण का निर्माण करती है।

लघु बीजाणु मातृ कोशिका में अर्धसूत्री विभाजन होता है जिसके फलस्वरूप चतुष्टक [चार कोशिकाएं] बनता है। प्रत्येक कोशिका में एक अगुणित केन्द्रक होता है। लघु बीजाणु चार कोशिकीय अवस्था में ही विभेदित होने लगते हैं और चार परागकणों को जन्म देते हैं।

दूसरा चरण लघुयुग्मक जनन (Microgametogenesis) का है। जबकि परागकण में सूत्री विभाजन होता है और एक बड़ी कायिक कोशिका (Vegetative cell) तथा एक छोटी जनन कोशिका (Generative cell) का निर्माण होता है। अधिकांश जातियों में, पराग नलिका के अंकुरण से पहले जनन कोशिका विभाजित होकर दो शुक्र कोशिकाएं (sperm cells) बनाती हैं। पराग कण विभिन्न माध्यमों के द्वारा वर्तिकाग्र पर पहुंचाए जाते हैं। पराग कण में जनन छिद्र (Germ pore) द्वारा पराग नलिका निकलती है और उसके द्वारा अंकुरित होते हैं। पराग नलिका, वर्तिकाग्र और वर्तिका से होती हुई भ्रूण-कोष (Embryo sac) में पहुंचती है और अंत में बीजाण्ड (Ovule) में प्रवेश कर जाती है, जहाँ पर निषेचन की क्रिया संपन्न होती है।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- पराग-कणों की विभिन्न प्रकार की सतहों की संरचनाओं को पहचानने में,
- परागण की क्रिया को परिभाषित करने में,
- बीजाणुरंध्र अथवा जनन छिद्र के द्वारा परागकण के अंकुरण का निरीक्षण करने में,
- पराग नलिका की कालिक वृद्धि (Temporal growth) को वर्णित करने में सक्षम होंगे।

12.2 आवश्यक सामग्री

ट्रेडिसकेन्शिया (Tradescantia) और *इम्पेशिएन्स (Impatiens)* के पराग कण

स्लाइड्स

केविटी स्लाइड्स

कवर स्लिप्स

4-10% सुक्रोस (Sucrose) का विलयन, 1% बोरिक अम्ल का विलयन

विच्छेदन के लिए उपकरण

सूक्ष्मदर्शी

12.3 प्रयोग विधि

परांग-कणों के अंकुरण का अध्ययन करने के लिए आप अवलंबी बिंदु तकनीक (hanging drop technique) का प्रयोग करेंगे। आप पहले नीचे दी गई विधि के द्वारा अवलंबी बिंदु बनाने का अभ्यास कर सकते हैं और फिर इस तकनीक का प्रयोग करके पराग कणों के अंकुरण का अध्ययन करें।

(i) परागकणों का अध्ययन

पराग कणों के बारे में जानकारी होना आपके लिए लाभप्रद होगा। पहले पराग कणों का निरीक्षण

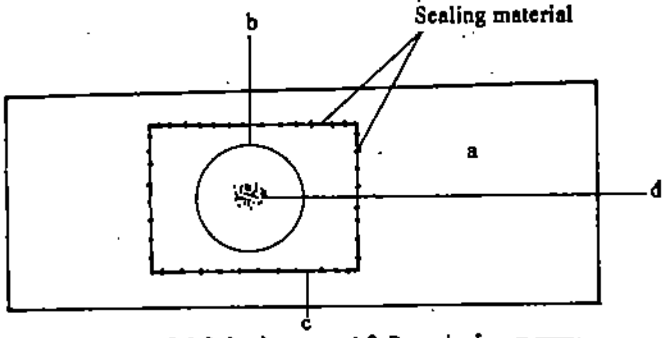
अवलंबी विन्दु (Hanging drop) विधि के प्रयोग द्वारा परागकणों के अंकुरण को देखना

सूक्ष्मदर्शी की कम क्षमता वाले लैंस द्वारा तथा उसके वाद अधिक क्षमता वाले लैन्स द्वारा करें। पराग कणों की संरचना को रेखांकित करें और फिर उनके आकार, सतह की संरचना और आकृति में अन्तर का निरीक्षण करें। (चित्र 12.1)

चित्र 12.1 ट्रेडेस्केन्शिया का पराग कण

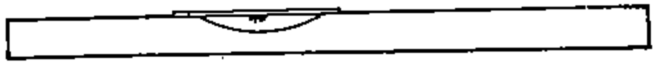
(ii)अवलंबी विन्दु तैयार करना

1. पेट्रोलियम जेली अथवा किसी अन्य चिपकाने वाले पदार्थ की एक पतली परत, केविटी स्लाइड के चारों तरफ किनारों पर लगाइए।
2. अब संवर्द्धन माध्यम (culture medium) की 50 µl. की बूंद सावधानीपूर्वक एक स्वच्छ, सूखी हुई कवर ग्लास या कवर स्लिप पर रखिए। संवर्द्धन बिन्दु के माध्यम की मात्रा इतनी होनी चाहिए कि वो फैले नहीं और केविटी स्लाइड के किनारों तले अथवा चिपकने वाले माध्यम के संपर्क में ना आये।
3. *ट्रेडेस्केन्शिया* के लिए 6-10% सुक्रोस और 100 मि.ग्रा./ली. बोरिक अम्ल का माध्यम प्रयोग में लाया जा सकता है।
4. माध्यम विन्दु में पराग कणों की उपयुक्त मात्रा को भली प्रकार मिलाकर एक समरूप परागकण निलंबन (Homogenous'pollen suspension) तैयार करें।
5. पराग कण विलंबक युक्त कवर ग्लास को सावधानी से केविटी स्लाइड के ऊपर इस प्रकार उल्टा करके रखें कि पराग कण संवर्द्धन विन्दु केविटी के मध्य में निलम्बित रहे।
6. केविटी को सील करने के लिए, कवर स्लिप के किनारों पर हल्का दवाव डालिए (कवर स्लिप के साथ और पहले केविटी के किनारों अथवा कवर स्लिप के किनारों पर लगाये गये चिपकाने वाले पदार्थ के साथ) [चित्र 12.2, 12.3]



चित्र 12.2: शीर्ष से देखने पर अवलंबी विन्दु संवर्द्धन का दृश्य।

a) केविटी स्लाइड b)केविटी c) कवर स्लिप d) संवर्द्धन माध्यम से पराग कण



चित्र 12.3 : पराग कण संवर्द्धित स्लाइड का पार्श्व दृश्य

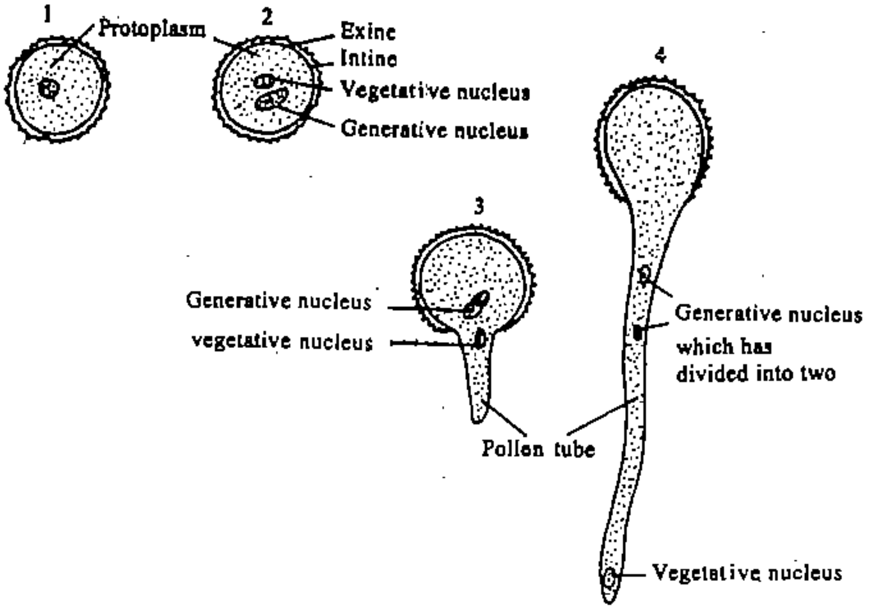
a) अब संवर्द्धन स्लाइड को लेवल करें। यह स्लाइड निरीक्षण के लिए तैयार है। अंकुरण में कितना समय लगा, यह अभिलेखित (record) करें।

(iii) पराग कणों का अंकुरण

प्रयोग करते समय प्रयोगशाला का तापमान ठीक 25-30°C के बीच में होना चाहिए। अगर तापमान बहुत कम हो तो आप तापमान को स्थिर रखने के लिए स्लाइड को इन्क्यूबेटर में 25°C तापमान पर रखिए।

12.4 प्रेक्षण और परिणाम

आधे घण्टे के बाद निरीक्षण करें और उसके बाद हर आधे घण्टे के अन्तराल पर अगले तीन घण्टों तक निरीक्षण करें। हर बार अंकुरित हुए पराग कणों की संख्या गिनें। इस अंतराल में परागकणों के अंकुरण की दर का आकलन करें और प्रतिशत का परिकलन करें। यदि आपके पास समय हो तो आप इस प्रयोग को अन्य पराग कणों के प्रतिदर्शों के साथ भी दोहरा सकते हैं। जब प्रतिदर्श भली प्रकार से अंकुरित हो जायें तब आप इन्हें किसी अन्य स्लाइड पर स्थानान्तरित कर दें और एसीटोकारमीन से अभिरंजित करके नलिका की संरचना तथा दो नर युग्मकों का अध्ययन करें। (चित्र 12.4)



चित्र 12.4 पराग कण के अंकुरण की विभिन्न अवस्थायें

तालिका १ : पात्रे (*In vitro*) पराग कण अंकुरण के प्रतिशत का आकलन

सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र संख्या	क्षेत्र में पराग कणों की संख्या	अंकुरित पराग कणों की संख्या	प्रतिशत अंकुरण
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			

$$\text{प्रतिशत पराग कण अंकुरण} = \frac{\text{अंकुरित पराग कण}}{\text{कुल देखे गये पराग कण}} \times 100$$

अगले प्रयोग को करने से पूर्व इन बोध प्रश्नों को हल कीजिए।

बोध प्रश्न 1 परागकण को परिभाषित कीजिए।

....

....

....

....

बोध प्रश्न 2 पराग कण किस प्रकार बनते हैं और प्रजनन में ये किस प्रकार कार्य करते हैं?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 3 शुक्राणु कोशिकायें (sperm cells) किस प्रकार निषेचन के लिए, अण्डे तक पहुंचती हैं तथा किसलिए पहुंचती हैं?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 4 स्व परागित पुष्प (self-pollinated flower) में किस प्रकार पराग कण, पराग कोष से मादा अंगों तक पहुंचाये जाते हैं? इसका एक स्पष्ट चिन्हित आरेख बनाइए।

0L

12.5 सावधानियां

1. पराग कणों का घनत्व इष्टतम होना चाहिए। पराग कणों की संख्या कम होने पर अपर्याप्त सांद्रता के कारण हो सकता है कि, पराग कणों का अंकुरण संतोषजनक तरीके से नहीं हो पाये। इसी प्रकार पराग कणों की संख्या अत्यधिक होने पर भी पराग कणों का अंकुरण संतोषजनक तरीके से नहीं हो पायेगा क्योंकि तब संवर्द्धन माध्यम के पोषक तत्व सीमाकारी कारक हो सकते हैं।
2. पराग कणों की इष्टतम संख्या 15-20 प्रति सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र ही होनी चाहिए।
3. अच्छे परिणाम प्राप्त करने के लिए पराग कण निलम्बन या सस्पेन्शन में एकसार रूप में वितरित होने चाहिए।
4. प्रयोग की पुनरावृत्ति समुचित संख्या में होनी चाहिए जिससे कि प्रयोगीय त्रुटियाँ कम से कम हों।
5. प्रयोगशाला से बाहर जाने से पहले अपने हाथों को भली प्रकार धो लेना चाहिए।

13 भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं का उदाहरण *रेफेनस सेटाइवस* *RAPHANUS SATIVUS*

13.1 प्रस्तावना

आवृतबीजी पौधों में प्रजनन के लिए, एक संपूर्ण और विशिष्ट संरचना, पुष्प के रूप में होती है। इसका मुख्य कार्य अण्डे और शुक्राणुओं का उत्पादन है। अण्डे का निर्माण मादा युग्मकोद्भिद में बीजाण्ड के अंदर होता है, जिसमें अध्यावरण और बीजाण्डकाय होते हैं। शुक्राणुओं का निर्माण पराग कणों में होता है, जो पराग कोषों में विकसित भाग विभेदित होकर भ्रूण का निर्माण करते हैं। इस प्रयोग में आप भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं का निरीक्षण करेंगें। प्रयोग को करने से पहले आप LSE-06 की इकाई-2 को पढ़ लें।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं को पहचानने में और,
- द्विबीजपत्री (Dicot) भ्रूण को पहचानने में समर्थ होंगे।

13.2 आवश्यक सामग्री

रेफेनस (Raphanus) या *ब्रेसिका (Brassica)* या *हेलीयेन्थस (Helianthus)* के पौधें, जिनमें फल विकास की विभिन्न अलग-अलग अवस्थाओं में हों।

वाचग्लास

सूई

चिमटी

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी

एसीटोकारमीन

स्लाइड्स और कवर स्लिप्स

13.3 प्रयोग विधि

विकास की विभिन्न अवस्थाओं के फल आपको दिए जायेंगे। यहाँ हम आपको *रेफेनस सेटाइवस* का उदाहरण दे रहे हैं। आपको अलग अलग आकार और उम्र के फलों को छांटना है। फलों को वाचग्लास में एकत्रित कर लें और अलग-अलग चिन्ह लगायें। हर फल में से एक या दो बीजाण्ड धीरे से अलग करें और उन्हें आयोडीन के घोल की एक बूंद में डुबोकर स्लाइड पर रखें। बीजाण्ड को कवर स्लिप से ढक दें और आरोपणी सूई के हत्थे से कवर स्लिप को धीरे से दबायें। इससे भ्रूण बिना किसी हानि के बाहर आ जायेगा।

13.4 निरीक्षण एवं निष्कर्ष

विभिन्न अवस्थाओं में भ्रूण के विकास के सकल आकृति विज्ञान का अध्ययन करके आप भ्रूणोद्भव की प्रमुख अवस्थाओं का निरीक्षण करें।

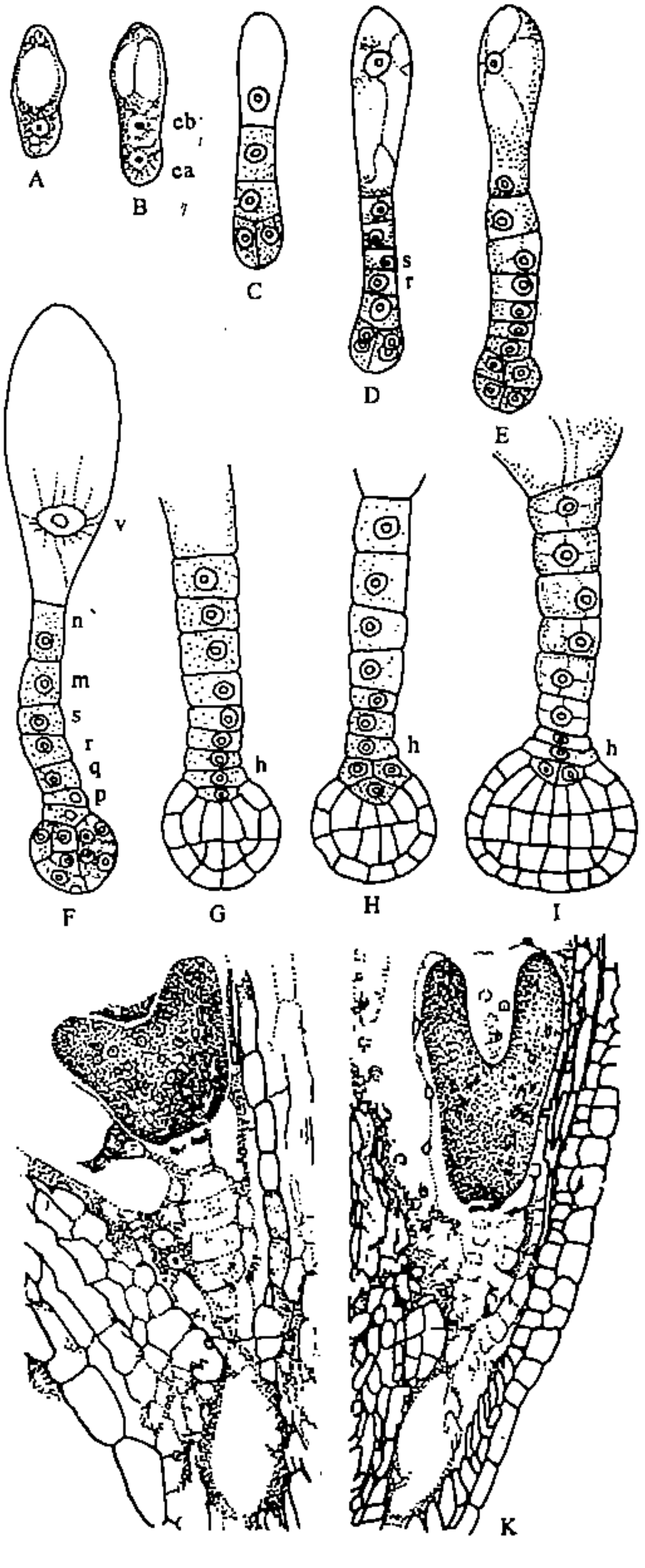
i) भ्रूण की रेखाकार अवस्था

ii) भ्रूण की गोलाकार अवस्था

iii) दो आद्यकों (Primordia) वाला हृदयाकार भ्रूण

iv) दो बीजपत्रों वाला पूर्ण विकसित भ्रूण

हर अवस्था का आरेख बनाइये और उसकी तुलना अपनी पुस्तक में दिये गये विभिन्न अवस्थाओं के रेखाचित्रों के साथ कीजिए। हर अवस्था के अंतर को भी तालिकाबद्ध कीजिए। अपनी पुस्तक में दी गई हर अवस्था को देखने का प्रयत्न कीजिए, पर यदि आप उन्हें ना देख पायें, तो फिर उन्हें आप अपने काउन्सलर द्वारा दिये गये P.M. में देख सकते हैं।



चित्र 13.1: रेफेनस के भ्रूण की विभिन्न अवस्थाएँ

अब आपने भ्रूणोद्भव की विभिन्न अवस्थाओं को देख लिया है। अब इन प्रश्नों को हल कीजिए।

बोध प्रश्न 1.

द्विबीजपत्री भ्रूण के प्रमुख भागों का चिन्हित आरेख बनाइये। इन प्रमुख भागों से भ्रूण के किस भाग का विकास होता है?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 2.

भ्रूण में निलंबक कोशिका (suspensor cell) का क्या कार्य है?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 3.

आप किस अवस्था में जाकर एकबीजपत्री भ्रूण का द्विबीजपत्री भ्रूण से अन्तर कर सकते हैं?

....

....

....

....

14 *कुकुमिस सेटाइवस* के भ्रूणपोषीय चूषकांग को निकालना

14.1 प्रस्तावना

आवृतबीजी पौधों में विकासशील भ्रूण के लिए पोषक ऊतक भ्रूणपोष है। भ्रूणपोष, द्विनिषेचन के फलस्वरूप बनता है और अधिकांशतः त्रिगुणित होता है। कभी-कभी विकासशील भ्रूण के द्वारा इसका पूरा उपभोग कर लिया जाता है, अन्यथा यह व्यस्क बीज में उपस्थित रहता है और अंकुरण के दौरान भ्रूण की वृद्धि में सहायक होता है। कुछ जातियों में भ्रूणपोष एक विशेष संरचना का निर्माण करता है जिसे चूषकांग (Haustoria) कहते हैं। ये चूषकांग विभिन्न रूपों में रूपान्तरित होकर विकासशील भ्रूण के लिए उपापचयज एकत्रित करता है। वह चूषकांग जो कि निभागीय सिरे (Chalazal end) पर विकसित होता है, वह निभागीय चूषकांग कहलाता है तथा जो बीजाण्डद्वार (Micropylc) के सिरे पर विकसित होता है, वह बीजाण्डद्वारी चूषकांग कहलाता है। कुछ पौधों में चूषकांग दोनों सिरों पर विकसित होता है। *कुकुमिस सेटाइवस* में चूषकांग निभागीय सिरे पर विकसित होता है। इसमें भ्रूणपोष केन्द्रकीय (Nuclear) प्रकार का होता है। निभागीय सिरे पर लंबे नलिकाकार चूषकांग में विस्तार होता है जिसका सिरा चम्मच के आकार का होता है।

इस परीक्षण को करने से पहले आप LSE-06 की इकाई-4 भली प्रकार से पढ़ें।

उद्देश्य

इस परीक्षण को करने के बाद आप :

- भ्रूणपोषीय चूषकांग को पहचानने में तथा उसकी संरचना और संभावित कार्यों का वर्णन करने में समर्थ होंगे।

14.2 आवश्यक सामग्री

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी

सूई

कुकुमिस सेटाइवस के बीज, जो कि विकास की भिन्न-भिन्न अवस्थाओं के हों।

1.5% सेफ्रेनीन

स्प्रिट लैंप

स्लाइड्स

कवर स्लिप्स

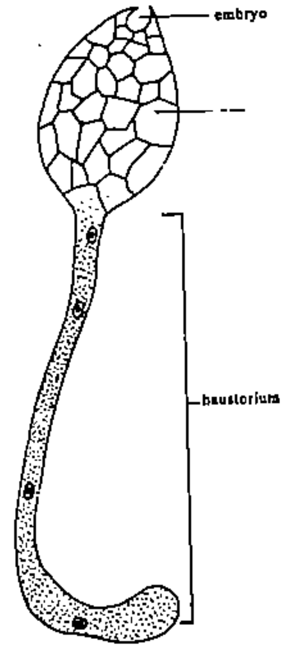
14.3 प्रयोग विधि

आपको *कुकुमिस सेटाइवस* के बीज दिए जायेंगे, जो कि पकने की अलग-अलग अवस्थाओं के होंगे।

1. बीज को ब्लेड अथवा स्केल्पल की सहायता से दो भागों में खोलिए, अब आप भ्रूणपोष के निभागीय सिरे पर जुड़े हुए, जैल की तरह के भ्रूणपोषीय चूषकांग को देख पायेंगे।
2. चूषकांग को चिमटी और सूई की सहायता से धीरे से निकाल लीजिए और एक साफ स्लाइड पर रखिए। भ्रूणपोषीय चूषकांग को सावधानी से निकालिए, जिससे कि बीजांडद्वार की ओर स्थित गोलाकार भ्रूण सुरक्षित रहे। निभागीय सिरे पर संकेशिकीय पूंछ (cocnocytic tail) जैसी संरचना को देखा जा सकता है।
3. सेफ्रेनीन अथवा एसीटोकारमीन की कुछ बूंदें स्लाइड पर डालकर हल्का गर्म कीजिए। अब कवर स्लिप को सावधानी से रखिए और चूषकांग के आकृति विज्ञान का निरीक्षण कीजिए।

14.4 निरीक्षण

आप चूषकांग को देख पायेंगे, जिसका एक सिरा गोलाकार होगा तथा उससे निकलता हुआ लंबा नलिकाकार भाग होगा। नलिकाकार भाग, संकेशिकीय भाग है। इस भाग में सघन कोशिका द्रव्य तथा बहुत सारे केन्द्रक होते हैं। गोलाकार सिरा कोशिकाओं का बना होता है। चूषकांग का चिन्हित आरेख



चित्र 14.1 : भ्रूणपोषीय चूषकांग

अपनी नोटबुक में बनाइये और इन बोध प्रश्न को हल कीजिए।

बोध प्रश्न 1. चूषकांग की सबसे सामान्य गुणीय अवस्था (Ploidy nature) क्या है?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 2. भ्रूणपोषीय चूषकांग का क्या कार्य है?

....

....

....

....

बोध प्रश्न 3. भ्रूणपोषीय चूषकांग के कुछ उदाहरण दीजिए।

....

....

....

....

14.5 सावधानियां

1. भ्रूणपोष को भ्रूण और चूषकांग सहित सावधानी से निकालिए जिससे कि संपूर्ण संरचना को स्लाइड पर देखा जा सके।
2. इसका ध्यान रखिए कि स्लाइड अत्यधिक गर्म ना हो जाए।

15 आवृतबीजी पौधों के नर और मादा युग्मकोद्भिद का अध्ययन

15.1 प्रस्तावना

पुष्पीय पौधों में लैंगिक जनन के लिए पुष्प के दोनों जनन अंगो, पराग कोष तथा स्त्रीकेसर के समन्वित विकास की आवश्यकता होती है। लैंगिक जनन में मूल प्रक्रियाएं, अर्धसूत्री विभाजन और युग्मकों का संगलन होती हैं। अर्धसूत्री विभाजन के द्वारा, जींस की पुनर्व्यवस्था तथा गुणसूत्रों की संख्या में कमी होती है और उसके बाद निषेचन के द्वारा पुन: गुणसूत्रों की वास्तविक द्विगुणित संख्या फिर से बन जाती है।

पराग कोष तथा स्त्रीकेसर, दोनों में ही सूक्ष्मदर्शीय तकनीक द्वारा विशिष्ट संरचनाओं तथा विकास की अवस्थाओं को देखा जा सकता है। आवृतबीजी पौधों के लैंगिक प्रजनन के अध्ययन में सूक्ष्मदर्शीय तकनीक महत्वपूर्ण भूमिका निभाती है। सभी संलग्न संरचनाओं को सीधे देख पाना बहुत ही मुश्किल होता है, क्योंकि वे बहुत ही सूक्ष्म होती हैं। इसके अतिरिक्त युग्मकोद्भिद ऊतक (Gametophytic tissues) अपने आसपास के बीजाणुउद्भिद् ऊतकों (Sporophytic tissues) में अंदर गहरे धँसे होते हैं। अत: नर और मादा युग्मकोद्भिद की तैयार स्लाइड्स के द्वारा आप अधिक अच्छी तरह से, उनके विकास को समझ सकते हैं, जैसा कि LSE-06 की इकाई-1, 2 और 3 में वर्णित किया गया है। जब आप स्लाइड्स का निरीक्षण करेंगे, तब आप देखेंगे कि ये संरचनाएँ, आपकी पुस्तक में दी गई संरचनाओं से कितना मिलती हैं। इन संरचनाओं के चित्र ठीक उसी प्रकार बनाइये, जैसी कि वे दी गई स्लाइड में दिखाई पड़ती हैं, न कि जैसी की पुस्तक में दिखाई पड़ती हैं।

उद्देश्य

इन नर और मादा युग्मकोद्भिद की तैयार स्लाइड्स को देखने के बाद आप:

- नर युग्मकोद्भिद – पराग कोष तथा मादा युग्मकोद्भिद – बीजाण्ड की संरचनाओं को वर्णित करने में,
- नर युग्मकोद्भिद के विकास की संरचनाओं का विस्तृत वर्णन करने में,
- पराग कण की संरचना का विस्तृत वर्णन करने में,
- विभिन्न प्रकार के बीजाण्डों में अंतर करने में,
- भ्रूण कोष के विकास की विभिन्न अवस्थाओं को पहचानने और एक वयस्क भ्रूणकोष की संरचना का वर्णन करने में समर्थ होंगे।

15.2 आवश्यक सामग्री

क : नर युग्मकोद्भिद का अध्ययन

1. एक तरुण (विकासशील) परागकोष की अनुप्रस्थ काट (T.S.)
2. चतुष्टक (Tetrad) को दर्शाते हुए परागकोष की अनुप्रस्थ काट
3. पराग कणों को दर्शाते हुए वयस्क परागकोष की अनुप्रस्थ काट

ख : मादा युग्मकोद्भिद का अध्ययन

1. विभिन्न प्रकार के बीजाण्डों को दर्शाते हुए अण्डाशय की अनुदैर्घ्य काट (L.S.)
2. अण्डाशय के विकास की शुरुआत की अवस्था
3. गुरु बीजाणु (Megaspore) मातृ कोशिका की द्विकोशिकीय अवस्था
4. गुरु बीजाणु का रेखाकार चतुष्टक (Linear Tetrad)
5. द्वि केन्द्रकीय भ्रूण कोष वाला बीजाण्ड
6. चतुष्केन्द्रकीय भ्रूण कोष वाला बीजाण्ड
7. वयस्क भ्रूण कोष से होता हुआ बीजाण्ड का अनुदैर्घ्य काट

8. भ्रूण की गोलाकार अवस्था
9. भ्रूण की हृदयाकार अवस्था
10. अश्व नाल के जैसे आकार का भ्रूण
11. दो बीजपत्रों को दर्शाते हुए वयस्क भ्रूण

15.3 प्रयोग विधि

दी गई सभी स्लाइड्स को ध्यानपूर्वक देखिए, उनके स्पष्ट व चिन्हित आरेख बनाइये और उन पर टिप्पणी लिखिए।

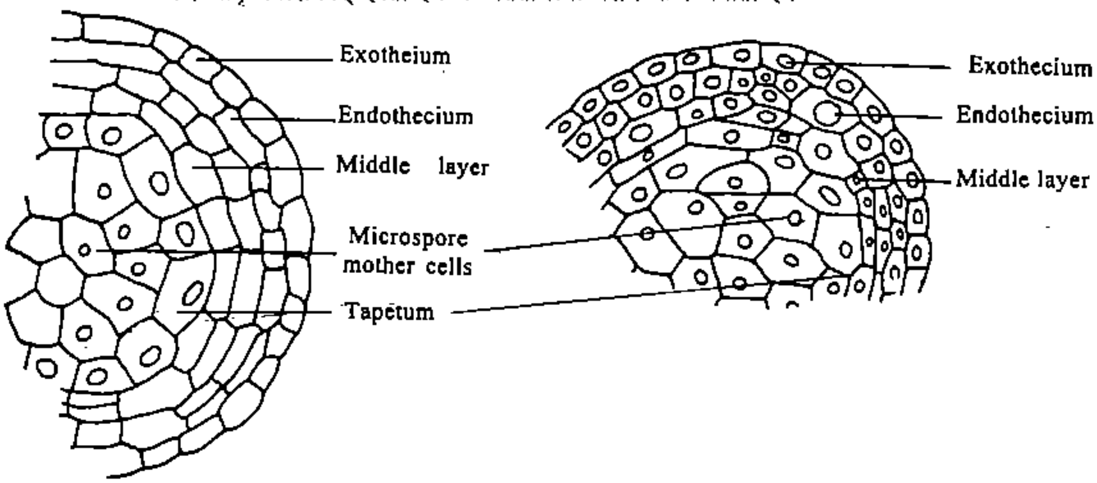
(चित्रों को उसी प्रकार बनाइये जैसा कि आप उन्हें सूक्ष्मदर्शी द्वारा देखें, किताब की नकल ना करें।)

15.4 निरीक्षण

क : नर युग्मकोद्भिद का अध्ययन :

1 तरुण (विकासशील) पराग कोष की अनुप्रस्थ काट

1. यह एक बहुकोशिकीय, चतुष्कोणीय (चार कोनों वाली) संरचना है।
2. इसमें चार लघु बीजाणु धानियाँ होती हैं तथा एक मध्यवर्ती संयोजक ऊतक (Connective tissue) होता है जो कि पुंतन्तु (Filament) से जुड़ा रहता है।
3. प्रत्येक लघु बीजाणु धानी के मध्य भाग में बीजाणुजनन ऊतक (Sporogenous tissue) लघु बीजाण मातृ कोशिकाएँ होती हैं। ये अंततोगत्वा पराग कण बनाती हैं।

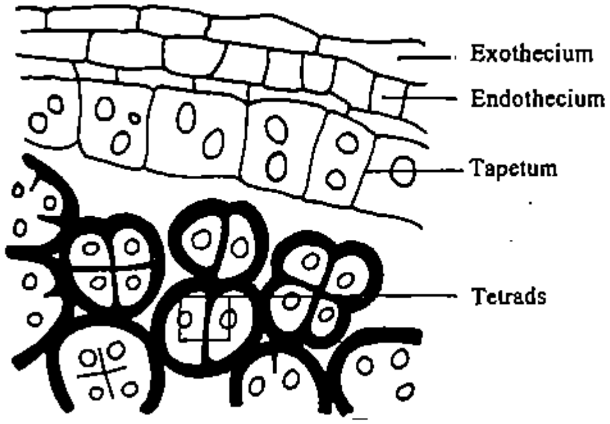


चित्र 15.1 : तरुण विकासशील पराग कोष की अनुप्रस्थ काट

4. सभी लघु बीजाणु मातृ कोशिकाएँ या पराग कण मातृ कोशिकाएँ, जीव द्रव्यतंतु (plasmodesmata) के द्वारा आपस में जुड़ी रहती हैं।

2: चतुष्टकों को दर्शाता हुआ पराग कोष की अनुप्रस्थ काट

1. लघु बीजाणु जनन के दौरान परागकोप की भित्ति में स्पष्ट बदलाव आते हैं।
2. मध्य परत/परतें आमतौर पर पिस जाती हैं और क्रमश: नष्ट हो जाती हैं।
3. इसके विपरीत टेपीटम की कोशिकाएँ काफी बड़ी हो जाती हैं और एक जटिल परासंरचना को विकसित करती हैं, जो कि यह दर्शाता है कि वे उपापचयन में काफी सक्रिय हो गई हैं।
4. बाह्यस्थीसियम की कोशिकाएँ खिंच जाती हैं तथा अंतस्थीसियम में फाइब्रोन्स (Fibrons) विकसित हो जाते हैं और कोशिकाएँ बड़ी और धानीयुक्त (Vacuolated) भी हो जाती हैं।
5. लघु बीजाणु जनन के पश्चात् चतुष्टकों का निर्माण होता है।
6. लघु बीजाणु तभी विभेदित (Differentiate) होने लगते हैं, जबकि वो चतुष्टकों से जुड़े रहते हैं और कैलोसिक भित्ति (Callosic wall) से घिरे रहते हैं।



चित्र 15.2 : चतुष्टकों को दिखाते हुए पराग कोष की अनुप्रस्थ काट (T.S.)

ग : पराग कणों को दर्शाता हुआ वयस्क पराग कोष की अनुप्रस्थ काट (T.S.)

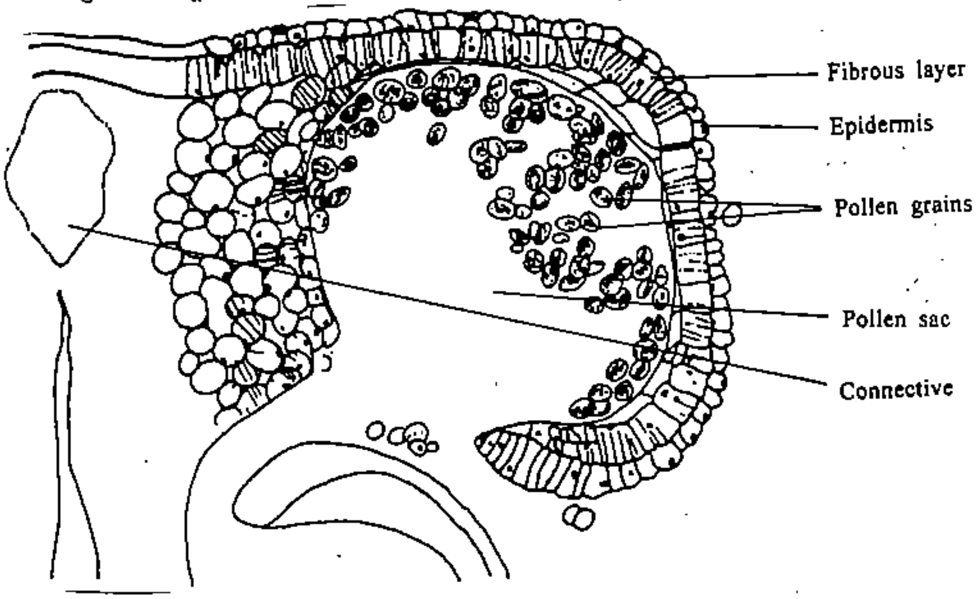
1. एक प्रारूपिक पराग कोष चार बीजाणु धानी युक्त होता है। इसमें एक वंध्य ऊतक (Sterile tissue) का खण्ड होता है, जिसे संयोजक कहते हैं, जिसके दोनों तरफ एक एक पराग कोष कोष्ठ होता है।

2. एक वयस्क पराग कोष की भित्ति में एक परत बाह्य स्थीसियम की, इसके बाद अंदर की ओर एक परत अंतस्थीसियम की, 2 अथवा 3 मध्य परतें तथा एक परत टेपीटम की होती है।

3. टेपीटम पराग कोष भित्ति की सबसे अंदर की परत है और इसका सबसे अधिक विकास लघु बीजाणु जनन की चतुष्टक अवस्था में होता है। प्रारूपिक टेपीटम, कोशिकाओं की एक परत से बना होता है, जिसकी विशिष्टता सघन कोशिका द्रव्य और स्पष्ट केन्द्रक है।

4. बीजाणुजनन कोशिकाऐं या तो सीधे ही लघु बीजाणु मातृ कोशिका की तरह कार्य करने लगती हैं अथवा अपनी संख्या को बढ़ाने के लिए कुछ सूत्रीय विभाजनों के बाद अर्धसूत्री विभाजन करती हैं।

5. प्रत्येक पराग कण मातृ कोशिका, अर्धसूत्री विभाजन के द्वारा चार अगुणित (Haploid) लघु बीजाणुओं के समूह, को जन्म देती है।

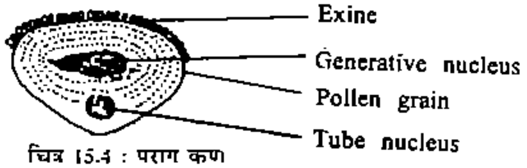


चित्र 15.3 : स्फुटन (Dehiscence) को दर्शाते हुए एक वयस्क पराग कोष की अनुप्रस्थ काट (T.S.)

6. ये चार लघु बीजाणु संयुक्त रूप में लघु बीजाणु चतुष्टक कहलाते हैं।

7. लघु बीजाणु, चतुष्टकों से निकलने के पश्चात् पराग कण कहलाते हैं।

8. पराग कण दो असमान कोशिकाओं में विभाजित होते हैं। बड़ी कायिक कोशिका (Vegetative cell) पराग नलिका को जन्म देती है तथा छोटी जनन कोशिका (Generative cell) एक और विभाजन के पश्चात्, दो शुक्राणुओं (sperms) को जन्म देती हैं।



चित्र 15.4 : पराग कण

9. पराग कणों में दो परतें होती हैं, अन्दर वाली अंत:चोल (Intine) तथा बाहर वाली , बाह्य चोल (Exine) कहलाती है।

मादा युग्मकोद्भिद का अध्ययन

1. **विभिन्न प्रकार के बीजाण्डों को दिखाते हुए अण्ड कोषों के अनुदैर्घ्य काट**

i) **ऋजु** (Orthrotropous) : जब बीजाण्ड द्वार (Micropyle), निभाग (Chalaza), तथा बीजांड वृंत (Funicle) एक सीधी रेखा में होते हैं। उदाहरण : पोलीगोनेसी (Polygonaceae) अर्टीकिसी (Urticaceae)

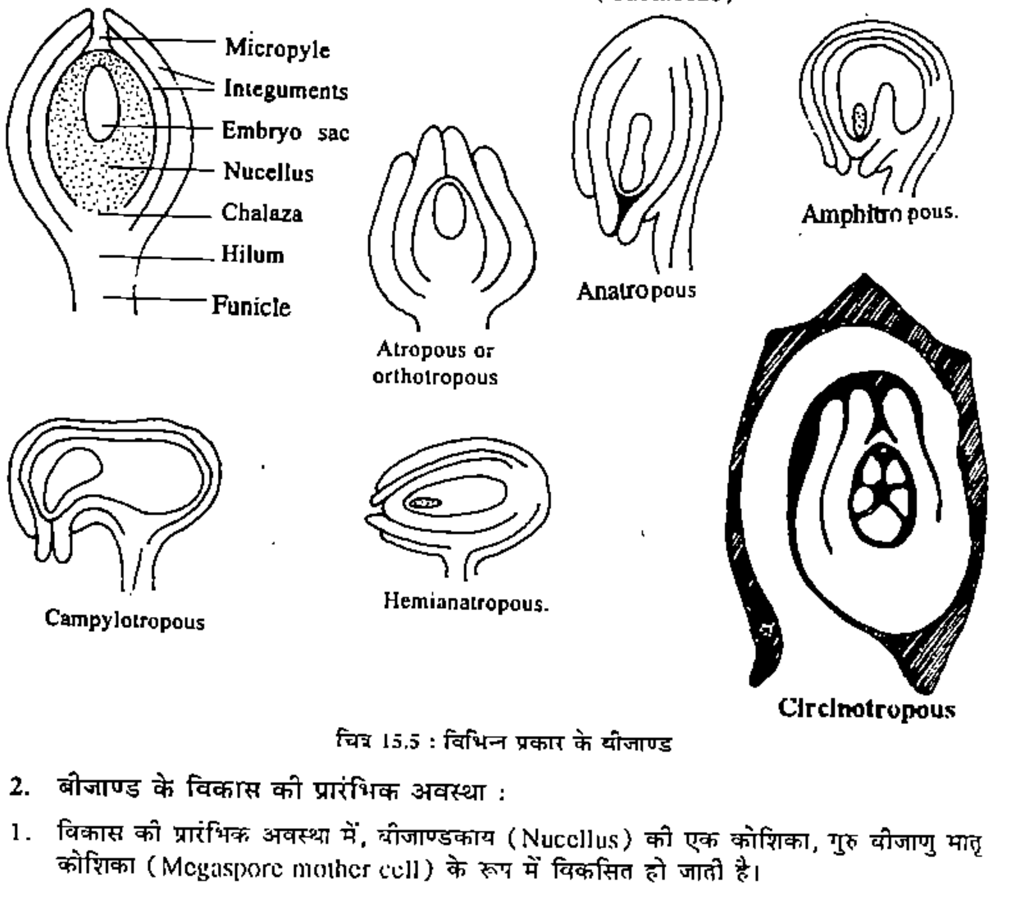
ii) **प्रतीप** (Anatropous) : जब बीजांड वृंत, निभाग के नीचे की ओर वक्रित (Curved) होता है, जिससे कि बीजांड अपने वृंत (stalk) की ओर झुक जाता है (अथवा जब बीजांडद्वार, बीजांडासन (Placenta) के निकट आ जाता है) उदाहरणा: सिम्पेटली (Sympetalae)

iii) **अनुप्रस्थ** (Amphitropous) : जब बीजाण्ड का अनुदैर्घ्य अक्ष (Longitudinal axis) बीजांडवृत के समकोण पर होता है अथवा जब निभाग और बीजांड द्वार एक सीधी रेखा में बीजांडवृत के समकोण पर होते हैं। उदाहरण : क्रोसोसोमेटेसी (Crossosomataceae)

iv) **वक्र** (Campylotropous) : जब बीजांड, वृंत पर ना झुक कर अपने ऊपर ही झुका हुआ होता है, जिससे कि बीजांड द्वार, निभाग और बीजांड द्वार पास पास आ जाते हैं। उदाहरण : चीनोपोडिएसी (Chenopodiaceae)

v) **अर्धानुवर्ती** (Hemianatropous) : इसमें बीजांड अनुप्रस्थ या आड़ा अथवा बीजांड वृंत से समकोण सा बनाते हुए होता है। निभाग और बीजांडद्वार एक सीधी रेखा में होते हैं। उदाहरण : प्रिमुलेसी (Primulaceae)

vi) **कुंडलित** (Circinotropous) : इसमें बीजांड वृंत बहुत लंबा होता है, और बीजांड इस प्रकार 360° के कोण पर घूम जाता है, जिससे के वह पूरी तरह गोलाई में बीजाण्ड वृंत से घिर जाता है और बीजाण्डद्वार ऊपर हो जाता है। उदाहरण : कैक्टेसी (Cactaceae)

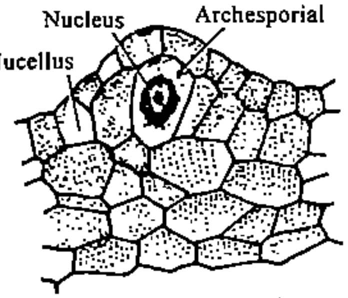


चित्र 15.5 : विभिन्न प्रकार के बीजाण्ड

2. **बीजाण्ड के विकास की प्रारंभिक अवस्था :**

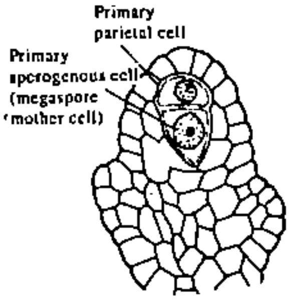
1. विकास की प्रारंभिक अवस्था में, बीजाण्डकाय (Nucellus) की एक कोशिका, गुरु बीजाणु मातृ कोशिका (Megaspore mother cell) के रूप में विकसित हो जाती है।

2. गुरु बीजाणु मातृ कोशिका अपने अपेक्षाकृत बड़े आकार, सघन कोशिका-द्रव्य (Cytoplasm) तथा अधिक उन्नत केन्द्रक के कारण सुस्पष्ट होती है।
3. गुरु बीजाणु का प्रप्रसूतक (Archesporial) कोशिका, सीधे ही गुरु बीजाणु मातृ कोशिका की तरह व्यवहार करने लगती है अथवा यह विभाजित होकर कुछ भित्तीय ऊतकों (wall tissue) का निर्माण करती है।



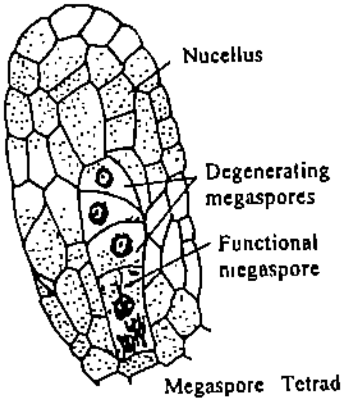
चित्र 15.6 : एक प्रारंभिक प्रप्रसूतक

3. **गुरु बीजाणु मातृ कोशिका की द्विकोशिकीय अवस्था :**
1. दो कोशिकाऐं, एक के ऊपर एक स्थित रहती हैं।
2. ये अर्धसूत्री विभाजन के बाद बनती हैं और इसलिए प्रत्येक कोशिका में गुणसूत्रों का अगुणित समूह रहता है।
3. इन दो कोशिकाओं से चतुष्टक का निर्माण होता है।



चित्र 15.7 : गुरु बीजाणु मातृ कोशिका (द्विकोशिकीय अवस्था)

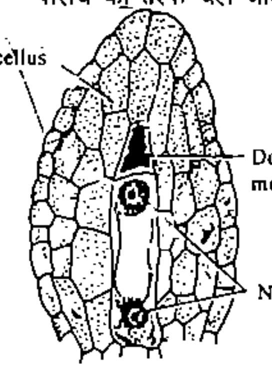
4. **गुरु बीजाणुओं का रेखाकार चतुष्टक :**
1. चार गुरु बीजाणु एक रेखा में व्यवस्थित रहते हैं।
2. नियमानुसार चार में से एक बीजाणु ही बचता है, जबकि बाकी तीनों नष्ट हो जाते हैं।
3. बचा हुआ कार्यशील बीजाणु जो कि एकल, द्वि अथवा चतुष्केन्द्रकीय हो सकता है, वह भ्रूण कोष - मादा युग्मकोद्भिद - के रूप में विकसित होता है।



चित्र 15.8 : गुरु बीजाणुओं का रेखाकार चतुष्टक

5. **द्विकेन्द्रकीय भ्रूण कोष वाला बीजाण्ड :**
1. भ्रूण कोष में दो केन्द्रक होते हैं।
2. ये दो केन्द्रक कार्यशील गुरु बीजाणु के केन्द्रक के विघटन के द्वारा बनते हैं।

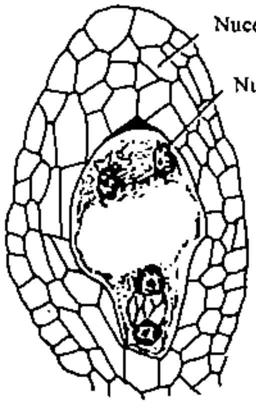
3. इसके बाद दोनों केन्द्रक अलग हो जाते हैं और बीच में बड़ी धानी (Vacuole) होने के कारण परिधि की तरफ चले जाते हैं।



चित्र 15.9 : द्विकेन्द्रकीय भ्रूण कोष

6. **चार केन्द्रकीय भ्रूण कोष वाला बीजाण्ड :**

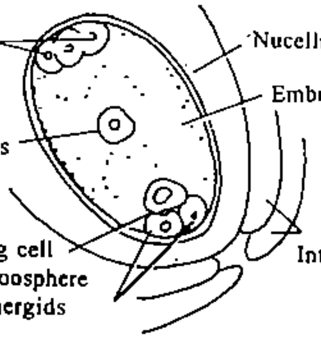
1. भ्रूण कोष में चार केन्द्रक होते हैं।
2. दो केन्द्रक निभागीय सिरे पर तथा अन्य दो बीजांडद्वार के सिरे पर उपस्थित रहते हैं।
3. एक बड़ी केन्द्रीय धानी उपस्थित होती है।
4. बीजांडद्वार के सिरे पर नष्ट हुए गुरु बीजाणुओं के अवशेष देखे जा सकते हैं।



चित्र 15.10 : चार केन्द्रकीय भ्रूण कोष

7. **वयस्क भ्रूण कोष की अनुदैर्घ्य काट (L.S.) :**

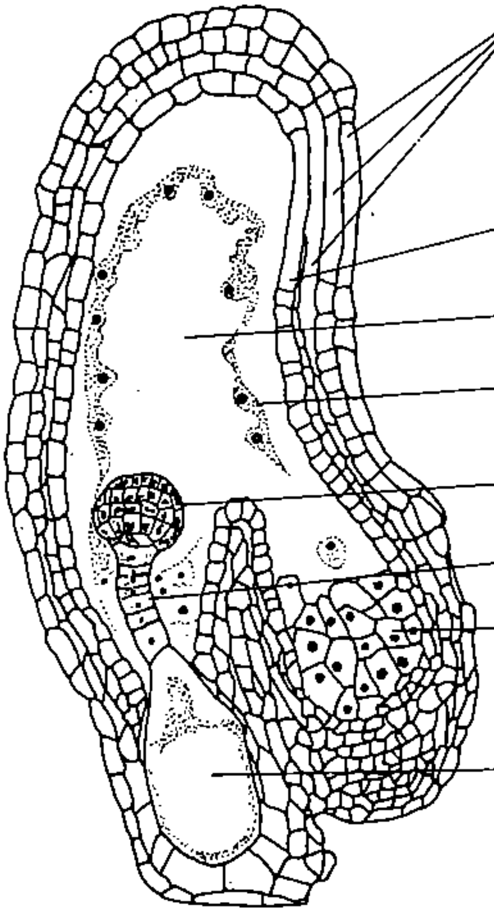
1. वयस्क भ्रूण कोष आम तौर पर बीजांडकाय की एक पतली परत से घिरा हुआ होता है जो अध्यावरणों से घिरा रहता है।
2. सिर्फ बीजाण्ड द्वार की तरफ अध्यावरण अनुपस्थित होते हैं, जहाँ पर बीजांडकाय खुला रहता है।
3. भ्रूण कोष में निभागीय सिरे पर तीन प्रतिव्यासांत (Antipodal) कोशिकाऐं होती हैं।
4. दो केन्द्रक, जो कि ध्रुवीय केन्द्रक (Polar nuclei) कहलाते हैं, पास आते हैं और ठीक निषेचन से पूर्व आपस में मिल जाते हैं तथा द्वितिय केन्द्रक बनाते हैं।
5. तीन केन्द्रक जो कि बीजाण्डद्वार की ओर चले जाते हैं, ये अण्ड समुच्चय (Egg apparatus) बनाते हैं जिसमें एक अण्ड कोशिका तथा दो सहाय कोशिकाऐं (Synergids) होती हैं।



चित्र 15.11 : भ्रूण कोष

8. भ्रूण की गोलाकार अवस्था :

1. यह एक प्रारंभिक भ्रूण है।
2. गोलाकार भाग प्रारंभिक भ्रूण है, जोकि निलंबक (Suspensor) द्वारा जुड़ा रहता है।
3. निलंबक की आखिरी कोशिका बहुत बड़ी हो जाती है और एक कंदीय आधार कोशिका (Bulbous base cell) बनाती है।
4. यह बड़ी हुई आधार कोशिका, बीजाण्ड से भोज्य पदार्थों के अवचूषण कर, (sucking) और फिर उसे गोलीय भाग तक पहुंचाने का कार्य करती है जो कि भ्रूण का स्थूल भाग है।
5. आधार कोशिका में एक बड़ी धानी होती है और यह आधारीय चूषण कोशिका का कार्य भी करती है।



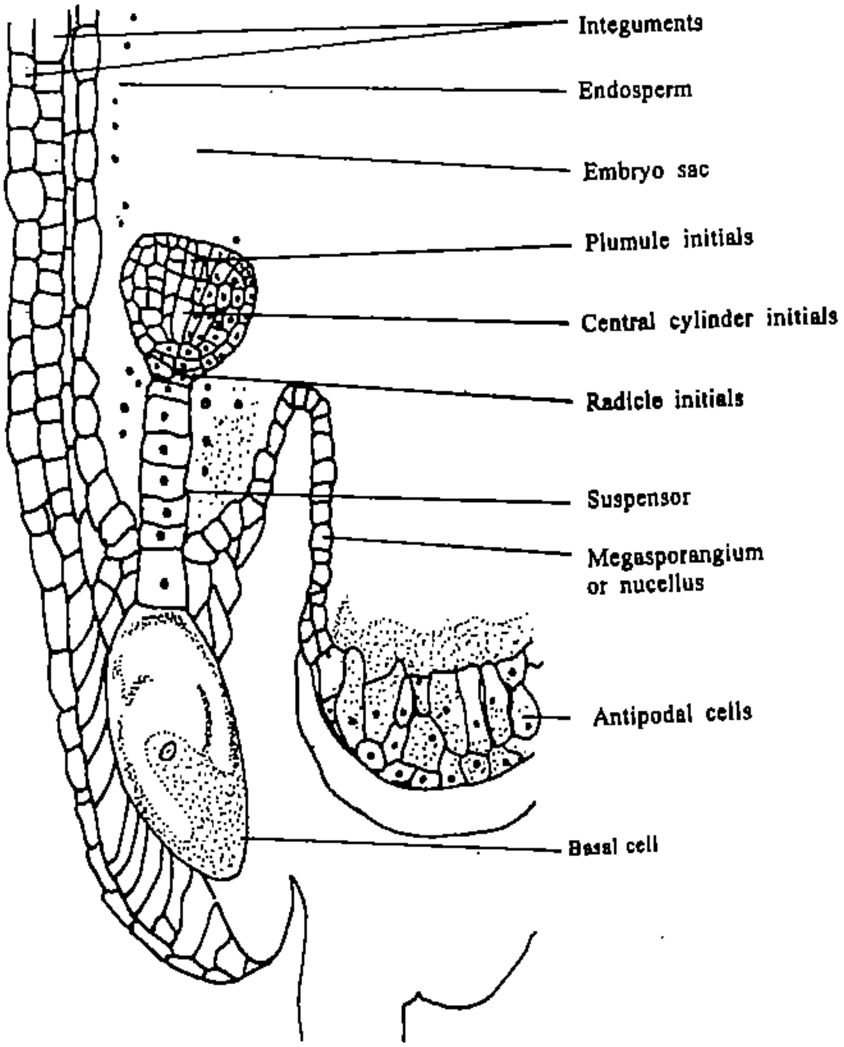
चित्र 15.12 : भ्रूण की गोलाकार अवस्था

9. भ्रूण की हृदयाकार अवस्था :

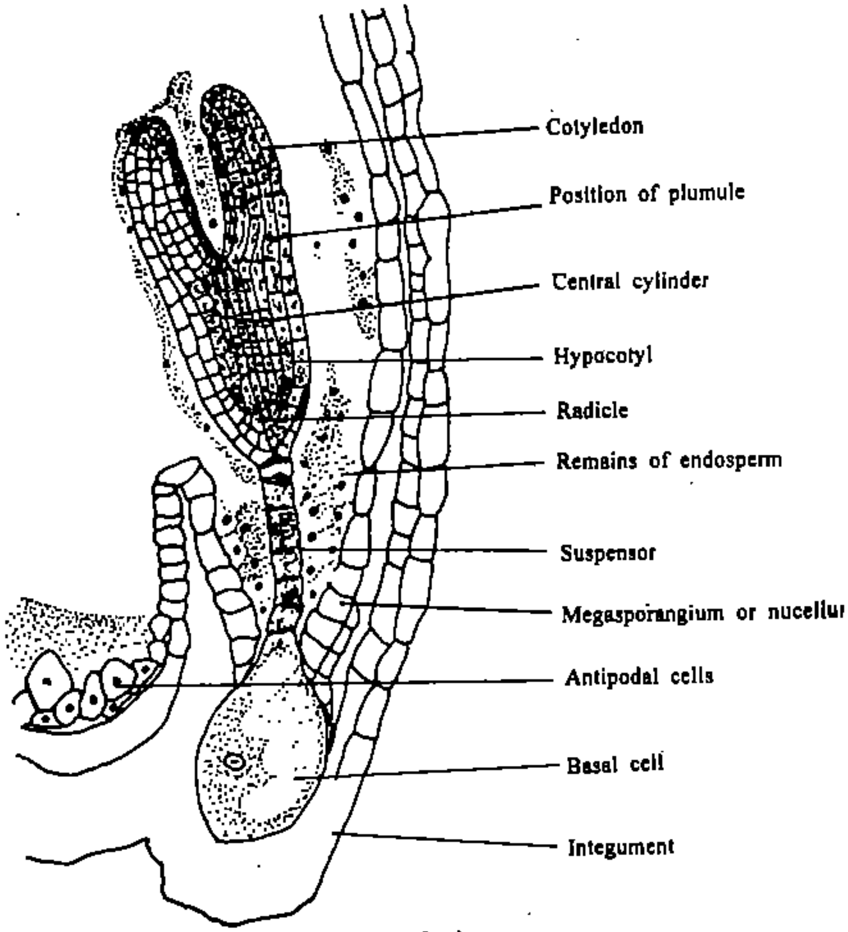
1. भ्रूण में तीन तंत्र स्थापित हो जाते हैं–परिधीय अथवा त्वचीय तंत्र (Dermal system), मध्य अथवा भूतंत्र (Ground system) और अक्षीय अथवा संवहन तंत्र (Vascular system)
2. विभाज्योतक (Meristem) अथवा ऊतक जन (Histogen) का निर्माण तत्काल आरंभ हो जाता है।
3. भ्रूणीय अक्ष चौड़ा हो जाता है, जिससे दो विपरीत उन्नतांश (Elevations) दिखाई पड़ने लगते हैं।
4. आद्यक (Primordia) की ऊपर की ओर की वृद्धि से रूपरेखा स्पष्ट हो जाती है और भ्रूण हृदयाकार बन जाता है।

10. भ्रूण का अश्व नाल के समान आकार :

1. वयस्क भ्रूण की संरचना अश्व नाल के समान होती है। वह भ्रूणपोष के अन्दर धंसा भी हो सकता है जिसका कि अधिकांश भाग भ्रूण के द्वारा उपयोग कर लिया जाता है।
2. बीजपत्र (Cotyledons) बीजपत्राधर (Hypocotyl) से अधिक लंबे हो जाते हैं और एक दूसरे से अधिलग्न (Adpressed) रहते हैं।
3. बीजपत्राधर एक छोटी अक्ष है जो कि जड़ विभाज्योतक (Root meristem) में जाकर समाप्त हो जाती है।



चित्र 15.13 : भ्रूण की हृदयाकार अवस्था

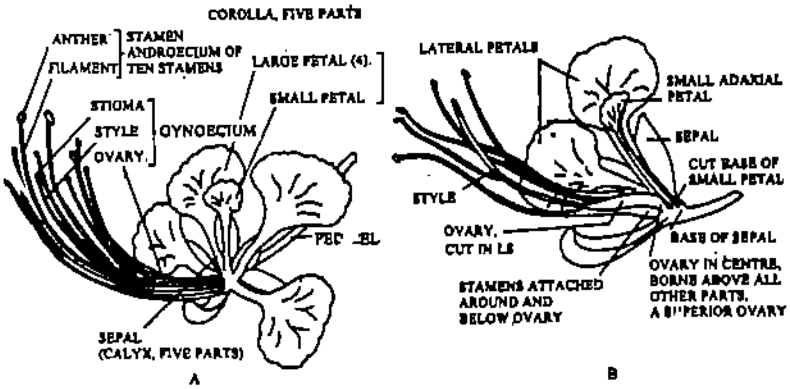


चित्र 15.14 : भ्रूण का अश्व नाल के जैसा आकार

जिसमें हैं, सम्पूर्ण पुष्प का चित्र वनाना, पुष्प की अनुदैर्ध्य काट (L.S.) का चित्र वनाना, पुष्प आरेख (floral diagram) का चित्र बनाना तथा पुष्प सूत्र (floral formula) की संरचना वनाना है। इनमें से प्रत्येक चित्र पौधे के बारे में महत्वपूर्ण जानकारी देता हैं।

i) चित्र

संपूर्ण पुष्प का चित्र इस प्रकार से वनाना चाहिए किप अपने आप आरेख में जितने अधिक संभव हो सके उतने संरचनीय विस्तारों को दर्शा सकें। (चित्र 16.1. A) आधे पुष्प की संरचना को, पुष्प को दो भागों में काटने के पश्चात् चित्रित करना चाहिए। यह कार्य तेज उस्तरे (razor) के ब्लेड से किया जाता है, वृतंक (pedicel) से आरंभ करते हुए, पुष्प के अपाक्ष (abaxial) ओर के मध्य से होकर विभाजित करते हैं। अव पुष्प को मेज पर रखिये अथवा स्लाइड पर रख कर विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी के नीचे रखिये। (अगर पुष्प छोटा हो) तथा उसका चित्र वनाइये। आधे पुष्प का चित्र बनाने के बाद, आप विभिन्न भागों में धानी से जुड़ाव के विस्तारों का निरीक्षण कर सकते हैं (चित्र 16.1 B)।



चित्र 16.1 : A) पूर्ण पुष्प का चित्र B। आधे पुष्प का चित्र, आधा पुष्प। विभिन्न भागों का धानी से जुड़ाव तथा अण्डाशय को आंतरिक संरचना को दिखाता है।

तालिका 16.1 : पुष्प आरेख में प्रयुक्त होने वाले प्रतीक (symbols)

पुष्प के भाग आदि	प्रतीक
पुष्प अक्ष कक्षान्तरकारी सहपत्र	
बाह्यदल	
दल	
परिदल पुंज (perianth) के भाग (जब सभी दलाभ (petaloid) हों	दल के समान
पुष्प विन्यास (aestivation)	आरेख में किनारों का अतिव्यापन
दलों, वाह्यदलों का सहज संयोजन (connation)	किनारे लूप अथवा रेखा द्वारा जुड़े हुए
पुंकेसर (stamens)	
अंत:मुखी/अन्दर की ओर (introse)	
बर्हिमुखी/बाहर की ओर (extrose)	
पुंकेसरों का संयोजन परागकोष (anther) तंतुल (filamentous)	
[(पुंकेसरी नलिका (staminal tube)]	
पुंकेसरो की संलग्नता (adnation) (eg. दललग्न (epipetalous)	
अण्डप (carpel) जायांग (gynecium)	उस प्रकार से चित्रित कीजिए जैसा बीजाण्डन्यास के T.S में दिखे।

तालिका 16.2 : पुष्प सूत्र में प्रयुक्त होने वाले प्रतीक

पुष्प भाग अथवा विशिष्टता	प्रतीक	उदाहरण
सममिति (symmetry)		
त्रिज्या सममित (actinomorphic)	⊕	-
एक व्यास सममित (zygomorphic)	·|·	-
पुष्प का लिंग		-
पुंकेसरी (नर)	♂	-
स्त्रीकेसरी (मादा)	♀	-
उभयलिंगी (hermaphrodite)	⚥	-
वाह्यदल पुंज (calyx)	K	K_5 = 5 वाह्य दल, मुक्त
दलपुंज (corolla)	C	C_5 = 5 दल, मुक्त
परिदलपुंज के भाग (यदि सभी समान हैं)	P	P_5 = 5 परिदलपुंज भाग, मुक्त
पुमंग (androecium)	A	A_5 = 5 पुंकेसर, मुक्त
जायांग (gynoecium)		
अण्डाशय अन्य भागों के ऊपर ओर	$\underline{G}$	$\underline{G}_3$ 3 अण्डप अन्य भागों के ऊपर की
अण्डाशय अन्य भागों के नीचे	$\overline{G}$	$\overline{G}_3$ = 3 अण्डप अन्य भागों के नीचे
संयोजन (Conation)	कोष्ठक	$K_{(5)}$ = 5 संयोजित वाहय दल
संलग्रता (Adnation)	क्षैतिज कोष्ठक	$\widehat{C_5A_5}$ = 5 दललग्न पुंकेसर
भागों की असंख्य संख्या	∞	A ∞ = पुंकेसरों की असंख्य संख्या

ii) पुष्प आरेख :

पुष्प आरेख का चित्रण, बहुत औपचारिक तरीके से पुष्प के विभिन्न भागों की संख्या तथा आपसी संबन्धों को दिखाने के लिये किया जाता है।

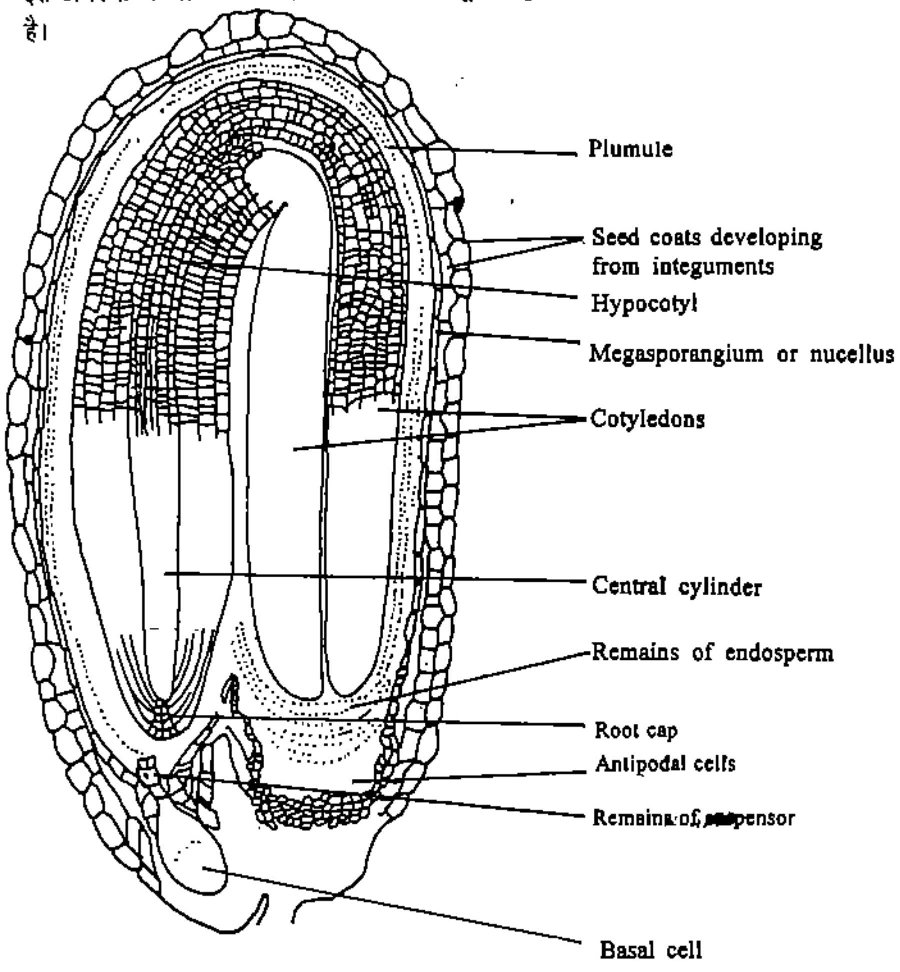
प्रयोग में लाये जा रहे प्रतीकों को तालिका 16.1 में दिखाया गया है। इनमें पुष्पक्रम के अक्ष के लिये जिससे कि पुष्प जुड़ा रहता है तथा सहपत्र (bract) के लिये जो पुष्प को कक्षांतरित (subtend) करता है, के लिये प्रतीक शामिल हैं । इन दोनों के बीच में चार चक्कर (whorls) पुष्प के भागों के रेखाचित्रों के होते हैं जैसे बाह्यदल पुंज, दलपुंज, पुमंग तथा जायांग, जो चार संकेन्द्री वृतों (concentric circles) के रूप में दर्शाये जाते है। अगर दलपुंजों तथा पुंकेसरों के एक से अधिक चक्कर होंगे तो अधिक वृत बनेंगे। यदि पुष्प के कुछ भाग सर्पिलाकार (spirally) रूप में व्यवस्थित हो तो, सर्पिल को उचित वृत पर अध्यारोपित (superimposed) कर दिया जायेगा। प्रत्येक भाग के लिये प्रतीकों को (तालिका 16.2) तब जोड़ दिया जाता है (चित्र 16.2) जो उन गुणों को दर्शाते हैं जै बाह्य दलपुंज तथा दलपुंज का पुष्प विन्यास, पुंकेसरों के खुलने की दिशा (अन्दर की ओर अथवा बाहर की ओर), पुंकेसरों का संयोजन अथवा संलग्रता तथा कोष्ठकों (loculi) की संख्या तथा स्थिति, साथ ही अण्डाशय की अनुप्रस्थ काट (T.S.) में बीजाण्डन्यास। जब पुष्प आरेख पूरा होगा (चित्र 16.2) तब आप उसमें पुष्प के अधिकांश गुणों को जान सकेंगे।

iii) पुष्प सूत्र :

पुष्प सूत्र पुष्प की संरचना को प्रदर्शित करने का एक अन्य तरीका है। सूत्र में पहला प्रतीक दर्शाता है कि पुष्प त्रिज्यासममित है अथवा एक व्यास सममित है तथा क्या उसमें पुंकेसर तथा स्त्रीकेसर दोनों समहित हैं अथवा सिर्फ पुंकेसर अथवा स्त्रीकेसर हैं। बाह्यदल पुंज को K से तथा दलपुंज को C से प्रदर्शित किया जाता है तथा बाह्यदलों अथवा दलों की संख्या को जोड़ दिया जाता है। यदि बाह्यदल अथवा दल जुड़े हुए होते हैं तो संख्या को कोष्ठक के अन्दर लिखा जाता है। परिदलपुंज के लिए प्रतीक P का प्रयोग किया जाता है। पुंकेसर A से दिखाये जाते हैं तथा भागों की संलग्नता को, उन भागों को प्रदर्शित करने वाले अक्षरों के ऊपर एक कोष्ठक जोड़कर दर्शाया जाता है। जायांग को प्रतीक G से प्रदर्शित किया जाता है तथा अण्डपों की संख्या को जोड़ने के बाद एक रेखा नीचे की तरफ खींच दी जाती है, यदि अण्डाशय उच्च (superior) है यदि अण्डाशय निम्न (inferior)) है तो रेखा ऊपर की तरफ खींची जाती है।

11. दो बीजपत्रों को दर्शाता हुआ वयस्क भ्रूण :

1. यह पूर्ण वयस्क भ्रूण है।
2. बीजपत्र पूर्णतः विकसित हो जाते हैं। प्रांकुर (Plumule), मध्य सिलिंडर और मूलगोप (Root cap) भी बन जाते हैं।
3. वयस्क भ्रूण की कोशिकाऐं संचित भोज्य पदार्थ के रूप में मंड कणों (Starch grains) को अर्जित कर लेते हैं।
4. इस अवस्था में बीज अलग हो जाता है और भ्रूण अंकुरण तक के लिए सुपुप्त (Dormant) रहता है।



चित्र 15.15 : दो बीजपत्रों को दर्शाता हुआ वयस्क भ्रूण

प्रयोग 16 : कुछ प्रमुख द्विबीजपत्री (Dicot) तथा एकबीजपत्री (Monocot) कुलों का अध्ययन

16.1 प्रस्तावना

पुष्पीय पौधें मुख्यत: अपनी पुष्पीय संरचना के आधार पर वर्गीकृत किये जाते हैं। ये इसलिये है, क्योंकि सामान्य तौर पर यह माना जाता है कि प्रजनन संरचनाऐं (repoductive structures) विकास के दौरान पौधे को अन्य संरचनाओं की अपेक्षा कम तेजी से बदलती हैं। एक वनस्पतिज्ञ को वनस्पति-जात/फ्लोरा (flora) की मदद से पौधों को पहचानने में अवश्य समर्थ होना चाहिए तथा फ्लोरा के प्रयोग के लिये बहुत विस्तृत तकनीकी शब्द ज्ञान की आवश्यकता होती है। अधिकांश शब्द (terms) जो आपने अपनी पूर्व कक्षाओं में पढ़ें हैं वे अध्ययन में प्रयुक्त किये गये हैं। यहाँ, हम कुछ प्रमुख कुलों (families) का अध्ययन करने जा रहे हैं। प्रत्येक कुल में से एक जाति (species) को विस्तार से वर्णित किया गया है।

उद्देश्य

इन कुलों का अध्ययन करने के बाद आप :

- इन कुलों के सदस्यों को पहचानने में,
- द्विबीजपत्री तथा एकबीजपत्री कुलों के बीच अन्तर करने में,
- यहाँ वर्णित किये गये कुलों के बीच में भिन्नताओं को बताने में समर्थ होंगे

16.2 आवश्यक सामग्री

A. *ओसमिम बेसीलिकम* [*Ocimum basilicum* (लेबिएटी)]

B. *ट्राइडेक्स प्रोकम्बेन्स* [*Tridax procumbens* (कम्पोजिटी)]

C. *पाइसम सेटाइवम* [*Pisum sativum* (पेपीलिओनेसी)]

D. *आर्जीमोन मेक्सीकाना* [*Argemone mexicana* (पापावेरसी)]

E. *रेननकुलस स्क्लेरेटस* [*Ranunculus sceleratus* रेननकुलेसी]

F. *ब्रेसिका कम्पेस्ट्रिस* [*Brassica campestris* (क्रूसीफेरी)]

G. *माल्वा सिल्वेस्ट्रिस* [(*Malva sylvestris*) मालवेसी]

H. *एलियम सीपा* [(*Alluim cepa*) लिलिएसी]

I. *ट्रिटिकम वल्गेयर* [(*Triticum vulgare*) ग्रेमिनी]

हाथों द्वारा इस्तेमाल किये जाने वाला लेन्स, फाइल बुक, विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी (Dissecting microscope).

16.3 प्रयोग विधि

वनस्पति-जात/फ्लोरा का वर्णन उसके कुछ गुणों के अध्ययन, जो पौधे की प्रकृति (habit) से आरंभ होकर तथा विभिन्न संरचनाओं के आकृति विज्ञान पर आधारित है। इस जानकारी में सर्वप्रथम पौधे के प्रकार (type) के बारे में जानकारी (पेड़, झाड़ी, आरोही लता (climber), शाक, पौधे का आकार, पौधे की प्रकृति (शयान/बिछा हुआ, सीधा, तना हुआ, आदि), पत्तियों की आकृति तथा उनका विन्यास, पुष्पक्रम (inflorescence) का प्रकार, पुष्प की संरचना तथा फलों के प्रकार/संरचनीय वर्णन में हैं दलों (petals) तथा बाह्य दलों (sepals) के पुष्प विन्यास (aestivation) तथा बीजाण्डन्यास (placentation) के प्रकार के बारे में जानकारी शामिल है।

पुष्पीय संरचनाओं को बनाते समय, कुछ औपचारिक प्रक्रियाऐं हैं जिनका अनुकरण करना चाहिए :

चित्र 16.2: तालिका (16.1) में दिये गये प्रतीकों का प्रयोग करते हुए पुष्प आरेख का निर्माण, *सिसलपीनिया पल्चेरीमा*

यहाँ दिया गया वर्णन, कुलों और जातियों के गुणों को संक्षेपित करने का एक प्रयास है। वे कुल जो यहाँ वर्णित किये गये हैं उनको द्विबीजपत्री तथा एकबीजपत्री पौधों की सामान्य भिन्नताओं को समझाने के लिये, तथा कुछ प्रमुख कुलों को अर्थपूर्ण क्रॉस-सेक्शन (cross-section) को देने के लिए, छाँटा गया है। प्रत्येक कुल में सामान्य वर्णन तथा गुणों को तथा साथ ही एक साधारण उदाहरण के संक्षिप्त वर्णन को दिया गया है।

16.4: निरीक्षण

A. लेबिएटी (Labiatae) ***ओसीमम बेसीलिकम***

प्रकृति: कृष्ट बहुवर्षी अथवा जंगली, धार्मिक महत्व की, तेज सुगन्धित गन्ध वाली शाक है।

जड़: मूलसा तथा शाखित है।

तना: सीधा, शाकीय, शाखित, हरा, ठोस, वृद्वि के साथ तना काष्ठीय हो जाता है, चौकोर तथा रोम युक्त है।

पत्ती: सादा, अन अनुपर्णी (ex-stipulate), पर्णवृतीय (petiolate) पर्णवृत रोमयुक्त होता है, विपरीत तथा क्रासयुक्त है। महत्वपूर्ण बात यह है कि पत्तीयों में तेल ग्रन्थियां होती है, जिन्हें मसले जाने पर उनमें से तीव्र सुगन्धित गन्ध निकलती है। किनारे चिकने (smooth), निशिताग्र (acute) शीर्ष (apex), शिराविन्यास एकशिरीय जाली रूपी (Unicostate reticulate venation) है।

पुष्प क्रम: कूट चक्रक (Verticillaster) अधिकतर (6-10) फूलों के चक्र होते हैं।

पुष्प: बैंगनीपन लिये हुए गुलाबी, सहपत्ती, हरा और रोमयुक्त, बाहरी सहपत्र, पूर्ण, द्विलिंगी (bisexual) , अधोजायांगी (hypogynous) होता है।

बाह्यदलपुंज: पांच, द्विओष्ठी (bilabiate), संयुक्त बाह्यदली होता है (gamosepalous), रोमयुक्त, पृष्ठबाह्य दल (विषम) अन्य से बड़ा होता है, तीव्र निशिताग्र, दल विन्यास कोरछादी (imbricate) होता है।

दलपुंज: 5 संयुक्त दली, द्विओष्ठी, रोमयुक्त, उपरी ओष्ठ 4 दलों के द्वारा तथा नीचे का एक बड़े अग्रदल द्वारा निर्मित होता है, गुलाबीपन लिये सफेद रंग के निम्र व कोरछादी दल विन्यास वाले होते हैं।

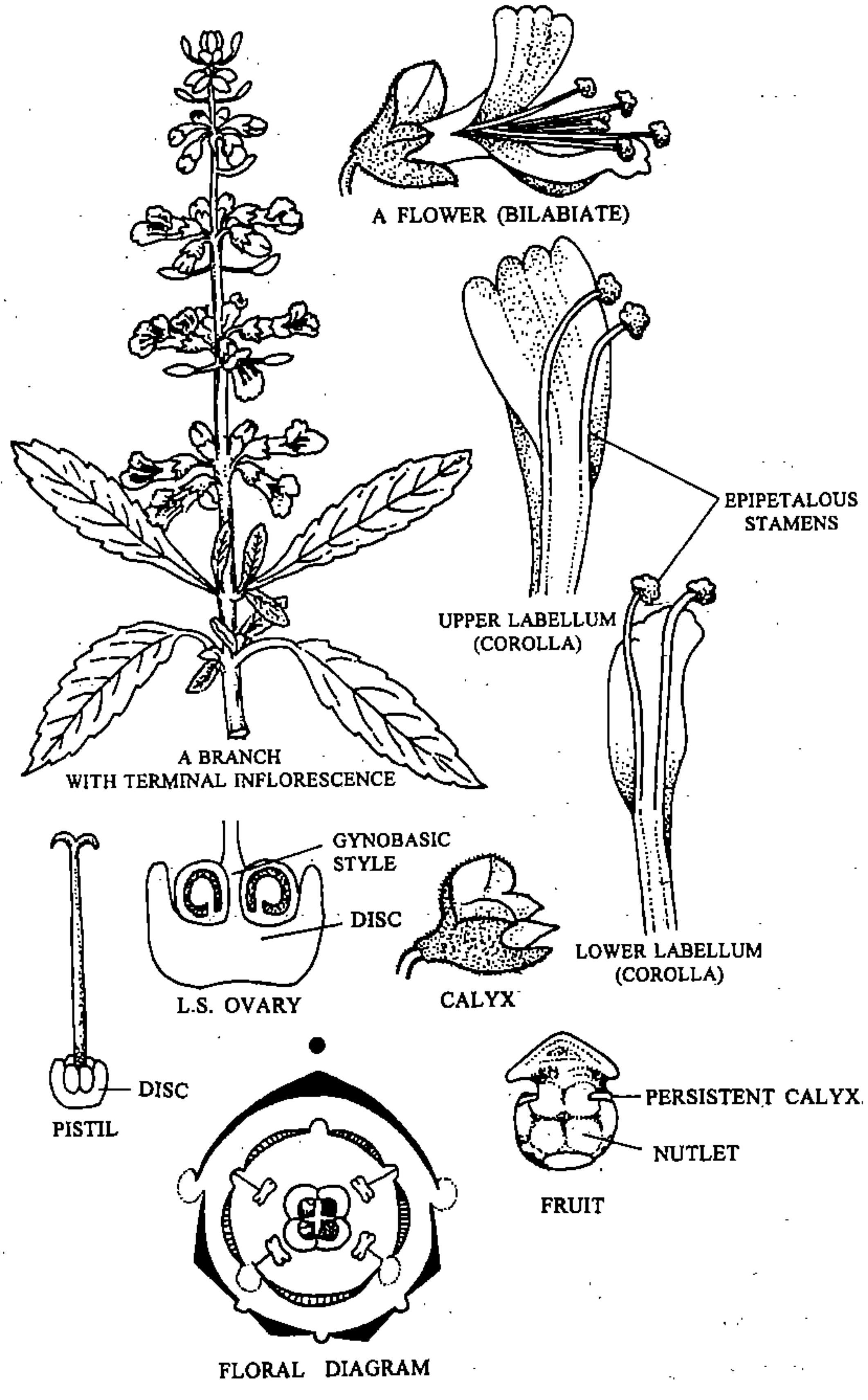
पुमंग: चार पुंकेसर, दललग्न पीछे का पुंकेसर नहीं होता है। द्विदीर्घी (Didynamous) यानि कि दो बड़े तथा दो छोटे) बड़े वाले पुंकेसरों में दोनों अग्र परागकोष (antherlobes) व उर्वर (fertile), छोटे वालों में दोनों परागकोष एक लंबे संयोजक द्वारा पृथक्कृत (separated) रहते हैं -उपरी कोष उर्वर होता है तथा निचला वाला बंध्य (sterile) होता है, परागण (pollination) उत्तोलक विधि (lever mechanism) को दर्शाते हैं, पुकेसर असंसर्गिक (exerted) , परागकोष अद्य:बद्ध (basifixed) तथा अंत:मुखी, पुंतंतु आधार रोमयुक्त होता है।

जायांग: द्विअंडपी (Bicarpellary), संयुक्तांडपी (syncarpous) उच्च अण्डाशय, जायांग 4 पालियुक्त (loled) तथा 4 कोष्ठक (4-locular) मिथ्यापट (false septum) के निर्माण के कारण हो जाती है। प्रत्येक कोष्ठ में एक बीजाण्ड (ovule) होता है स्तंभीय बीजाण्डन्यास (axile placentation), वर्तिका (style) लंबी तथा जायांगनाभिक (gynobasic) होती है।

फल: भिदुर (schizocarpic) , कार्सेरूलस (carcerulus)

पुष्प सूत्र: (%, ⚥, $K_{(1+4)}$, $C_{(1+4)}$, A_{2+2}, $G_{(2)}$)

कुल के सामान्य वंश (genera; *ल्यूकास (Leucas)*, *मैंथा* (Mentha) *साल्विया (Salvia)* , तथा *नेपेटा* (Nepata)



चित्र 16.3 : *ओसमिम बेसीलिकम* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय प्रदर्शन

B. कम्पोसिटी (Compositae) *ट्राइडेक्स प्रोकम्बेन्स*

प्रकृति: वहुवर्षी शाक, व्यर्थ भूमि (Waste land) पर खरपतवार (weed) की भांति उगा हुआ पाया जाता है।

जड़: मूसला-जड़ तंत्र होता है।

तना: शाकीय, कमजोर झुका हुआ, हरा, बेलनाकार (Cylindrical) तथा ठोस होता है।

पत्तियां: सवृंत (pedicellate), अन-अनुपर्णी (ex-stipulate), सादी, विपरीत, दंतीय अथवा सपालित (Lobed), एकशिरीय तथा जालिकायुक्त पर्णविन्यास (unicostate, reticulate venation) वाली होती है।

पुष्प क्रम: लंबी वृंतक (peduncle) पर एकल मुंडक (solitary capitulum), विषमयुग्मकी जिनमें जीभिकाकार (ligulate) अर-पुष्पक (ray-florets) तथा नलिकाकार (tubular) विम्ब-पुष्पक होते हैं, घण्टाकार (campanulate) परिचक्र (involucre) बनाते हुए द्विपंक्तिक सहपत्र (biseriate bract) होते हैं। धानी अवमुख (receptacle convex) होती है।

पुष्प: दो प्रकार के पुष्प हल्के पीले अर-पुष्पक, मुंडक की परिधि की ओर तथा गहरे पीले विम्ब पुष्पक केन्द्र की ओर होते हैं।

बिम्ब पुष्पक: सहपत्रिका सहित (bracteolate) सहपत्रिका पतली झिल्लीनुमा (membranous) तथा दीर्घस्थायी (persistent), पुष्पक नियमित, नलिकाकार तथा उभयलिंगी (hermaphrodite) होती है।

बाह्यदलपुंज: वहुत अधिक लघुकृत (reduced) मात्र रोमगुच्छ (Pappus) द्वारा प्रदर्शित होते हैं।

दलपुंज: 5 दल, संयुक्त दली, नलिकाकार, गहरे पीले रंग के होते हैं।

पुमंग: 5 पुंकेसर, युक्तकोशी (syngenecious), पुतन्तु मुक्त, दललग्नी (epipetalous), परागकोष, कोशिकीय छोटी पालि (auricle) युक्त होते हैं।

जायांग: द्विअंडपी, संयुक्त अंडपी, निम्न अण्डाशय, एककोष्ठीय एक आधारी (basal) बीजाण्ड सहित, वर्तिका सादा लंबी परागकोश नलिका से गुजरती हुई वर्तिकाग्र (stigma) द्विशाखित तथा रोमयुक्त होती है।

फल: सिप्सेला (cypsela) दीर्घस्थायी, रोमयुक्त, भंगुर (bristly) रोमगुच्छ सहित होता है।

अर-पुष्पक: सहपत्रिका सहित-सहपत्रिकाएँ झिल्लीनुमा, एक व्यास-सममित, एकलिंगी, मादा तथा जीभिकाकार (3 -पालियुक्त) होता है।

बाह्यदलपुंज: रोमयुक्त, रोमगुच्छ द्वारा प्रदर्शित होता है।

दलपुंज: त्रिशाखित, संयुक्त दली, जीभिकाकार, हल्के पीले रंग का होता है।

पुमंग: अनुपस्थित होते हैं।

जायांग: द्विअंडपी, संयुक्त अंडपी, अण्डाशय निम्न, एककोष्ठीय एक आधारी बीजाण्ड सहित, वर्तिकाग्र द्विशाखित होती है।

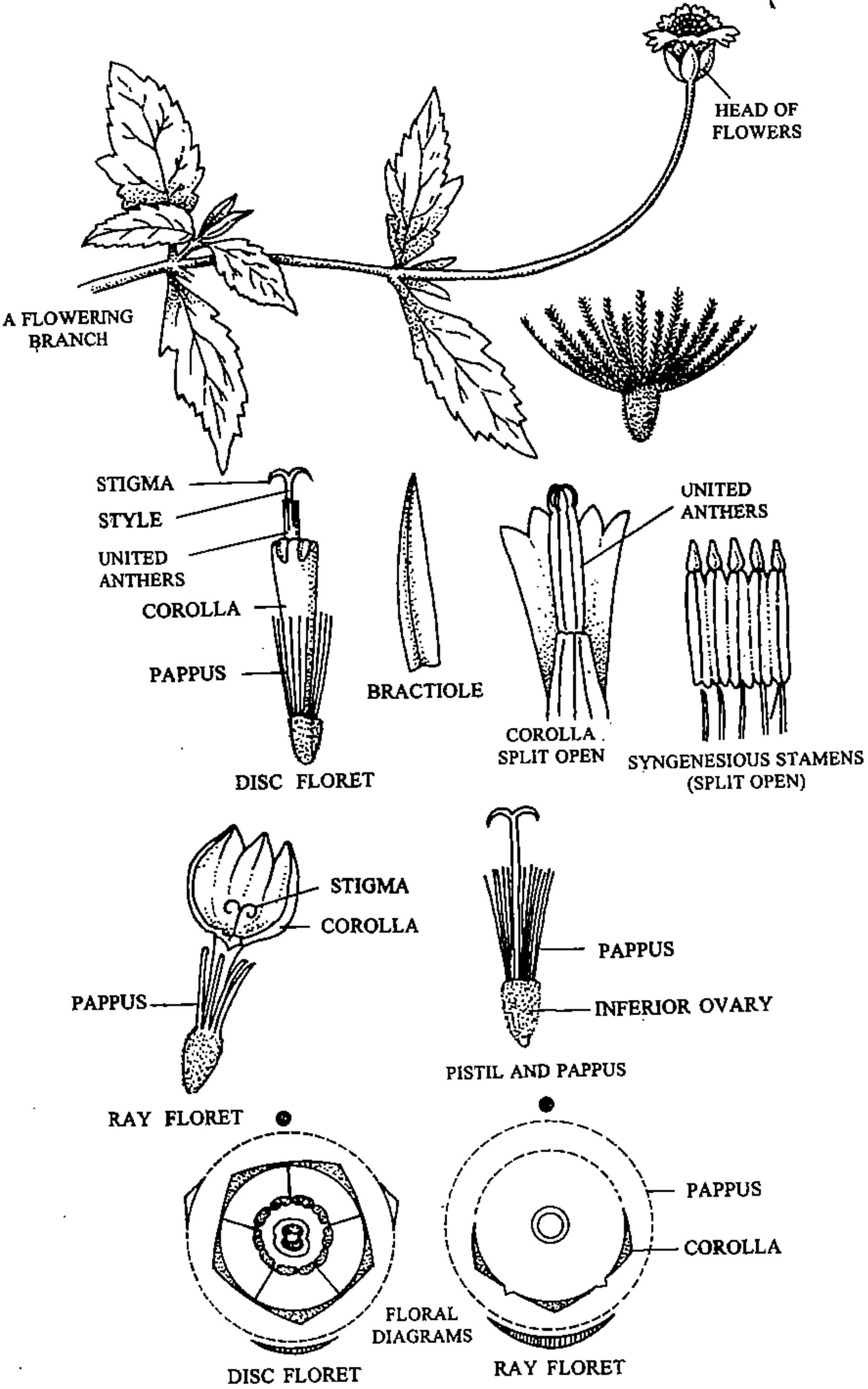
फल: सिप्सेला, दीर्घस्थायी रोमगुच्छ सहित होता है।

पुष्प सूत्र:

बिम्ब पुष्पक: ⊕, ⚥ (Ko (रोमगुच्छ), $\widehat{C_{(5)}, A_{(5)}}$, $G_{(\overline{2})}$)

अर-पुष्पक: %, ♀ (Ko (रोमगुच्छ), $C_{(3)}$, $A_{(0)}$, $G_{(\overline{2})}$)

कुल के कुछ सामान्य वंश *लांनिया (Launea)*, *वर्नोनिया (Vernonia)*, *एजीरेटम (Ageratum)*, *इक्लिप्टा (Eclipta)* तथा *हेलीएन्थस (Helianthus)*



चित्र: 16.4: *ट्राइडेक्स प्रोकम्बेन्स* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय प्रदर्शन

C. पेपीलिओनेसी (Papilionacae) *पाइसम सेटिवम्*

प्रकृति : आरोही (climbing) शाक।

जड़ : शाखित मूसला जड़, जिसकी जड़ों की ग्रंथिकाओं (nodules) में नाइट्रोजन-यौगिकीकरण बैक्टीरिया (nitrogen-fixing bacteria) रहते है।

तना : शाकीय, आरोही, पक्षित (winged); खोखला तथा रोम युक्त होता है।

पत्तियाँ : प्रत्यावर्ती (alternate), वृंतीय (petiolate), अनुपर्णी (sipulate), अनुपर्ण पत्तीनुमा, संयुक्त समपिच्छकी (compound paripinnate), ऊपरी पर्णिकाऐं (leaflets) प्रतानों (tendrils), में रूपान्तरित, पर्णिकाऐं अवृंतीय, अण्डाकाकार तीव्र निशिताग्र युक्त, अच्छिन्न (entire), नीलाभ (glaucous), एकशिरीय जालीदार पर्ण विन्यास होता है।

पुष्पक्रम : असीमाक्षी (Racemose) अथवा एकल, कक्षीय (axillary) होता है।

पुष्प : सहपत्री, सवृंतीय, पूर्ण, उभयलिंगी, अनियमित, एक व्यास सममित, थोड़े से परिजायांगी (perigynous), पंचभागी (pentamerous) होता है।

बाह्यदलपुंज : पाँच, संयुक्त बाह्यदली घण्टाकार (campanulate) हरे, रोमयुक्त, विषम बाह्यदल आगे की ओर, विन्यास आरोही कोरछादी (ascending imbricate) हैं

दलपुंज : पाँच, संयुक्त दली, मटरकुलीय (papilionaceous) एक मानक (standard), दो पक्षीय (wings), 2 नौतल (Keel) (तितली के आकार के) पृष्ठ दल बड़ा मानक (वेक्सोलम) बनाता है, दो पार्श्वदल एली (alae) अथवा पंख बनाते हैं, दो अग्र दल हल्के से जुड़ जाते हैं तथा छत्र (hood) के आकार की नौतल अथवा एरिना (arena) बनाते हैं, दलविन्यास अवरोही कोरछादी (desanding imbricate) होता है।

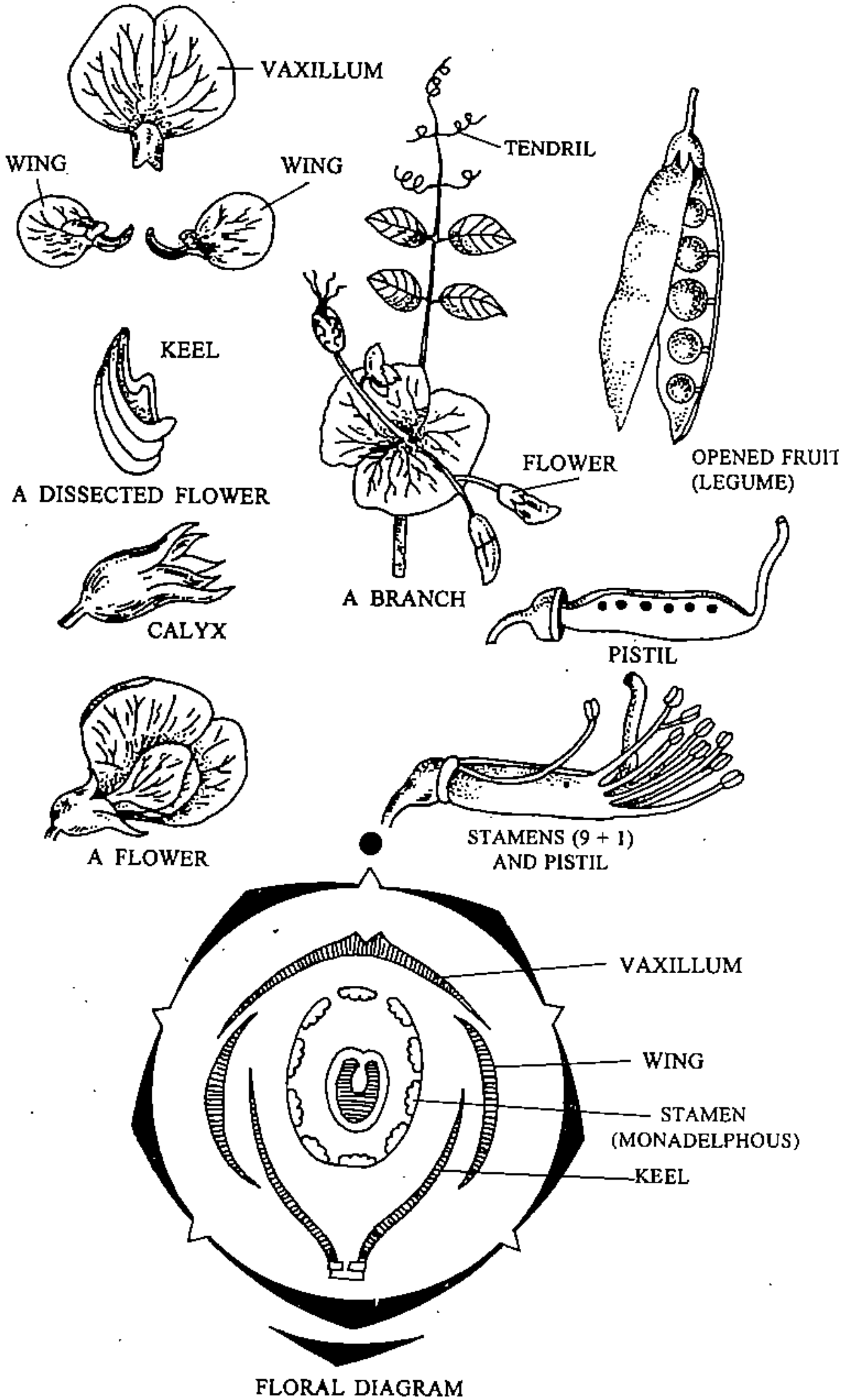
पुमंग : दस, द्विसंघी (diadelphous) यानि कि 9 + 1), नौतल से घिरे हुऐ, नौ जुड़े हुऐ पुंकेसर अण्डाशय के चारों ओर नलिका बनाते हैं तथा दसवाँ पर्श्व पुंकेसर मुक्त रहता है, परागकोष अन्दर की ओर तथा अध:बद्ध (basifixed), द्विकोष्ठी (dithecous), अनुदैर्ध्य झिरी (longitudinal slit) द्वारा प्रस्फुटित होते हैं।

जायांग : एकअंडपी, अण्डाशय उच्च, एक पालियुक्त, सीमांत बीजाण्डन्यास (marginal placentation), कोष्ठकों (loculus) में बहुत सारे बीजाण्ड होते हैं, वर्तिका लंबी, वर्तिकाग्र अंतस्थ (terminal) रोमयुक्त तथा नोतल से ढ़का हुआ है।

फल : चौड़ा लेग्युम (फली) होता हैं

पुष्पसूत्र : %, ⚥, $K_{(5)}$, $C_{1+2+(2)}$, $A_{(9)+1}$, $\underline{G}_1$

कुल के कुछ सामान्य वंश - *लेथाइरस (Lathyrus)*, *क्रोटेलेरिया (Crotalaria)*, *बिसिया (Vicia)*, *साइसर (Cicer)*, तथा *फेसियोलस (Phaseolus)*



चित्र 16.5 : *पाइसम सेटिवम* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय प्रदर्शन

D. *पेपवरेसी* (Papaveraceae) : *आर्जीमोन मेक्सीकाना*

प्रकृति : ऊर्ध्वशीर्षी (erect)), तीक्ष्ण वर्धी (prickly), एकवर्षीय शाक, जाड़े के मौसम में, खर पतवार के रूप में व्यर्थ भूमि पर उगा हुआ पाया जाता है।

जड़ : मूसला जड़, शाखित होती है

तना : ऊर्ध्वशीर्षी, बेलनाकार, नीचे की तरफ काष्ठीय, अल्प शाखित (sparingly branched), ठोस, एकसार तथा चमकीला काँटेयुक्त व पीले रबड़क्षीर/लेटेक्सयुक्त होता है।

पत्ती : स्तंभिक (cauline), प्रयावर्तनी, अन-अनुपर्णी (ex-stipulate) अवृंतीय (sessile), अल्पस्तंभालिंगी (semiamplexicaul) सादी, गहरी कटी हुई, लहरदार दीर्घपिच्छाकार (sinuate pinnatifid), कंटकीय दंतयुक्त, चमकीली तथा एकशिरीय जालीदार पर्णविन्यास वाली होती है।

पुष्पक्रम : एकल, कक्षीय (axillary) होता है।

पुष्प : सहपत्री, वृंतीय अथवा उप-अवृंतीय (subsessile), सममित (actinomorphic), उभयलिंगी, अधिजायांगी (hypogynous), पीला होता हैं।

वाह्यदलपुंज : तीन वाह्यदल, पृथक वाह्य दली (poly-sepalous), आशुपाती (caducous), हरा, तीक्ष्ण वर्धी, ऊपर की ओर श्रृंगी (horned), व्यावर्तित (twisted) दल विन्यास होता है।

दलपुंज : पीले छह दल, पृथक दली, तीन, तीन (3 + 3) दल के दो चक्रों में व्यवस्थित, आशुपाती, निम्र (inferior), कोरछादी दल विन्यास होता है।

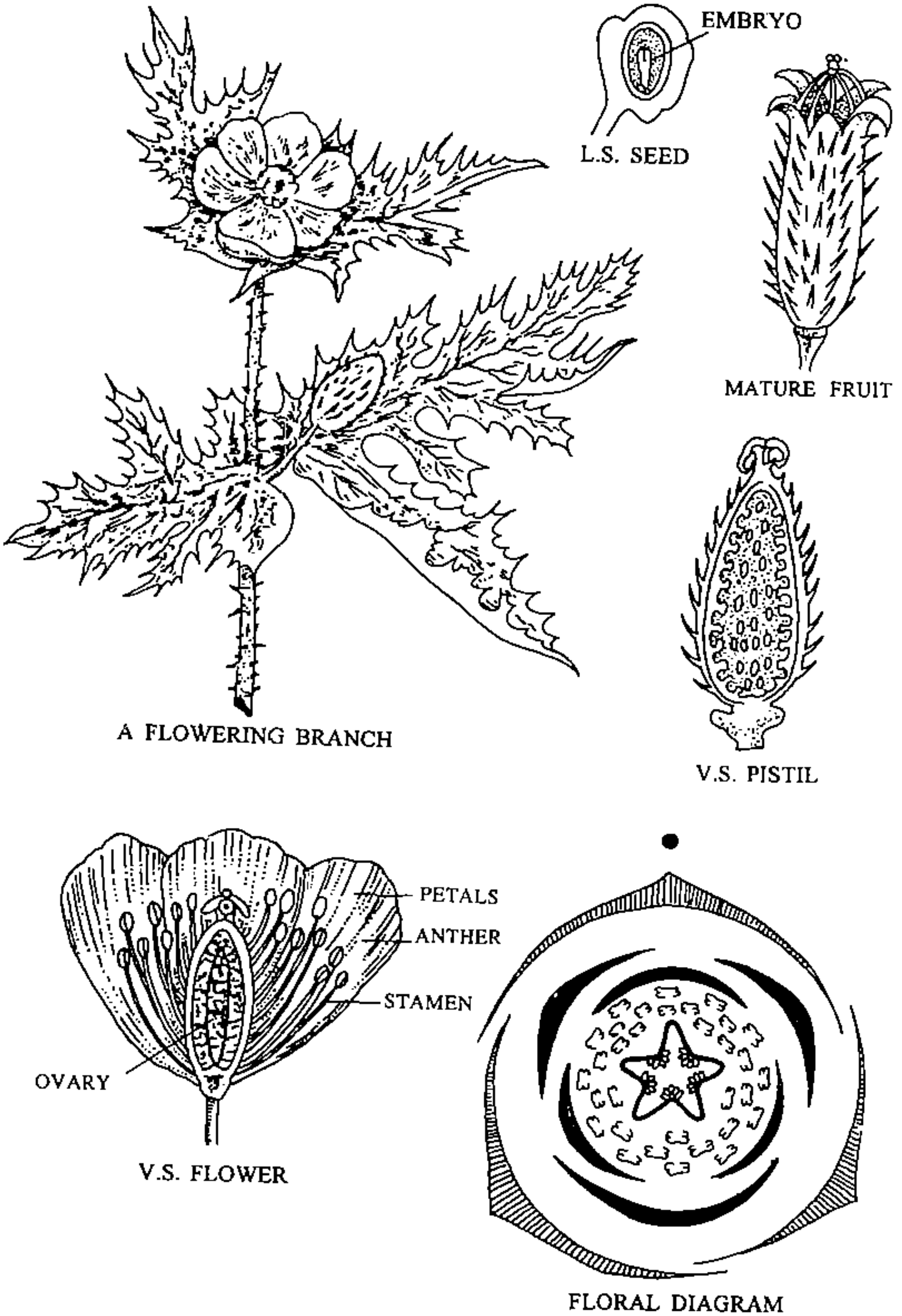
पुमंग : बहुत से पुंकेसर, पृथक पुंकेसरी (polyandrous), बहुत सारे प्रत्यावर्तनी चक्र व्यवस्थित, पुंतन्तु लम्बे, परागकोष द्विकोशिकीय तथा अध:बद्ध (basifixed), पीले हैं।

जायांग : 4-7 अण्डपी, युग्मअण्डपी (syncarpous), अण्डाशय उच्च (ovary superior) एकल कोष्ठीय, काँटेयुक्त, भित्तीय बीजाण्डन्यास (parietal placentation), प्रत्येक बीजाण्डासन (placenta) अनेकों बीजाण्ड, वर्तिका बहुत अधिक छोटी, वर्तिकाग्र 4-7 पालियुक्त (lobed), अण्डपों की संख्या पर निर्भर करते हुए, लालीमा लिये भूरे रंग की होती हैं।

फल : तीक्ष्णवर्धी कैप्सूल, फलांशको/वाल्व्स (valves) द्वारा स्फुटित होता है

पुष्प सूत्र : $\oplus$, ⚥, K_3, C_{3+3}, A_{∞}, $\underline{G}_{(4\text{-}7)}$

कुल के कुछ सामान्य वंश : *पैपेवर (Papaver), इश्कोलज़िया (Eschcholzia)*

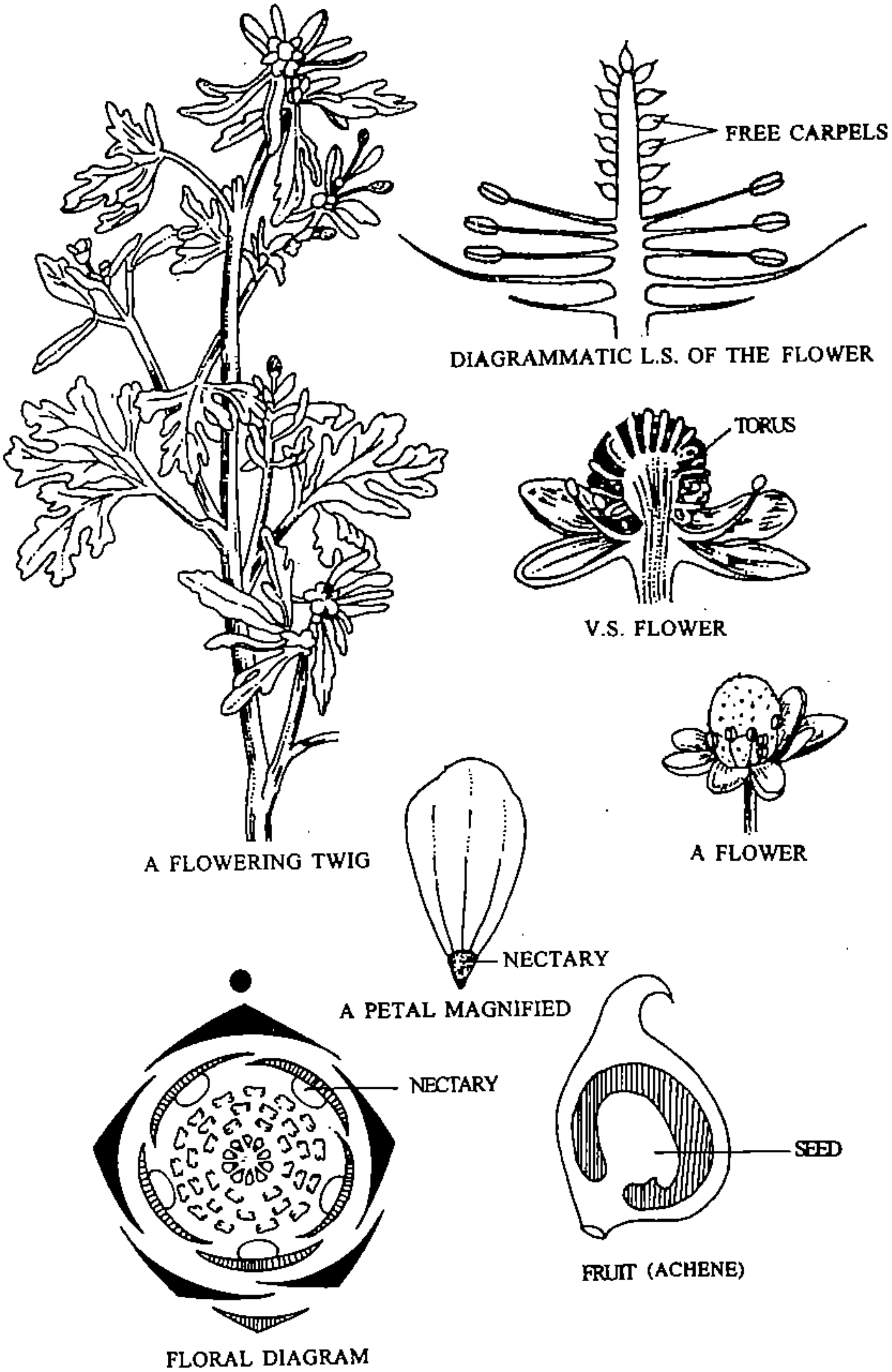


चित्र 16.6 : *आर्जीमोन मेक्सीकाना* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय प्रदर्शन

E. रेननकुलेसी (Ranunculaceae) *रेननकुलस स्क्लेरेटस*

प्रकृति	:	एकवर्षीय शाक, छायादार तथा दलदली जगहों पर खर-पतवार के रूप में पाया जाता है।
जड़	:	मूसला जड़ जो कि जल्दी ही शाखित तथा रेशेदार (fibrous) अपस्थानिक (adventitious) जड़ द्वारा प्रतिस्थापित कर दी जाती है।
तना	:	ऊर्ध्वशीर्ष (erect), शाकीय, हरा, कटक युक्त (ridged), खोखला, शाखित तथा रोमयुक्त होता है।
पत्ती	:	सादी, अवृंतीय आच्छादित पर्ण आधार वाली, त्रिभागीय (tripartite), प्रत्येक पालि (lobe) पुन: प्रतिअंण्डाकार (obovate), फानाकार (cuneate) खण्डों में विभाजित, पर्णविन्यास वहुशिरीय जालिकारुपी (multicostate reticulate) होता है।
पुष्प क्रम	:	द्विशाखी ससीमाक्ष (biparous cyme) अथवा ससीमाक्षी (cymose) होता है।
पुष्प	:	संवृत (pedicellate), सहपत्री, सहपत्रिका युक्त (bracteolate), उभयलिंगी, पूर्ण, त्रिज्यासममित, पीला, नियमित, अधोजायांगी, पाँचभागी (pentamerous) होता है।
वाह्यदलपुंज	:	संख्या में पाँच, प्रथक वाह्यदली, हरे, नौकाकार, रोमयुक्त, कोरछादी, अधोजायांगी होता है।
दलपुंज	:	दल संख्या में पांच, पृथकदली, पीले, प्रत्येक दल में उसके आधार पर एक मकरन्द कोष (nectary) होता है, शिरीय (veined), कोरछादी दल विन्यास होता है।
पुमंग	:	वहुत से पुंकेसर, एक दीर्घित (elongated) पुष्पासन (thalamus) पर सर्पिलाकार रूप में (spirally) व्यवस्थित, प्रत्येक परागकोष अध:वद्ध [अधोवद्ध (innate)] तथा वहिंमुखी (extrose) मजबूत तथा पीलापन लिये हरे पुंतन्तु होते हैं।
जायांग	:	वहुअण्डपी, वियुक्तांडपी (apocarpous), अण्डाशय उच्च, दीर्घित पुष्पासन के ऊपर, प्रत्येक अंडप एक कोष्टीय होता हैं, जिसमें एक आधारी बीजाण्ड होता है, वर्तिकाग्र नुकीला होता है।
फल	:	एकवीजी एकीन्स (achenes) का गुच्छ (eterio) होता है
पुष्प सूत्र	:	$\oplus$, ⚥, K_5, C_5, A_∞, G_∞

कुल के कुछ महत्वपूर्ण वंश : *पीओनिया (Paeonia)*, *डेल्फीनियम (Delphinium)*, *नाइजैला (Nigella)*, *क्लीमेटिस (Clematis)*, तथा *एनीमोन (Anemone)*



चित्र 16.7 : *रेननकुलस स्क्लेरेटिस* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय निरूपण

F. क्रूसीफेरी (Cruciferae) : *ब्रेसिका कम्पेस्ट्रिस*

प्रकृति : एक वर्षी, कृष्ट (cultivated), जाड़ों में उगाया जाने वाला शाक है।

जड़ : मूसला जड़, शाखित होती है।

तना : शाकीय, ऊर्ध्वशीर्ष (erect), बेलनाकार, अरोमिल (glabrous), शाखित, तथा ठोस होता है।

पत्तियाँ : सादी, एकान्तरी (alternate), वृंतीय, अन-अनुपर्णी (ex-stipulate), मूलजाभासी (radical) तथा स्तंभिक (cauline), लायररूपी (lyrate), एकशिरीय जालिकारूपी पर्णविन्यास होता है।

पुष्पक्रम : समशिखी असीमाक्ष (Corymbose raceme) होता है।

पुष्प : वृंतीय, असहपत्री (ebracteate), त्रिज्यासममित, उभयलिंगी, अध:जायांगी, पूर्ण, चतुष्टयी (tetramerous), क्रासरुपी (Cruciform), चमकीले पीले रंग के होते हैं।

बाह्यदलपुंज : बाह्यदल 4, पृथक बाह्यदली, 2 बाहर वाले अग्र-पश्च (anterio-posterior) तथा 2 अन्दर वाले पार्श्व (lateral), कोरछादी विन्यास होता है।

दलपुंज : दल 4, पृथक दली, क्रासरुप, सुस्पष्ट नखर तथा दल फलक (claw & limb) उपस्थित, कोरछादी दलविन्यास होता है।

पुमंग : पुंकेसर 6, पृथक पुंकेसरी, 4 अन्दर की ओर के लंबे तथा 2 बाहर की ओर के छोटे [यानि कि, चतुर्दीर्धी अवस्था (tetradynamous condition)], अध:बद्ध परागकोष होता है।

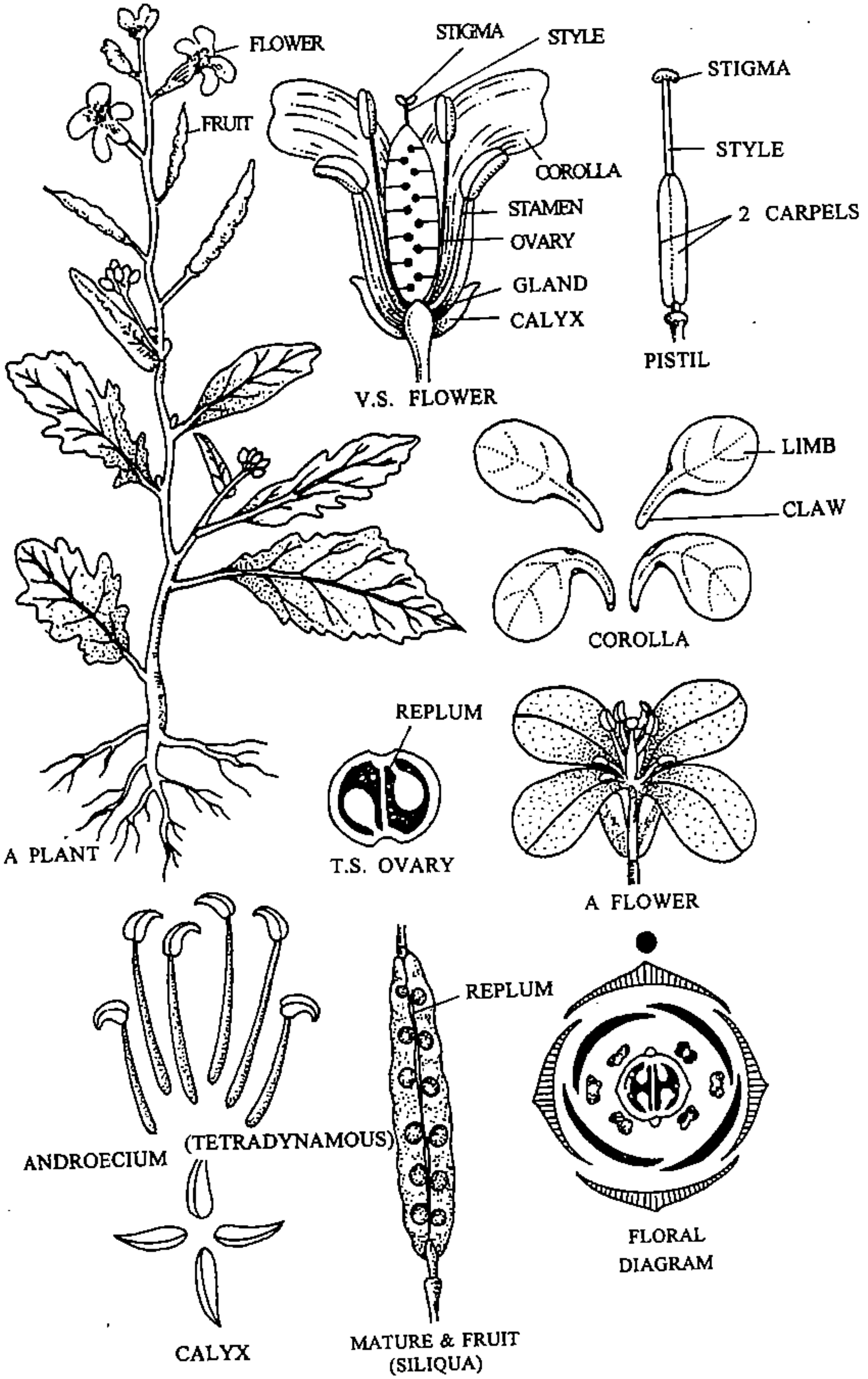
जायांग : द्विअंडपी, युक्तअंडपी (syncarpous), अण्डाशय उच्च, एककोष्ठीय परन्तु बीजाण्डासनी परदे [placental replum (मिथ्यापट)] के निर्मित होने की वजह से दो कक्षों में विभाजित, भित्तिय बीजाण्डन्यास (parietal placentation); वर्तिका लघु, वर्तिकाग्र द्विपालित (bilobed) होती है।

फल : पतला, फली जैसा सिलिकुआ (siliqua) होता है।

बीज : छोटा, गोलाकार तथा एल्ब्युमिनहीन (exalbuminous) होता है।

पुष्पसूत्र : $\oplus$, ⚥, K_{2+2}, C_4, $A_{(4+2)}$, $G_{(\underline{2})}$

कुल के कुछ प्रमुख वंश : *ब्रेसिका (Brassica)*, *आइबेरिस (Iberis)*, *केपसैला (Capsella)*, *रेफेनस (Raphanus)*।



चित्र 16.8 : *ब्रेसिका कम्पेस्ट्रिस* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय निरुपण।

G. माल्वेसी (Malvaceae) : *मल्वा सिल्वेस्ट्रिस*

प्रकृति : एकवर्षी शाक होता है

जड़ : रेशेदार, मूसला जड़ होती है

तना : उर्ध्वशीर्ष, बेलनाकार, रोमयुक्त, कुछ भाग शाकीय, काष्ठीय नीचे के भाग में और हरा होता है

पत्ती : सादी प्रत्यावर्ती, स्तंभिक (cauline), वृंतीय, अनुपर्णी, अनुपर्ण बहुधा आशुपाती (caducous), ऊपरी सतह अरोमिल, निचली सतह रोमयुक्त, कुंठदंती (crenate) किनारें, बहुशिरीय जालिकारुपी पर्ण विन्यास होता है।

पुष्पक्रम : अधिकतर एकल कक्षीय होता है।

पुष्प : संवृंत, वृंत रोमयुक्त, सहपर्णी, पूर्ण, उभयलिंगी, त्रिज्यासममित, अध:जायांगी होता है।

एपीकैलिक्स : 3, आधार पर जुड़े हुऐ, ठीक वाह्यदलपुंज के नीचे सहपत्रिकाओं का चक्र प्रदर्शित करते हैं।

वाह्यदलपुंज : 5 वाह्यदल, युक्तवाह्यदली, घण्टाकार, कोरस्पर्शी (valvate) वाह्यदलविन्यास, दीर्घजीवी होते हैं।

दलपुंज : पाँच दल, पृथकदली, नीचे की ओर आधार पर पुंकेसरी नाल (staminal tube) से जुड़े हुऐ, व्यावर्तित दल विन्यास होता है।

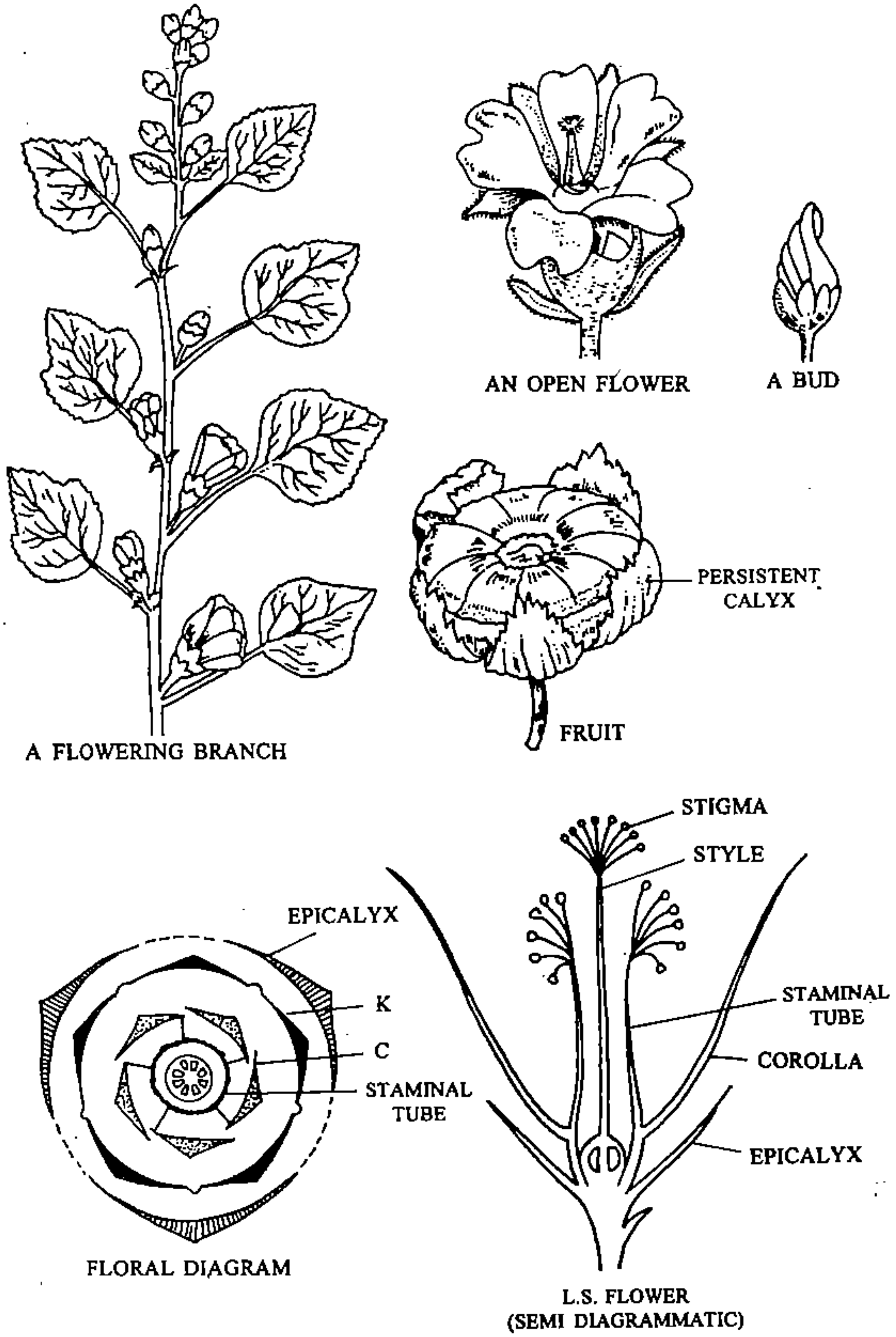
पुमंग : असंख्य पुंकेसर, एकलसंघी (monadelphous), सभी पुंकेसर नीचे एक नली में जुड़े रहते हैं व पुंतन्तुओं के ऊपरी भाग अलग रहते हैं, पुंकेसरी नाल नीचे दलपुंज से जुड़ी रहती है, दललग्न (epipetalous), परागकोष एकोष्टकी (monothecous) बहिंर्मुखी (extrose), अध:वद्ध होता है।

जायांग : बहुअंडपी, युक्तअंडपी, अंडाशय उच्च, पंच अथवा बहुकोष्ठीय, दो अथवा अधिक अंडप प्रत्येक कोष्ट में, स्तंभीय बीजाण्डन्यास, वर्तिका और वर्तिकाग्र की संख्या उपस्थित अंडपों की संख्या के अनुरुप होती है, वर्तिका पुंकेसरी नाल से होकर गुजरती है।

फल : कार्सेरुलस [(carcerulus) वयस्क अंडप एक दूसरे से तथा अक्ष से अलग हो जाते हैं।

पुष्पसूत्र : $\oplus$, ⚥, $Epi_{(3)}$, $K_{(5)}$, C_5, $A_{(\infty)}$, $G_{(\infty)}$.

कुल के कुछ महत्वपूर्ण वंश: *हिबिस्कस (Hibiscus), एबुटिलोन (Abutilon), साइडा (Cida), एल्थिया (Althaea)*



चित्र 16.9 : *माल्वा सिल्वेस्ट्रिस* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय निरूपण

H. लिलिएसी (Liliaceae) : *एलियम सीपा*

प्रकृति : एक कृष्ट (cultivated) शाक, गंध तीखी (pungent), वाष्पशील (volatile) सल्फर यौगिकों (compounds) की उपस्थिति के कारण एक विशिष्ट सुवास (flavour) होती है।

जड़ : रेशेदार, अपस्थानिक जड़े होती है।

तना : भूमिगत कंचुकित शल्क कन्द (tunicated bulb), बाहरी शल्क (scale) झिल्लीनुमा (membranous), भूरे और सूखे, भीतरी शल्क गूदेदार (fleshy) होता है।

पत्ती : मूलक (radical), बेलनाकार, पर्ण आधार आच्छद (sheathing), खोखली, निशिताग्र (acute), श्लेष्मीय (mucilagenous), नलीदार (fistular), समानान्तर शिरीय (parallel veined) होती हैं।

पुष्पक्रम : बहुत से एकलशाखी ससीमाक्ष (monochasial cyme) का पुंजीकरण (aggregation), पुष्पछत्री (umbellate) रूप में व्यवस्थित तथा 2-3 झिल्लीनुमा स्पेथ (spathe) जैसे सहपत्रों से ढ़के हुए होते है।

पुष्प : सवृंत, सहपत्री, नियमित, पूर्ण, उभयलिंगी, अधोजायांगी, सफेद, कभी-कभी पत्रप्रकलिका (bulbil) द्वारा विस्थापित होता है।

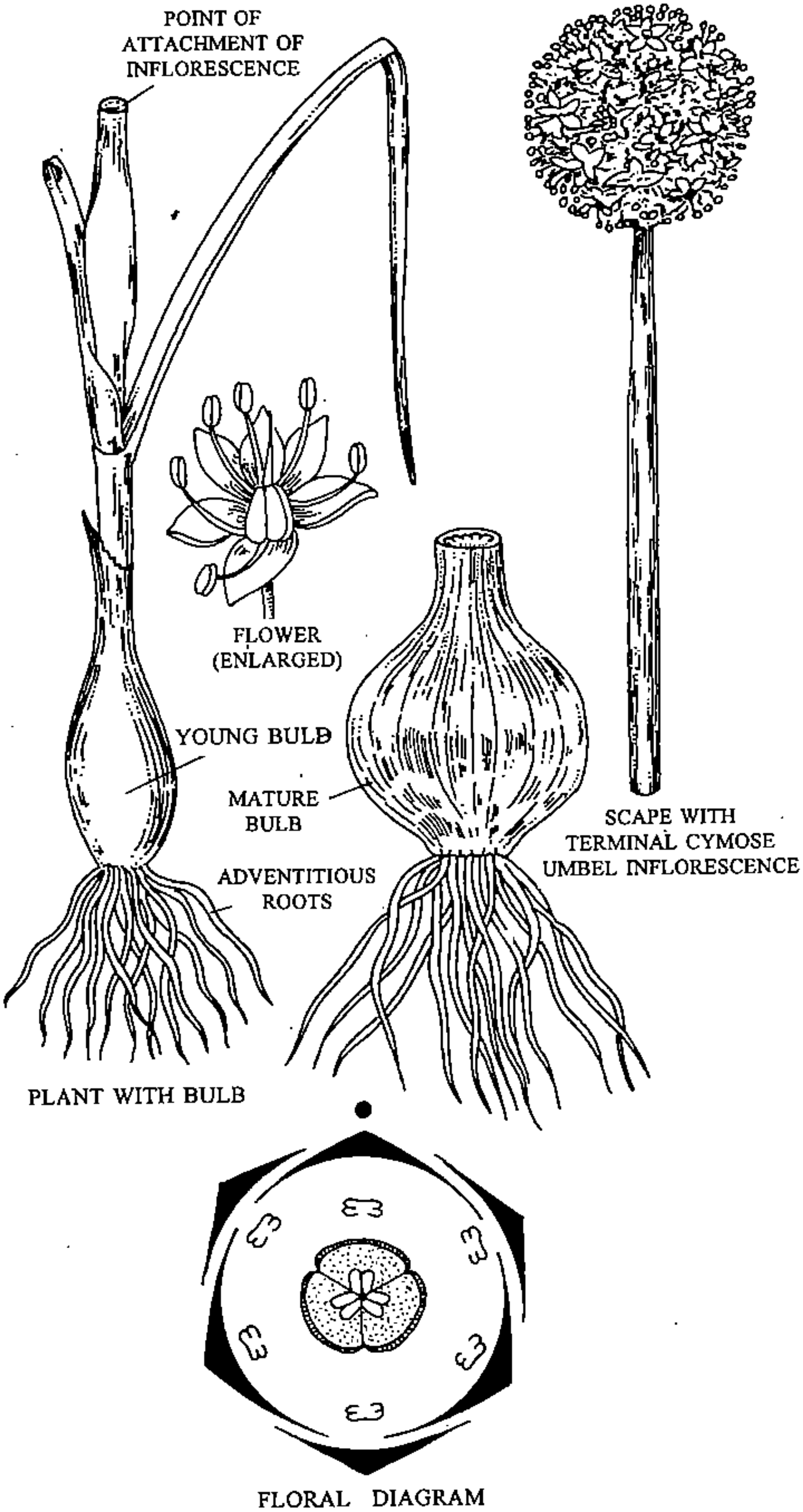
परिदलपुंज : छह पालियाँ, तीन-तीन के दो चक्रों में व्यवस्थित, आधार की ओर जुड़े हुए, घण्टाकार सफेद होती हैं।

पुमंग : छह पुंकेसर, तीन-तीन के दो चक्रो में व्यवस्थित, पृथक पुंकेसरी (polyandrous), परिदललग्न (epiphyllous), पुंतन्तु संकरे/पतले तथा आधार पर फैले हुए परागकोष लंबे, द्विकोशिकीय, पृष्ठलग्न (dorsifixed) होता है।

जायांग : त्रिअंडपी, युक्तअंडपी, अण्डाशय त्रिकोष्ठकी, प्रत्येक कोष्ठ में दो अंडप, उच्च, स्तंभीय बीजाण्डन्यास, वर्तिका छोटी, वर्तिकाग्र बहुत छोटा होता है।

पुष्प सूत्र : $\oplus$, ⚥, $P_{(3+3)}$, $A_{(3+3)}$, $G_{(\underline{3})}$

कुल के प्रमुख वंश : *एस्पेरेगस (Aspraagus)*, *एलोय* (Aloe), *फ्रिटीलेरिया (Fritillaria)*



चित्र 16.10 : *एलियम सीपा* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखीय निरूपण।

I. ग्रेमिनी (Gramineae) -*ट्रिटिकम वल्गेयर*

प्रकृति : एकवर्षी कृष्ट (cultivated) शाक होता है

जड़ : अपस्थानिक, रेशेदार होतीं है।

तना : ऊर्ध्वशीर्षी, शाकीय, बेलनाकार, खोखला, हरा जब तरुण, अशाखित, आसंधि (nodes) तथा पोरी (internodes) भलीभाँति विकसित, नलीदार, (fistular), आसंधि मृदु उतकों की बनी होने से फूली हुई होती है।

पत्ती : सादी, अवृंतीय, एकान्तरकारी, भलीप्रकार से विकसित पर्ण आच्छद (leaf sheath) उपस्थित, पर्णपटल (leaf lamina) तथा पर्णाच्छद (leaf sheath) के संधिस्थल पर एक जीभिका (ligule) उपस्थित रहती है, पूर्ण रेखाकार अथवा रेखीय भालाकार (linear lanceolate), निशिताग्र शीर्ष, एकशिरीय समानान्तर पर्णविन्यास होता है।

पुष्पक्रम : कणिशिकाओं का कणिश (Spike of spikelets) होता है

पुष्प : अवृंतीय, सहपत्री, सहपत्र शल्किका (palea) द्वारा प्रदर्शित, सहपत्रिकी (bracteolate), अपूर्ण, उभयलिंगी, एक व्यास सममित, अधोजायांगी, प्रत्येक कणिशिका, जिस पर पुष्प बहुत छोटे अक्ष पर व्यवस्थित रहते हैं अक्ष के आधार पर शल्कीय पत्रियों (scaly leaves) से ढ़की रहती है, जो तुष (glume) कहलाते हैं व वंध्य (sterile) रहते है। इन वंध्य तुषों के ऊपर उर्वर (fertile) पत्रीय संरचनाऐं, जो प्रकृति से सहपत्र होती हैं, पाई जाती हैं। ये उर्वर पत्रीय संरचनाऐं लेमा अथवा निम्न शल्किका (inferior palea) कहलाती हैं। पुष्प अक्ष पर निम्न शल्किका के विपरीत उच्च (superior) शल्किका उपस्थित रहती है जो प्रकृति से सहपत्रिका होती है।

परिदलपुंज : बहुत अधिक लघुकृत re duced) तथा दो बहुत छोटी, शल्कीय संरचना जो कि लोडीक्यूल (lodicule) कहलाती है, व उच्च पेलिया के विपरीत स्थित होती है द्वारा प्रदर्शित होता है।

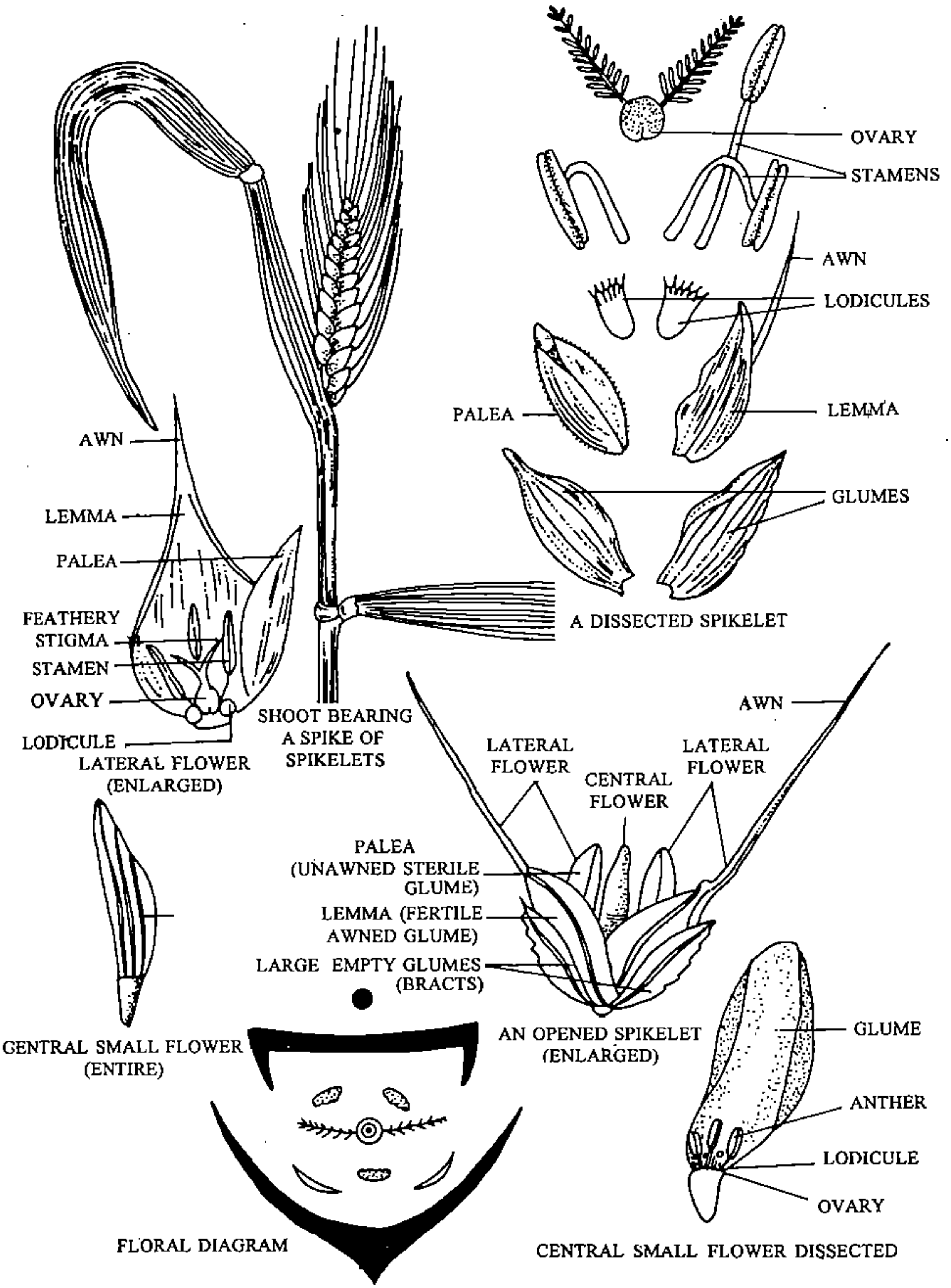
पुमंग : तीन पुंकेसर, पृथक पुंकेसर, पुंतन्तु लम्बे, कृशकाय, मुक्तदोली, द्विकोष्ठी, परागकोष (versatile dithecous anthers) सहित होते हैं।

जायांग : आभासी एकांडपी (pseudomonocarpellary), एकांडपी स्त्रीकेसर (pistil) एक कोष्ठ व एक बीजाणु सहित, आधारी बीजाण्डन्यास, दो पंखनुमा वर्तिकाग्र अंडप के पार्श्व भागों के विकासस्वरूप बनते हैं, मध्य भाग अविकसित रह जाता है, अण्डाशय उच्च, एक कोष्ठीय एक अंडप लिये हुये होते हैं।

फल : कैरिऑप्सिस (Caryopsis) होता है।

पुष्प सूत्र : %, ⚥, P_2, A_3, $\underline{G}_1$

कुल के कुछ प्रमुख वंश एविना *(Avena)*, *ज़िया (Zea)*, *ओराइज़ा (Oryza)*, *सैकेरम (Saccharum)*.



चित्र 16.11 : *टिट्रकम वल्गेयर* के क्रमबद्ध अध्ययन का आरेखिय निरूपण

इन कुलों का अध्ययन करने के बाद इन बोध प्रश्नों (SAQs) को हल करने की कोशिश कीजिये।

बोध प्रश्न

1) पृष्ठलग्न (dorsifixed) तथा अधोबद्ध (basifixed) परागकोषों में अन्तर कीजिये।

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

2) आरेखीय रूप से जायांगनाभिक (gynobasic) वर्तिका को प्रदर्शित कीजिए तथा सुस्पष्ट रूप से चिन्हित कीजिए।

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

3) पंचभागी (pentamerous) से आप क्या समझते हैं?

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

वंश (genus) *फेसियोलस* (Phaseolus) के कम से कम पाँच पौधों की सूची (list) दीजिये। क्या ये पौधे आर्थिक दृष्टि से महत्वपूर्ण हैं यदि हैं तो क्यों?

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

5) एक चिकित्सीय महत्व का पौधा कुल पेपेवरेसी (Papaveracel) में पाया जाता है जो कि मादक द्रव्यों (narcotics) में भी प्रयोग होता है। पौधे का वानस्पतिक नाम बताइये। पौधे को एकत्रित कीजिये तथा उसको सिर्फ आरेख, पुष्पसूत्र तथा पुष्प आरेख द्वारा वर्णित कीजिये।

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

6) कुल क्रूसीफेरी (Cruifereae) की क्या विशिष्टता है। इसको उदाहरण देकर भलीप्रकार से समझाइये।

....

7) सूत (cotton) किस कुल की है? सूत का वानस्पतिक नाम लिखिए।

8) एककोष्ठी (monothecous) व द्विकोष्ठी (dithecous) परागकोष के बीच में अन्तर उदाहरणों व आरेख सहित कीजिये।

9) प्रारूपिक लिलिएसी कुल के पुष्प को चिन्हित आरेख सहित वर्णित कीजिए।

....

....

....

....

....

....

....

....

....

....

17 तिलचट्टे के पाचक एन्ज़ाइमों का सर्वेक्षण

17.1 प्रस्तावना

LSE-05 पाठ्यक्रम के खण्ड 1 की इकाई में आपने विभिन्न ज़न्तु समूहों के पाचक एन्ज़ाइमों के विषय में पढ़ा था। आप जानते है कि प्राणि के भोजन में कार्बोहाइड्रेट, प्रोटीन तथा लिपिड होते है। पाचन तंत्र में ये बडे, अणु एन्ज़ाइमों के द्वारा छोटे सरल अणुओं में विखंडित हो जाते है। आंतो द्वारा यह सरल अणु सोख लिए जाते है तथा शरीर के विभिन्न ऊतकों और कोशिकाओं में पहुँचाये जाते हैं। इस परीक्षण में आप इन एन्ज़ाइमों का सर्वेक्षण करेगें जो कार्बोहाइड्रेटों, प्रोटीनों और लिपिडों को तिलचट्टे के पाचन तंत्र के अलग-अलग हिस्सों में पचाते हैं। आप एमिलेस तथा इनवर्टेस (कार्बोहाइड्रेटो के पाचन के लिए), प्रोटिएस (प्रोटीनों के पाचन के लिए) तथा लाइपेस (लिपिडो के पाचन के लिए) का निरीक्षण करेंगें।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के पश्चात आप:

- किसी भी जीव में पाचक एंज़ाइमों की उपस्थिति की जांच साधारण परीक्षणों द्वारा कर सकेंगें।

17.2 आवश्यक सामग्री

तिलचट्टे

कीटो के लिए रिंगर घोल

30% ग्लिसरीन

1% स्टार्च का घोल

5% सुक्रोस का घोल

आयोडीन का घोल

बेनेडिक्ट विलयन

धुली हुई फोटोग्राफिक फिल्म (कई टुकड़े)

ताजा दूध

ब्रोमोथाइमोल ब्ल्यू (bromothymol blue)

0.1N, सोडियम हाइडॉक्साइड (NaOH).

खरल और मूसल

परखनलियाँ,

परखनली होल्डर

पोर्सेलीन टाइल (porcelain tile),

पाश्चर पिपेटे (Pasteur pipettes)

अंशांकित पिपेट (5 मिली)

17.3 प्रयोग विधि

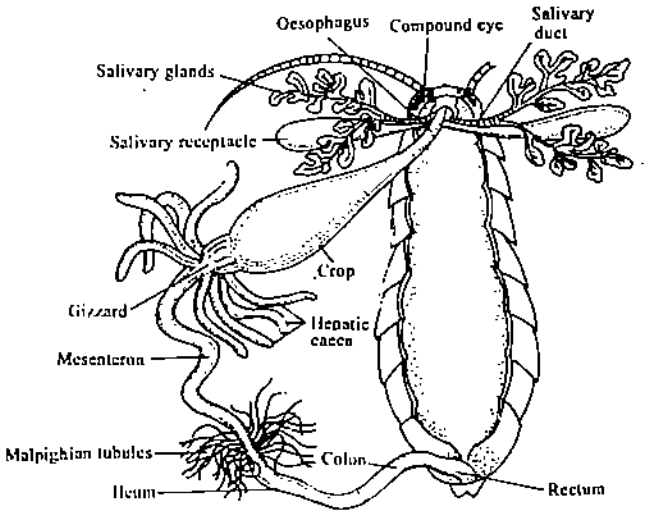
1. दस तिलचट्टे लीजिये और तुरन्त रिंगर घोल में आहार नाल लार ग्रंथियों (salivary glands) सहित, विच्छेदित कर लीजये। पाचन तंत्र के भागों को निम्नलिखित प्रकार से विभाजित कीजिए। (चित्र 17.1)।

   i) लार ग्रंथियाँ

   ii) अंग्रात्र (foregut) (ग्रासनली (oesophagus), अन्नपुट (crop) तथा पेषणी (gizzard))।

iii) मध्यांत्र (midgut) (अंधान्त्र/अंधनाल (caeca) तथा मेसेन्टरॉन)

iv) पश्चांत्र (hindgut) (क्षुद्रांत्र (ileum), वृहदंत्र (colon) तथा मलाशय (rectum))



चित्र 17.1 : तिलचट्टे का आहार तंत्र

2. प्रत्येक भाग को दसों तिलचट्टों से लेकर इकट्ठा कीजिए। एक छोटी खरल में आहार नाल के एकत्रित किये गये भागों को अलग-अलग, 3 मिली, 30% ग्लिसरीन में मूसल से कूटिए और उसे परखनली में पलट दीजिए। खरल में और 2 मिली, 30% ग्लिसरीन को मिलाकर अच्छ तरह धोइये और इस घोल को भी परखनली में पलट दीजिए। इसी प्रकार से चारों भागों के निचौड़ो (extracts) को परखनलियों में एकत्रित कर लीजिए और उन्हें 1 से 4 तक चिन्हित कीजिए। इस प्रकार आपके पास निम्नलिखित स्रोत (sources) एन्ज़ाइमों के लिए होंगे।

नली 1	लार ग्रंथि निचोड़
नली 2	अग्रांत्र निचोड़
नली 3	मध्यांत्र निचोड़
नली 4	पश्चांत्र निचोड़

3. प्रत्येक नली के निचोड़ को एक दूसरी परखनली में पलट कर, दो भागों में बराबर-बराबर बाँटिये। इन परखनलियों को क्रमशः 1C, 2C, 3C, 4C चिन्हित कीजिए। इन परखनलियों (1C से 4C) के निचोड़ को आँच की लौ पर एक मिनट के लिये गर्म कीजिए।

क) गर्म करने से एन्ज़ाइमों पर क्या असर होता है?

....

....

....

क) एमिलेस के लिए परीक्षण

एमिलेस स्टार्च को पचाने वाला एन्ज़ाइम है। एमिलेस स्टार्च पर क्रिया करके ग्लूकोस के अणुओं को मुक्त करता है। आयोडीन का घोल स्टार्च को नीला रंग देता है। जब एमिलेस एंज़ाइम स्टार्च पर क्रिया करता है तो स्टार्च ग्लूकोस में परिवर्तित हो जाती है तब पची हुई स्टार्च आयोडीन के साथ नीला रंग नहीं देती हैं यह एमिलेस द्वारा स्टार्च के पाचन के पूर्ण होने की पुष्टि करता है।

1. आठ परखनलियाँ लीजिये और प्रत्येक में 1 मिली स्टार्च का घोल लीजिये। चार परखनलियों पर 1E से 4E तथा दूसरी 4 पर 1C से 4C तक चिन्ह लगाइए।

2. प्रथम चार परखनलियों में आहार नली के चार भागों से लिये गये एन्ज़ाइम की 10 बूँदे मिलाइये और अन्य चार परखनलियों में आहार नली के चार भागों से लिये गये ताप से निष्क्रिय एंज़ाइम

की 10-10 बूँदें मिलाइये। अच्छी तरह से मिलाकर जल ऊष्मक (water bath) में, 30°C तापमान पर उष्मायित कीजिये।

3. अगले 10 से 20 मिनट तक, प्रति दो मिनट के बाद, प्रत्येक परखनली में से मिश्रण की एक बूँद निकाल कर पोर्सेलीन टाइल पर रखिए और उसमें आयोडीन घोल की एक बूँद मिलाइये। रंग का दिखना नोट कीजिए।

   शुरु में नीला रंग, स्टार्च की उपस्थिति को दर्शाता है। स्टॉर्च पाचन के पूरा होने पर नीला रंग प्रगट नही होता है। अपने निष्कर्षों को तालिका 17.1 में रिकॉर्ड कीजिए।

क) क्या एमिलेस को अपनी क्रियाविधि के लिये किसी सह-कारक (cofactor) की आवश्यकता होती है?

....

ख) क्या आप समझते हैं कि आपने अपने परीक्षण में कोई सहकारक दिया है?

....

....

....

ख) इनवर्टेस के लिये परीक्षण

इनवर्टेस सुक्रोस को पचाने वाला एन्ज़ाइम है और फ्रक्टोस तथा ग्लूकोस को उत्पादों के रूप में निर्मित करता है। अपचायी शर्कराओं (reducing sugars)-ग्लूकोस तथा फ्रक्टोस की उपस्थिति ज्ञात करने के लिये किया गया परीक्षण, तिलचट्टे की आहार नली के विभिन्न भागो में इनवर्टेस के पाये जाने अथवा ना पाये जाने को दर्शाता है।

1. आठ परखनलियाँ लीजिए और प्रत्येक में, पिपेट द्वारा को 1 मिली 5% सुक्रोस का घोल डालिये।
2. प्रथम चार परखनलियों को 1E से 4E तथा अन्य चार को 1C से 4C तक चिन्हित कीजिए। पहली चार परखनलियों में क्रमशः लार ग्रंथि, अग्रांत, मध्यांत्र तथा पश्चांत्र से निकालें गये एन्ज़ाइम की 10 बूँदे मिलाइए। बाकी चार नियंत्रक परखनलियों (control tubes) में आहार नली के चार भागों के ताप-निष्क्रित एन्ज़ाइम की 10 बूँदे मिलाइए।
3. प्रतिक्रिया मिश्रण (एन्ज़ाइम तथा सबस्ट्रेट मिश्रण) को जल ऊष्मक में 37° C तापमान पर 20 मिनट तक ऊष्मायित कीजिए।
4. उष्मायन काल के समाप्त होने पर प्रत्येक परखनली में एक मिली बेनेडिक्ट विलयन मिलाइये और 5 से 10 मिनट के लिये खौलते हुऐ जल ऊष्मक में रहने दीजिए। देखे गये रंगों के परिवर्तन को रिकॉर्ड कीजिए।

   लाल रंग का प्रगट होना अपचायी शर्कराओं-ग्लूकोस तथा फ्रक्टोस की उपस्थिति को सूचित करेगा। उन परखनलियों को छांटिये जिनमें लाल रंग प्रगट हुआ है। और अपने परिणामों को रिकॉर्ड कीजिए।

   क) उपरोक्त प्रतिक्रिया का आधार क्या है?

   ....

   ....

   ....

   ख) आहार नली के किन भागों में आपने इनवर्टेस की क्रियाशीलता को देखा?

   ....

   ....

   ....

ग) क्या उन प्रतिक्रियाओं में लाल रंग दिखाई दिया, जिनमें ताप -निष्क्रियित एन्जाइम का उपयोग हुआ था? अपने निष्कर्षों की व्याख्या कीजिए।

....

....

....

ग) प्रोटिएस के लिये परीक्षण

प्रोटिएस की क्रियाशीलता के परीक्षण के लिये में इमल्शन के रूप में जिलेटिन (प्रोटीन) से पुती हुई फिल्म पट्टिका का प्रयोग किया जायेगा।

जैसा कि आप जानते होगे, प्रोटीनो को पचाने वाले एन्ज़ाइम प्रोटिएस है। प्रोटिएस के लिये परीक्षण इस प्रकार से कीजिए।

1. स्याह की गई (blackend) अनावरित (exposed) तथा धोई हुई (स्याह और सफेद) फिल्म के 1 वर्ग इन्च के कुछ टुकड़े लीजिए तथा उन्हें अच्छी तरह से धोइए। आपको चार टुकड़ों की आवश्यकता हो सकती है।

2. लार ग्रंथि के निचोड़ की एक बूंद को फिल्म के (इमल्शन से पुती ओर) आधे भाग पर डालिये और बाकी आधे भाग पर उसी स्रोत से ली गई ताप -निष्क्रियित निचोड़ की एक बूँद डालिये। इस प्रक्रिया को बाकी तीन फिल्म के टुकड़ो पर अग्रांत्र, मध्यांत्र तथा पश्चांत्र के निचोड़ लेकर साथ ही इन भागों से ताप -निष्क्रियित निचोड़ो को लेकर दोहराइये।

3. फिल्म के टुकड़ों को नम कक्ष (moist chamber) में रख दीजिए। आप एक पेट्रीडिश में जल सोखित रुई रख कर, नम कक्ष की तरह से उपयोग में ला सकते हैं।

4. 2 घंटे तक, हर 3० मिनट के अन्तराल: पर फिल्म पट्टिकाओं का निरीक्षण कीजिए और जिलेटिन इमल्शन के पाचन की दर को प्रोटिएस की क्रियाशीलता के सूचक के रूप में नोट कीजिए।

5. सभी निरीक्षणों के निष्कर्षों को तालिका 17.1 में रिकार्ड कीजिए।

   (1) प्रोटीन के अणु में, प्रोटिएस की क्रिया का स्थल क्या है?

   ....

   ....

   ....

   (2) तिलचट्टे की आहार नली में प्रोटीन का पाचन कहाँ पर होता है?

   ....

   ....

   ....

घ) लाइपेस के लिये परीक्षण

लाइपेस लिपिडों को पचाने वाला एन्ज़ाइम है। लिपिडो के पाचन के उत्पाद वसा अम्ल तथा ग्लिसराल होते हैं। आप इस परीक्षण में दूध के वसा तत्वों को सब्स्ट्रेट के रूप में उपयोग करेंगे। दूध के वसा तत्व जल अपघटित होने पर मुक्त वसा अम्लों को बनाते है। प्रक्रिया मिश्रण के pH में परिवर्तन उपयुक्त pH संकेतक तक द्वारा देखा जा सकता है जो मुक्त वसा अम्लों के बनने को दर्शाता है।

1. आठ परखनलियाँ लीजिए और पहली चार को प्रयोगात्मक (1E से 4E) तथा बाकी को नियंत्रक (1C से 4C) के रूप में चिन्हित कीजिए।

2. प्रत्येक परखनली में 1 मिली ताजा दूध तथा ब्रोमोथाइमोल ब्ल्यू रंजक (bromothymol blue dye) घोल की कुछ बूँदे मिलाइये। दूध अब नीले रंग का हो जायेगा। अगर यह पर्याप्त रूप से नीला ना हुआ हो, तो 0.1 N NaOH घोल की एक बूँद मिलाइए।

3. चारों प्रयोगात्मक परखनलियों में क्रमशः आहार नली के चारों भागों में से लिये गये एन्ज़ाइम स्रोत की 10 बूँदे मिलाइये। नियंत्रक परखनलियों में ताप -निष्क्रित एन्जाइम की 10 बूँदे मिलाइये।

4. परखनलियों के दोनों समूहों को 37°C तापमान पर दो घंटे के लिए ऊष्मायित कीजिए। प्रयोगात्मक तथा नियंत्रक परखनलियों में रंग परिवर्तन को नोट कीजिए।

   (1) आपने नियंत्रक तथा प्रयोगात्मक परखनलियों में क्या रंग परिवर्तन देखा?

   ....

   ....

   ....

   (2) आप लाइपेस की क्रियाशीलता के लिये परीक्षण में, रंग परिवर्तनों की व्याख्या किस प्रकार करेंगे?

   ....

   ....

   ....

17.4 परिणाम

अपने परिणामों को रिकार्ड करने के लिए नोटबुक में निम्न प्रकार से तालिका बनायें।

तालिका 17.1

एन्ज़ाइम	पाचन तंत्र के भाग							
	लार ग्रंथियां		अग्रांत्र		मध्यांत्र		पश्चांत्र	
	C	E	C	E	C	E	C	E
एमिलेस								
इन्वर्टेस								
प्रोटिएस								
लाइपेस								

नोट : पाचन तंत्र के किसी विशेष हिस्सें में जब भी आप किसी एन्ज़ाइम की उपस्थिति ज्ञात करें, तो आप उसकी उपस्थिति को तालिका में (+) चिन्ह से दर्शायें : (-) चिन्ह उस विशेष एन्ज़ाइम की, अनुपस्थिति को दर्शायेगा।

18 तिलचट्टे में श्वसन मापी यंत्र के द्वारा ऑक्सीजन के उपभोग की दर ज्ञात करना

18.1 प्रस्तावना

वायुजीवी (aerobic) प्राणियों को पोषक तत्वों को ऊर्जा में परिवर्तित करने के लिए ऑक्सीजन के संभरण (supply) की लगातार आवश्यकता होती है। कार्बन डाइऑक्साइड और जल, श्वसन उपापचयन के अंत उत्पाद होते हैं। वास्तव में, ऑक्सीजन का उपयोग और कार्बन डाइऑक्साइड का निष्कासन जीवित प्राणियों में श्वसन के दो प्रमुख घटक हैं। इस प्रयोग में आप एक सरल श्वसन मापी यंत्र (respirometer) के द्वारा एक कीड़े द्वारा उपभोग में लाई गई आक्सीजन की दर को मापने की कोशिश करेंगे। वायवीय श्वसन को दाबदर्शी तकनीक (manometric technique) के द्वारा ज्ञात किया जाता है। वारबुर्ग की दाबदर्शी इस प्रकार के परीक्षणों के लिए एक उपयुक्त यंत्र है। लेकिन यह उपकरण काफी मंहगा है। आप स्वयं ही छोटे जंतुओं में ऑक्सीजन का उपभोग मापने के लिए एक सरल युक्ति का निर्माण कर सकते हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के पश्चात आप:

- कुछ जैविक क्रियाओं को मापने के लिए साधारण यंत्र बना सकेंगे,
- सरल श्वसन मापी यंत्र के उपयोग से छोटे जीवों में श्वसन की दर को माप सकेंगे।

18.2 आवश्यक सामग्री

4 oz. बोतले (2)

1 छेद वाले रबर स्टॉपर (2)

2 मिली वाले अंशांकित पिपेट (2)

फिल्टर पेपर के टुकड़े

तार की जाली के छोटे टुकड़े (लगभग 1 वर्ग इंच के)

15 % KOH का घोल

तिलचट्टे

18.3 प्रयोग विधि

1. 4 oz. की बोतल पर एक छेद वाला रबर का स्टॉपर लगा दीजिए (चित्र 18.1)
2. 2 मिली के अंशांकित पिपेट को इस प्रकार से छेद में डालिए कि पिपेट का सिर्फ 1/5 से 1/4 वां हिस्सा ही बोतल के अंदर रहे और शेष बाहर की ओर निकला रहे।
3. बोतल की तली में 15% KOH के घोल में भीगे हुए फिल्टर पेपर के टुकड़ों को डाल दीजिए। फिल्टर पेपर के टुकड़ों को ढकने के लिए तार की जाली के टुकड़े का उपयोग कर सकते हैं, जिससे कि जब कीड़े को बोतल में डाला जाए तो वह क्षार के संपर्क में ना आये।
4. तुला में तिलचट्टे का वजन लीजिए। इसको श्वसन मापी यंत्र में डाल दीजिए और कस कर ढक दीजिए।
5. एक नियंत्रक श्वसन मापी यंत्र (एक ताप बैरोमीटर) कीड़े के बिना भी बनाएं (इसका मतलब है कि आप प्रयोगात्मक श्वसन मापी यंत्र की तरह का ही एक और यंत्र तैयार करें परन्तु उसमें कीड़े को न डालें)
6. प्रयोगात्मक और नियंत्रक दोनों, श्वसन मापी यंत्रों को पानी से भरी हुई ट्रे में साम्यन (equilibration) के लिए रखें। ऐसा करते समय प्रत्येक श्वसन मापी यंत्र के पिपेट के खुले हुए सिरे को पानी के बाहर रखें। यह प्रक्रिया वायु और जल के बीच के तापमानों में साम्यन करती है,

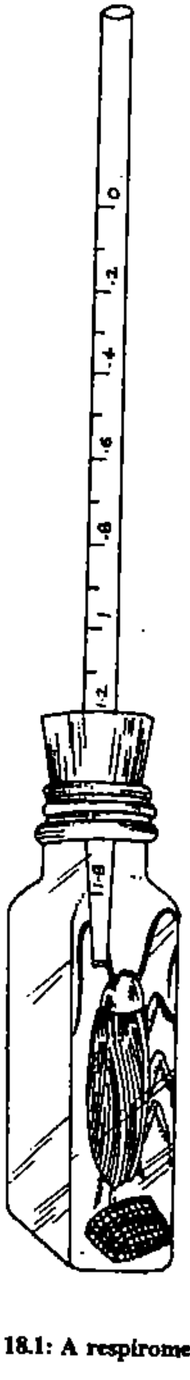


Fig. 18.1: A respirometer.

और लगभग 15 मिनट का समय लेती है। साम्यन काल के समाप्त होते वक्त श्वसन मापी यंत्र के खुले सिरों को भी जल में डुबो दीजिए।

सावधानी : जब श्वसन मापी यंत्र को पानी में डुबोया जाए तो जल तेजी से अंशांकित पिपेट में नहीं जाना चाहिए। यह यंत्र में रिसाव (leakage) को दर्शाता है। प्रयोग की सफलता के लिए आपके पास वायु निषिद्ध (air tight) युक्ति का होना जरुरी है। अगर आवश्यकता हो तो आप बोतल के मुंह को पिघले हुए मोम से सील कर सकते हैं। अपर्याप्त साम्यन के कारण भी अंशांकित पिपेट में जल तेजी से भर सकता है। उस अवस्था में, श्वसन मापी यंत्र को अधिक लंबे समय तक साम्यन के लिए रखना चाहिए।

18.4 निरीक्षण और निष्कर्ष

अंशांकित नलिका में जल के धीरे-धीरे प्रवेश का निरीक्षण कीजिए। कीड़े द्वारा ऑक्सीजन उपभोग की जाती है और निष्कासित कार्बन डाइऑक्साइड KOH द्वारा सोख ली जाती है। इस प्रयोगात्मक परीक्षण में ट्रे में रखा जल, दाबदर्शी तरल (manometric fluid) की तरह कार्य करता है। आप जल नवचन्द्रक (meniscus) को लगातार पिपेट में चलते हुए देख सकते हैं। एक घण्टे पश्चात् पिपेट में प्रवेश करने वाले जल के आयतन (volume) को नोट कीजिए। यह आयतन एक घंटे में कीड़े के द्वारा उपभोग की गई ऑक्सीजन के आयतन को मिलीलीटर यानि घन सेंटीमीटर में दर्शाता है।

श्वसन मापी यंत्र ताप और दाब में बदलावों के लिए बहुत ही संवेदनशील होता है। इसी कारणवश आपको एक नियंत्रक ताप बैरोमीटर का प्रयोग करना पड़ता है। ताप और दाब की वजह से होने वाले किसी भी प्रकार के आयतन में परिवर्तन इस नियंत्रक युक्ति के द्वारा नोट किए जा सकते हैं। नियंत्रक श्वसन मापी यंत्र में होने वाले आयतन के परिवर्तन को नोट कीजिए और ये संशोधन गुणक (correction factor) प्रदर्शित करेगा। प्रयोगात्मक मूल्यों में से संशोधन गुणक को जोड़ना अथवा घटाना पड़ेगा।

कीड़े द्वारा उपभोग की गई ऑक्सीजन का आयतन = प्रायोगिक श्वसनमापी यंत्र में रिर्कार्ड किया गया आयतन ± नियंत्रक श्वसन मापी यंत्र में रिकार्ड किया गया आयतन

प्रति इकाई समय में कीड़े के शरीर के प्रति ग्राम भार द्वारा उपभोग की गई ऑक्सीजन की दर = $\frac{\text{एक घंटे में उपभोग की गई ऑक्सीजन का भार}}{\text{कीड़े का भार}}$

= मिली ऑक्सीजन/प्रति ग्राम तिलचट्टे का भार/प्रति घंटा (दिए गए ताप पर)

बोध प्रश्न

1. इस प्रयोग को संपन्न करते समय यदि आपको किसी भी प्रकार की समस्याएं आई हों तो उनको सूचीबद्ध कीजिए तथा आपने उन्हें किस प्रकार से हल किया लिखिए।

   ....

   ....

   ....

   ....

2. मान लीजिए कि आप कीड़े में ऑक्सीजन के उपभोग पर ताप के प्रभाव को भी ज्ञात करना चाहते हैं। आप प्रक्रिया में कौन से अतिरिक्त चरणों को जोड़ेंगे।

   ....

   ....

   ....

   ....

19 मेंढक के पादजाल में सूक्ष्मपरिसंचरण का निरीक्षण करना

19.1 प्रस्तावना

LSE-05 पाठ्यक्रम में आपने एक अंग्रेज काय चिकित्सक (physician) विलियम हार्वे (William Harvey) के बारे में पढ़ा था, जिन्होंने 1860 के दशक की शुरुआत में रक्त परिसंचरण के प्रतिरूप (pattern) की खोज की थी। आप यह भी जानते हैं कि रक्त, शरीर के ऊतकों में पोषक तत्त्व, ऑक्सीजन और विभिन्न अन्य पदार्थों को ले जाता है और कार्बन डाइऑक्साइड तथा व्यर्थ पदार्थों को ऊतकों से बाहर कर देता है। स्वयं हार्वे ने कभी भी परिसंचरण तंत्र के महत्वपूर्ण घटक केशिकाओं (capillaries) को नहीं देखा। ये रक्त वाहिनियां (vessels)महत्वपूर्ण होती हैं क्योंकि ये केशिकाएं ही हैं, जिनके अंदर परिसंचरण तंत्र और कोशिकाओं (cells) के बीच में पदार्थों का आदान प्रदान होता है। वर्तमान प्रयोग में आप मेंढक के पैर के जाल में केशिकाओं द्वारा रक्त के परिसंचरण का निरीक्षण करेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- मेंढक के पैर के जाल में रक्त के परिसंचरण का निरीक्षण कर सकेंगे।
- धमनिकाओं (arterioles) , केशिकाओं तथा लघु शिराओं (venules) के बीच अंतर कर सकेंगे,
- अन्य धमनिकाओं और लघुशिराओं में से केशिका के पथ को देख सकेंगे।
- मेंढक के सूक्ष्मपरिसंचरण (micro circulation) पर ताप और एड्रीनेलिन (adrenalin) के प्रभाव को ज्ञात कर सकेंगे।

19.2 आवश्यक सामग्री

जीवित मेंढक

संयुक्त सूक्ष्मदर्शी

चिकित्सीय ड्रॉपर

सोखने वाला भीगा तौलिया

एक ड्रॉपर युक्त बोतल में रिंगर्स (Ringers) का समपरासारी (isotonic) घोल:

(1) बहुत ठण्डा (2) गर्म (कमरे के तापमान पर) (3) अधिक गर्म (40°C)

बालसा लकड़ी का मेंढक का बोर्ड, जिसमें छेद हो

पिनें

धागा

पास्तेर पिपेट

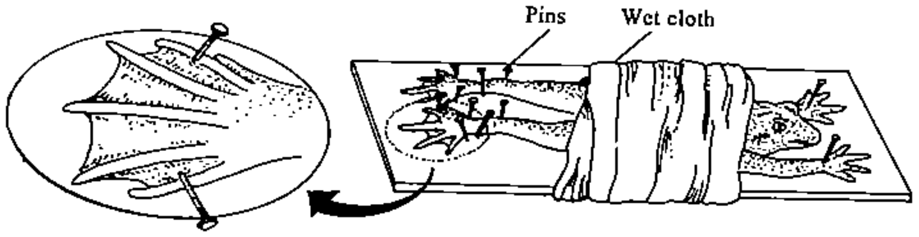
एड्रीनेलिन घोल (adrenalin solution)

19.3 प्रयोग विधि

मेंढक के पैर की उँगली की त्वचा बहुत ही पतली होती है। इसके परिणामस्वरूप आप वास्तविक केशिकाओं को, उनके मध्य विचरण करते हुए रक्त सहित देखने में समर्थ होंगे। अपने प्रयोगशालीय परीक्षण को शुरू करने से पहले प्रयोग विधि को ध्यानपूर्वक पढ़ लीजिए।

i) एक जीवित मेंढक को सावधानी से भीगे हुए तौलिए में कस कर लपेट लीजिए जिससे वह बहुत अधिक हिलडुल न सके। एक पैर को खुला छोड़ दीजिए। आपको मेंढक को इस प्रकार लपेटना होगा जिससे वह अपने पैरों को न मोड़ सके (चित्र 19.1) इस प्रक्रिया से मेंढक को कोई हानि नहीं होगी। वह अपनी त्वचा से साँस लेने में तब तक समर्थ होगा, जब तक कि आप तौलिये को गीला रखेंगे।

ii) लपेटे हुए मेंढक को मेंढक के बोर्ड पर रखिए और उसके पैर के जाल को यालसा लकड़ी के मेंढक के बोर्ड के छेद के ऊपर फैलाकर उसमें पिन लगाइए (चित्र 19.1)। चूंकि मेंढक के पाद जाल में कोई तंत्रिका नहीं होती है, आप जाल में पिनों को बिना मेंढक को हानि पहुंचाये हुए लगा सकते हैं। निरीक्षण के दौरान, पूरे समय मेंढक की त्वचा और पादजाल को नल के पानी और रिंगर्स घोल (कमरे के तापमान पर) के द्वारा भिगा के रखें ।

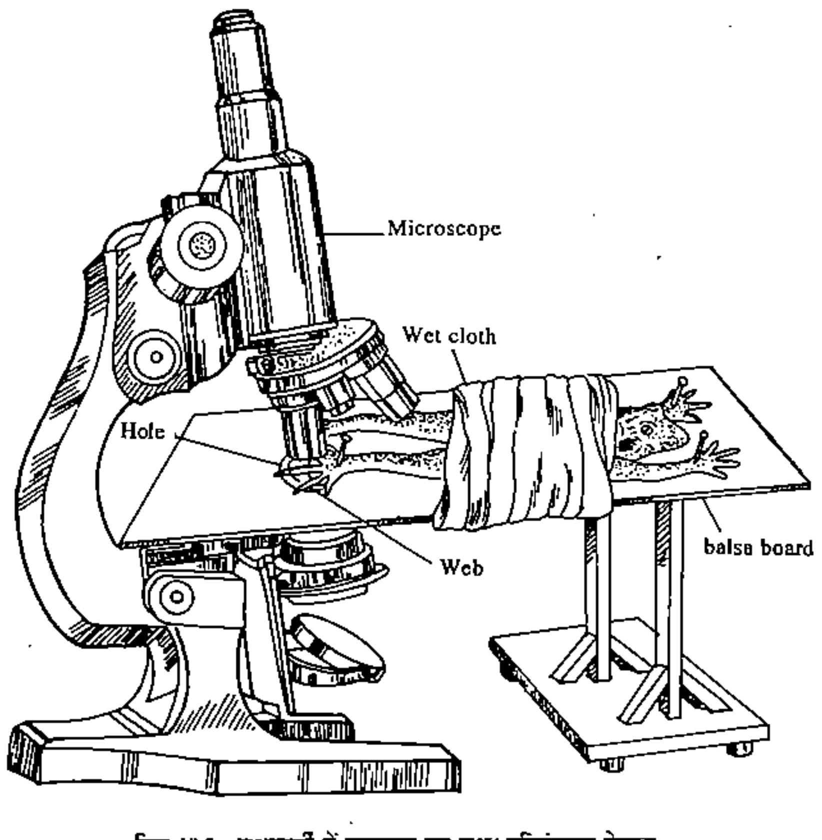


चित्र 19.1 : पाद जाल में सूक्ष्म परिसंचरण निरीक्षण के लिए मेंढक को तैयार करना

iii) इस पूरी व्यवस्था को सूक्ष्मदर्शी के स्टेज (stage) पर कम पॉवर (power) में रखें और अपने सूक्ष्मदर्शी में कम पॉवर में स्टेज को घुमाते हुए, तब तक घुमाइये जब तक कि आपको मेंढक के पादजाल में रक्त प्रवाहित (flowing) होता हुआ दिखाई पड़े। चित्र 19.2 ।

iv) इस दृश्य में छोटे से क्षेत्र को छाँटिए, और सावधानीपूर्वक वाहिनियों के आकार, उनकी भित्तियों (दीवारों) की मोटाई और रक्त प्रवाह की गति का निरीक्षण कीजिए ।

v) पादजाल में रक्त प्रवाह को ध्यानपूर्वक देखिए, इस तुलना को ध्यान में रखते हुए जोकि आप आपेक्षिक (relative) आकार, रक्त प्रवाह की तुलनात्मक गति और धमनिकाओं, केशिकाओं और लघु शिराओं में स्पंदन (pulsation) की मात्रा में करना चाहते हैं ।



चित्र 19.2 : सूक्ष्मदर्शी में पादजाल का सूक्ष्म परिसंचरण देखना

19.4 निरीक्षण

गतिविधि I

रक्त वाहिनियों के आमाप (साइज) के आधार पर केशिकाओं, धमनियों, लघु शिराओं और शिराओं

का विभेदन कीजिए

बोध प्रश्न 1: क्या आप लाल रक्त कोशिकाओं को चलते हुए देख सकते हैं?

बोध प्रश्न 2: किन रक्त वाहिनियों में मोटी भित्तियाँ हैं? किन में पतली भित्तियाँ हैं?

गतिविधि 2

नीचे दी गई जगह में, आपके द्वारा देखी गई एक रक्त वाहिनी का चित्र बनाइये। अपने चित्र में, लाल रक्त केशिकाओं को चिन्हित (label) कीजिए।

vi) केशिका में आप लाल रक्त कोशिकाओं को एक ही पंक्ति में चलते हुए देखेंगे तथा अन्य रक्तवाहिनियों में आप एक ही वक्त में एक से अधिक लाल रक्त कोशिकाओं को एक से दूसरे के पार्श्व में चलते हुए देख सकेंगे।

गतिविधि 3

केशिकाओं में रक्त छोटी धमनियों, जो कि धमनिकाएं कहलाती हैं, के द्वारा प्रवेश करता है। एक केशिका को धमनियों में जाते हुए देखिये।

गतिविधि 4

केशिका पर फोकस (focus) कीजिए, और फिर शिरा अथवा धमनी पर कीजिए।

बोध प्रश्न 3: किस रक्त वाहिनी में रक्त सबसे अधिक तेजी से तथा किसमें सबसे धीमी गति से प्रवाहित होता है?

शिरा -

धमनी -

केशिका -

बोध प्रश्न 4: क्या लाल रक्त केशिकाऐ एक लचीली (नम्य) संरचना दिखाई पड़ती है? बहुत पतली केशिकाओं में से किस प्रकार लाल रक्त कोशिकाऐं प्रवाहित हो जाती हैं?

....

....

....

बोध प्रश्न 5: क्या कोशिका, दृढ (rigid) काँच की नलिका जैसी दिखाई पड़ती है? या लचीली हैं जिसके कारण उनमें से कुछ अधिक रक्त प्रवाहित हो सकता है?

....

....

....

गतिविधि 5

पादजाल के किसी विशेष हिस्से पर फोकस कीजिए। इस क्षेत्र में दिखाई देती हुई सभी रक्त वाहिनियों का चित्र बनाइये और तीरों (arrows) की सहायता से इन वाहिनियों में रक्त के प्रवाह की दिशा को दर्शाइये।

केशिका में रक्त प्रवाह को प्रभावित करने वाले कारक

रक्त प्रवाह और उसका वेग (velocity) बहुत सारे कारकों के द्वारा प्रभावित होता है। रासायनिक पदार्थ जैसे कि इथाइल एल्कोहल (ethyl alcohol), रक्त वाहिनियों को संकुचित कर देते हैं और रक्त के प्रवाह की दर को कम कर देते हैं। इसके विपरित निकोटिन (nicotin) और लेक्टिक अम्ल (lactic acid), रक्त वाहिनियों को विस्तारित (dilate) कर देते हैं और रक्त के प्रवाह की दर को बढ़ा देते हैं।

इस प्रयोगशालीय परीक्षण में हम मेंढक में केशिकीय परिसंचरण पर ताप और एड्रीनेलिन के प्रभाव का अध्ययन करेंगे।

गतिविधि 6 - परिसंचरण पर ताप का प्रभाव

केशिकाओं के जाल को, कमरे के तापमान पर, ध्यानपूर्वक निरीक्षण कीजिए और सामान्य रक्त प्रवाह की जानकारी कर लीजिए। पास्तेर (pasteur) पिपेट की सहायता से बहुत ठण्डे रिंगर घोल (समपरासारी लवण घोल) की कुछ बूंदे, पाद जाल में केशिकाओं के जाल की सतह पर डालें। पाँच मिनट तक निरीक्षण करें। क्या रक्त के प्रवाह में कोई दृष्टिगोचर परिवर्तन हुआ है? क्या रक्त के प्रवाह की गति बढ़ी अथवा कम हुई है?

अपने निष्कर्षों को अपनी नोटबुक में रिकार्ड कीजिए।

क) मेंढक के पादजाल को हल्के गर्म (कमरे के तापमान पर) रिंगर्स घोल से धो दीजिए। अब 40°C तापमान पर गर्म किए हुए रिंगर घोल को पाद जाल के केशिकाओं पर डालिए और अब परिसंचरण की दर को देखिए।

अपने परिणामों को अपनी नोट बुक में दर्ज कीजिए।

ख) मेंढक के पाद जाल के ऊतकों से गर्म रिंगर घोल को धो दीजिए। उसके बाद केशिकाओं के जाल पर एड्रीनेलिन के घोल की एक बूंद डालिए। (अपने निरीक्षणों को रिकार्ड कीजिए)

अपने द्वारा रिकार्ड किए गए आँकड़ों के आधार पर, नीचे दिए गए परिधीय (peripheral) परिसंचरण पर इन कारकों के प्रभाव से संबंधित प्रश्नों के उत्तर दीजिए।

बोध प्रश्न 6: आपको यह ज्ञात है कि माँसपेशिय ऊतकों (muscle tissue) में, कसरत करने के दौरान लेक्टिक अम्ल की मात्रा बढ़ जाती है। फिर आप क्या उम्मीद करतें हैं कि ऑकसीजन किस आदमी की माँसपेशियों में ज्यादा पहुंचेगी, जो दौड़ रहा है या जो आराम कर रहा है?

तनाव (stress) के समय रक्त की धारा में एड्रीनेलिन निर्मुक्त (released) होती है। क्यों कोई व्यक्ति जो कि डरा हुआ हो, लाल और प्रधावित (flushed) होने की बजाय पीला पड़ जाता है?

सावधानियाँ

1) आप मेंढक और उसके पादजाल को हमेशा नम रखें।

2) ध्यान रखें कि पिनों को मेंढक के पैर में से न लगायें। उन्हें सिर्फ पादजाल में से ही लगायें।

20 मनुष्य के रक्त में हीमोग्लोबिन, समस्त लाल रक्त कणिकाओं तथा श्वेत रक्त कणिकाओं का आकलन

20.1 प्रस्तावना

जब रक्त को अपकेन्द्रित (centrifuge) किया जाता है तो वह दो अलग-अलग भागों, तरल तथा निर्मित तत्वों (formed elements) में बँट जाता है। स्वच्छ पुआलवर्णी (straw coloured) तरल पदार्थ जीवद्रव्य (plasma) कहलाता है। रक्त के आयतन का 50% से भी अधिक भाग जीवद्रव्य का होता है। निर्मित तत्वों में लाल रक्त कणिकाऐं रक्ताणु (Erythrocytes), श्वेत रक्त कणिकाऐं या श्वेताणु (Leucocytes) तथा पट्टिकाणु या बिम्बाणु (Thrombocytes) होते हैं। पुरुषों में लाल रक्त कणिकाओं की संख्या, एक घन (cubic) मि.मी. क्षेत्र में 50 लाख तथा महिलाओं में 45-50 लाख तक होती है। विभिन्न अंगों में ऑक्सीजन पहुँचाने के लिए, रक्ताणु, हीमोग्लोबिन के साथ संबद्ध हो जाते हैं। एक लाल कोशिका में लगभग 28 करोड़ (2.8 × 108) हीमोग्लोबिन के अणु होते हैं। मनुष्यों में हीमोग्लोबिन की सान्द्रता, पुरुषों में 14-16% तथा महिलाओं में 12-14 % तक होती है। इस मात्रा से कम सान्द्रता रक्त अल्पता (Anaemia) की द्योतक है। रक्त अल्पता शरीर में लौह तत्वों की कमी के कारण होती है। आप कह सकते हैं कि लौह अथवा हीम (Heme) हीमोग्लोबिन अणु का प्रोस्थेटिक समूह (Prosthetic group) है।

श्वेत रक्त कणिकाऐं, श्वेताणु विभिन्न आकारों वाले केन्द्रकों वाली कोशिकाऐं हैं। सामान्य रक्त में श्वेताणुओं की संख्या औसतन 5-9 हजार प्रति घन मि.मी. होती है। बच्चों में इनकी संख्या अधिक होती है। श्वेत रक्त कणिकाएं,रक्त में घुस आने वाले बैक्टीरिया, वाइरस तथा अन्य बाहरी तत्वों से शरीर की प्रमुख रक्षण प्रणाली (Defence mechanism) का निर्माण करते हैं। संक्रमण के दौरान, श्वेताणु की संख्या बढ़ जाती है, जिससे कि संक्रमण का पता लगता है।

इस प्रायोगिक परीक्षण में, आप हीमोमीटर के द्वारा रक्त में हीमोग्लोबिन के स्तर का आकलन तथा हीमोसाइटोमीटर की सहायता से लाल और श्वेत रक्त कोशिकाओं की संख्या को ज्ञात करेंगे।

उद्देश्य

इस परीक्षण को करने के बाद आप समर्थ होंगे :

- रक्त के सैम्पल में हीमोग्लोबिन का स्तर ज्ञात करने में तथा
- रक्त में लाल रक्त कणिकाओं और श्वेत रक्त कणिकाओं की कुल संख्या के आकलन में

अ हीमोग्लोबिन का आकलन

20.2 आवश्यक सामग्री

हीमोमीटर (हैल्डीन का हीमोग्लोबिनोमीटर)

0.1 N HCl (हाइड्रोक्लोरिक अम्ल) [1.2 मि.ली. सान्द्र HCl को आसुत जल मिला कर 100 मि.ली. बना लीजिए]

आसुत जल

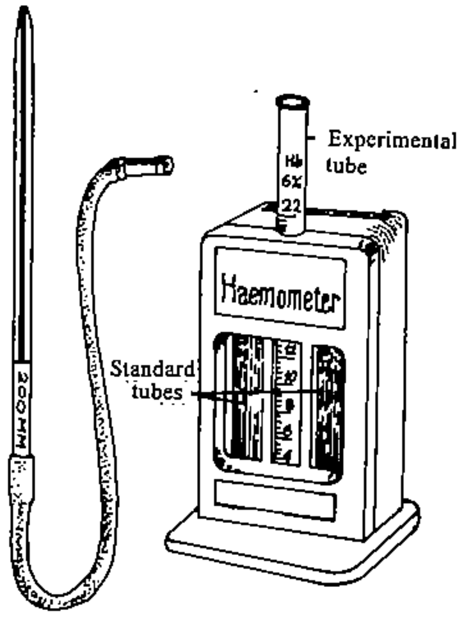
रोगाणुरहित सुई (हीमोलेट्स)

अल्कोहल

रुई

हीमोमीटर (haemometer)

हीमोमीटर (**haemometer**) दो बन्द पार्श्व , तुलनक नलियों (comparison tubes) का बना होता है, जिनमें हिमेटिन अम्ल का सस्पेंशन भरा होता है। ये नलियाँ एक सफेद काँच की सतह पर काले फ्रेम में लगी रहती हैं। इनके अतिरिक्त, उसी व्यास की एक अंश अंकित (Graduated) परखनली भी रहती है, जो हीमोमीटर में दोनों पार्श्व नलियों के बीच में लग जाती है। परीक्षण नली पर अंकित अंक, रक्त में हीमोग्लोबिन की प्रतिशत मात्रा, अर्थात ग्राम हीमोग्लोबिन/100 मि.ली. रक्त में, दर्शाते हैं। जो अन्य सहायक सामग्री दी जाती है, उसमें 20 मिमी^{3}, सूक्ष्म पिपेट एक छोटी कांच की छड़, एक छोटी बोतल, ब्रश, एक ड्रॉपर और एक 0.1 N अम्ल घोल की छोटी बोतल है।



चित्र 20.1 : हीमोमीटर

20.3 प्रयोग विधि

इस विधि में अंश अंकित नली में रक्त का अम्ल हिमेटिन घोल बनाते हैं और फिर इस घोल के रंग की तुलना मानक नलियों में दिए गए अम्ल हिमेटिन के घोल के रंग से करते हैं।

1. अंश अंकित नली को पहले आसुत जल से और फिर 90% अल्कोहल से धोइये। उपयोग करने से पहले नली को अच्छी तरह सूख जाने दीजिए।

2. अंश अंकित नली में 2 ग्रा. चिन्ह तक, 0.1 N HCl घोल, ड्रॉपर की सहायता से डालिए।

3. अपनी तीसरी अथवा चौथी उँगली को रोगाणुमुक्त अल्कोहल में भीगी हुई रुई से साफ करें और रोगाणुमुक्त सुई चुभोकर ताजे रक्त की बूंद निकालें। आप इस कार्य के लिए सिलाई वाली सुई अथवा आलपिन का उपयोग भी कर सकते हैं, परंतु वह भली प्रकार रोगाणुमुक्त होनी चाहिए। रोगाणुमुक्त करने के लिए सुई, या पिन या लेन्सेट (Lancet) को आग पर गर्म करें और फिर उसे अच्छी तरह अल्कोहल से साफ करें। किसी भी अवस्था में, एक छात्र द्वारा उपयोग में लाई गई सुई, पिन अथवा लेन्सेट दूसरे छात्र द्वारा उपयोग में नहीं लाई जानी चाहिए।

4. रक्त की पहली बूंद को पोंछ लें और फिर माइक्रो पिपेट के द्वारा 20 mm^3 के चिन्ह तक रक्त निकाल लें।

5. माइक्रो पिपेट के ऊपर लगे रह गये थोड़े से रक्त को रोगाणुमुक्त रुई से पोंछ लें।

6. रक्त को माइक्रोपिपेट से HCl के घोल वाली अंश अंकित नली में पलट दें। पिपेट को सावधानी से नलिका में ले जायें, जिससे उसका सिरा नलिका के तल में, HCl के घोल तक पहुँच जाए। रक्त को पलटने के लिए, रबड़ की नलिका के खुले सिरे में से फूंक मारे।

7. जब रक्त नलिका में पहुँच जाए तब पिपेट को आसुत जल से धो लें ओर उस जल को अंश अंकित नली में पलट दें। आप इस प्रक्रिया को दो-तीन बार दोहरा सकते हैं, जिससे कि पिपेट के किनारों पर रक्त लगा हुआ न रह जाये व सारा अंश अंकित नली में पहुँच जाए।

8. अम्ल हिमेटिन के घोल को काँच की छड़ से अच्छी तरह चलायें और फिर उसे कम से कम 10 मिनट के लिए ऐसे ही रख दें।

9. अगले चरण में अम्ल हिमेटिन में बूंद-बूंद करके आसुत जल मिलाकर उसे तनु करते हैं।

10. आसुत जल की प्रत्येक बूंद को डालने के पश्चात् घोल को काँच की छड़ से हिलाइये और उसके रंग को मानक परखनलियों में दिए गए घोल के रंग से मिलाइये। आप इस प्रक्रिया को तब तक दोहराते रहें जब तक कि अम्ल हिमेटिन घोल का रंग ठीक मानक तुलनक नलियों में दिए

गए घोल के रंग की तरह हल्का न हो जाये। आसुत जल की प्रत्येक बूंद मिलाने के पश्चात्, अंश अंकित नली पर पाठ्यांक (Reading) को नोट करें

11. ठीक रंग के हल्के पड़ने से पहले, अंश अंकित नलिका पर लिया गया पाठ्यांक ही सही और निर्णायक पाठ्यांक माना जाता है। यह पाठ्यांक, प्रति 100 मि.ली. रक्त में, हीमोग्लोबिन की, ग्राम में मात्रा है।

हिमेटिन: जब रक्त में तनु अम्ल मिलाया जाता है तो हीमोग्लोबिन में से हीम, ग्लोबिन से पृथक हो जाता है। हीम में लौह तत्व फैरस (Ferrous) अवस्था में होते हैं और वह अम्ल से प्रतिक्रिया होने पर, हिमेटिक अवस्था में ऑक्सीकृत (Oxidise) हो जाता है, जिसमें कि लौह तत्व फेरिक (Ferric) अवस्था में होते हैं। हीमोग्लोबिन में तनु अम्ल (HCl का डेसीनोर्मल घोल) मिलाने पर अम्ल हिमेटिन बनता है, जो कि गहरे भूरे रंग का होता है।

20.4 निष्कर्ष

अपने परिणामों को नीचे दिखाई गई विधि से सूचिबद्ध कीजिए।

मिलाए गए जल की बूंदों की संख्या	हीमोग्लोबिन सान्द्रता, ग्राम/100 मि.ली.
1.	11.5
2.	11.6
3.	11.7
4.	11.8
5.	11.9
6.	हिमेटिन का रंग हल्का पड़ गया

निर्णायक पाठ्यांक = 11.9 ग्राम/100 मि.ली.

निष्कर्ष : हीमोग्लोबिन की मात्रा = 11.9 ग्राम/100 मि.ली.

20.5 सावधानियाँ

1. रक्त निकालते वक्त, उँगली के सिरे को हल्के से बेंधिए (Prick)।
2. उँगली और बेधक सुई रोगाणुमुक्त होनी चाहिए।
3. बिना साफ की हुई नलियों, पिपेट्स आदि का उपयोग मत कीजिए।
4. माइक्रोपिपेट को एक दम उचित चिन्ह तक भरिए।
5. पिपेट के मुख की बाहरी सतह पर लगे हुए रक्त को मत मिलाइये।
6. प्रयोग को तुरंत ही कर लेना चाहिए, जिससे कि, 0.1 N HCl में डालने से पूर्व ही, ताजे रक्त के थक्के ना जम जायें।

ब रक्त में रक्ताणुओं की संख्या का आकलन

इस प्रयोग में आप प्रति घन मि.मी. रक्त में उपस्थित लाल रक्त कणिकाओं की संख्या ज्ञात करेंगे।

20.6 आवश्यक सामग्री

हीमोसाइटोमीटर

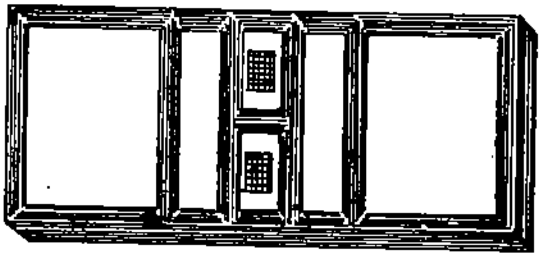
हेयूमस का घोल

सूक्ष्मदर्शी

हीमोसाइटोमीटर

रक्त कोशिकाओं की संख्या ज्ञात करने के लिए उपयोग में लाये जाने वाले उपकरण को हीमोसाइटोमीटर कहते हैं (चित्र 20.2)। उपकरण का निरीक्षण कीजिए और उसे पहचानिए, इसमें गणन स्लाइड, कवर स्लिप और पिपेट्स होते हैं। गणन कोष्ठ में एक पटल (stage) होता है, जिस पर बारीक रेखाओं के दो सेट्स एक दूसरे से समकोण बनाते हुए बने रहते हैं। संपूर्ण रेखित क्षेत्र 1 वर्ग मि.मी. का होता है, और 25 बड़े वर्गों (0.04) तथा 400 छोटे वर्गों (0.0025 वर्ग मि.मी.) का बना होता है। गणन कोष्ठ के दोनों तरफ 0.1 मि.मी. ऊँची कांच की कटक (Ridge) होती है। जब दोनों

कटकों के ऊपर, गणन कोष्ठ को ढंकते हुए, कवर स्लिप रखी जाती है, तो घन क्षेत्र (cubic space) परिबद्ध (Enclosed) हो जाता है। प्रत्येक छोटे से छोटे घन का आयतन 0.00035 घन मि.मी. होता है। संपूर्ण रेखित कक्ष का आयतन 0.1 घन मि.मी. होता है।



चित्र 20.2: हीमोसाइटोमीटर

रक्त के सैम्पल को एकदम सही मात्रा में तनु करने के लिए, गणन कोष्ठ के साथ दो पिपेट भी दिए जाते हैं। एक पिपेट, जिसके बल्ब में लाल रंग की मणिका (Bead) होती है, उसका प्रयोग लाल रक्त कणिकाओं की गणना हेतु रक्त निकालते में किया जाता है। अन्य पिपेट जिसके बल्ब में सफेद रंग की मणिका होती है, उसका प्रयोग श्वेत रक्त कणिकाओं की गणना के लिए रक्त निकालते में किया जाता है।

20.7 प्रयोग विधि :

हीमोसाइटोमीटर को साफ करके और सुखा कर उस पर कवर स्लिप रखिए।

i) अपनी उंगली के पोर और सुई को रोगाणुमुक्त करके, पिछले प्रयोग में बताई गई विधि के अनुसार, रक्त की एक बड़ी बूंद निकालिए। पिपेट का प्रयोग करके ठीक 0.5 के चिन्ह तक रक्त निकालिए। अगर आपने अधिक मात्रा में रक्त निकाल लिया हो, तो पिपेट के मुख को हथेली से दबाकर, रक्त को 0.5 के चिन्ह तक ले आइए।

हेयम के घोल का संयोजन (Composition) निम्न है। -

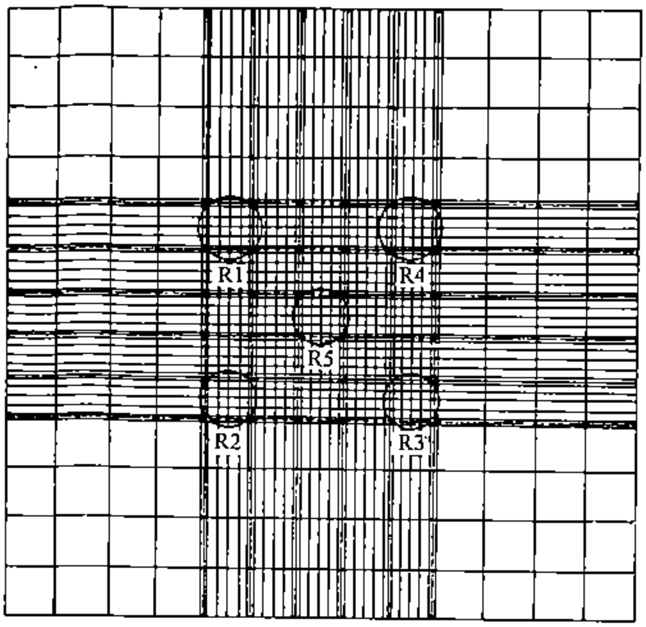
1) मरक्यूरिक क्लोराइड ($HgCl_2$) = 0.5 ग्रा.

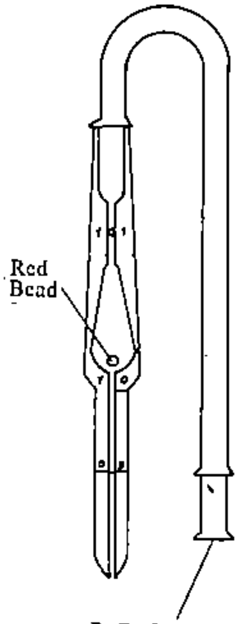
ii) सोडियम क्लोराइड (NaCl) = 1.0 ग्रा.

iii) सोडियम सल्फेट (Na_2SO_4) = 5.0 ग्रा.

iv) आसुत जल (H_2O) = 200 मि.ली.

2. **अब इस पिपेट में सावधानीपूर्वक हेयम का घोल, 101 चिन्ह तक भरिए। पिपेट को क्षैतिज (Horizontally) रूप में रख कर कई बार घुमाइये, जिससे कि रक्त, हेयम के घोल में अच्छी तरह से मिल जाये। माइक्रोपिपेट की लाल कणिका, रक्त घोल के मिलाने में सहायक होती है। अब रक्त को 200 गुना तनु कर लिया जाता है।**





चित्र 20.3 : लाल रक्त कणिका (RBC) पिपेट तथा गणन कोष्ठ में छोटे वर्ग, R - लाल रक्त कोशिकाओं के लिए, छोटे वर्गों को दर्शाता है।

3. पिपेट में से तनु किए गए रक्त की प्रथम 3-4 बूंदों को, अपने हाथ को नली के मुख पर से हटाकर निकाल दें। अब पिपेट की नोंक को कवर स्लिप और पटल के बीच में रखकर, रक्त के मिश्रण की कुछ बूंदें, कवर स्लिप और गणन कोष्ठ के बीच की पतली जगह में डालिए। कोशिका क्रिया (capillary action) के कारण रक्त का मिश्रण , कवर स्लिप और गणन कोष्ठों के बीच में भरा रहेगा। गणन कोष्ठ में हवा का प्रवेश नहीं होना चाहिए। अधिक मात्रा में रक्त का मिश्रण नहीं डालना चाहिए जिससे कि रक्त, H-के आकार की साँच के अन्दर ना जा सके।

4. जब गणन कोष्ठ पूर्णत: भर जायें, तब स्लाइड को कुछ मिनट के लिए, अलग रख दें, जिससे लाल रक्त कणिकाएं गणन कोष्ठ के तल में बैठ जाएं।

5. अब स्लाइड को धीरे से सावधानीपूर्वक सूक्ष्मदर्शी के नीचे रखें। गणना के लिए, लाल कणिकाओं को सूक्ष्मदर्शी के अधिक पावर में फोकस करें (चित्र 20.3)।

6. 80 छोटे वर्गों में तथा ५ बड़े वर्गों में, यादृच्छिक रूप से (Randomly) लाल रक्त कणिकाओं की गिनती करें। वे लाल रक्त कणिकाएं जो आपकी ओर के वर्ग की रेखा के मध्य में अथवा दाहिनी तरफ हों, उनकी संपूर्ण योग में गिनती करें तथा जो ऊपर की तरफ और वर्ग की रेखा के बायीं तरफ हों, उनकी गिनती ना करें।

अपनी गणना को नीचे दी गई तालिका में अंकित करें।

20.8 निष्कर्ष

वर्गों की संख्या	कोष्ठ में लाल रक्त कणिकाओं की संख्या
1.	83
2.	
3.	
4.	
5.	

कुल R.B.C =

80 छोटे वर्गों में गिनी गई कोशिकाओं की संख्या × 200 × 50 [यहां 200 तनुता का गुणांक है। 80 छोटे छोटे वर्गों अथवा 5 बड़े वर्गों में तरल का आयतन = ५० घन मि.मी.। इसलिए 1 मि.मी. रक्त में कोशिकाओं की संख्या ज्ञात करने के लिए आपको उसे 50 से गुणा करना पड़ेगा।]

20.9 आवश्यक सामग्री

हीमोसाइटोमीटर

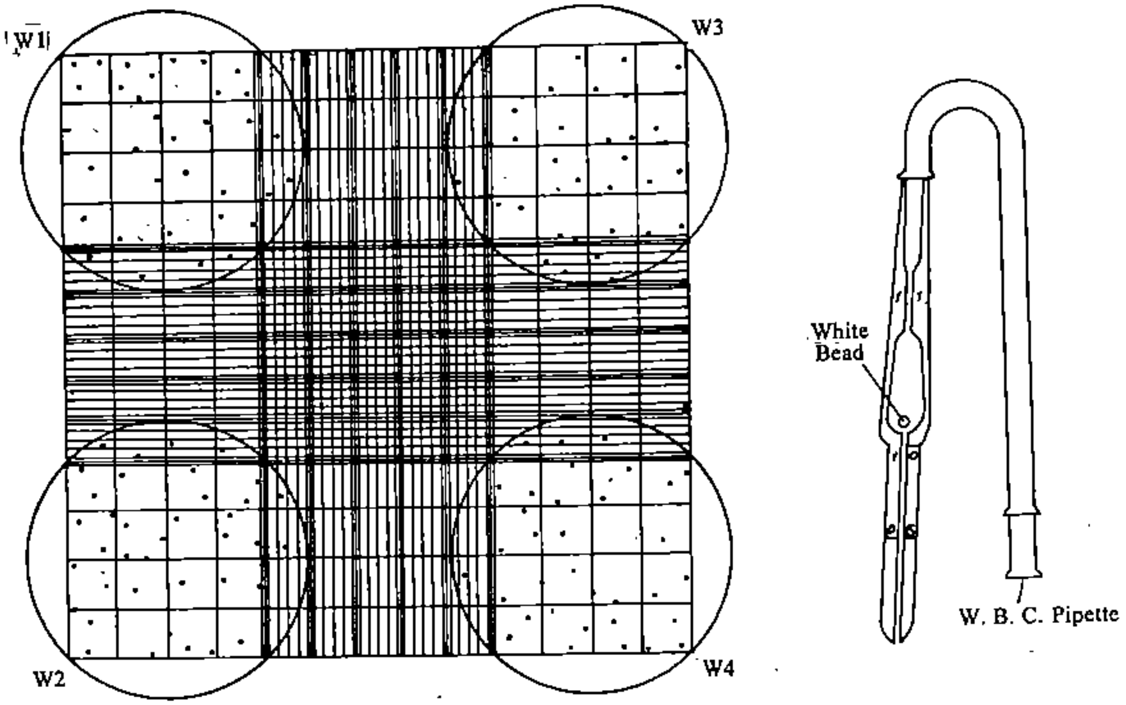
थोमा का तरल (Thoma's fluid)

जल

आसुत जल

20.10 प्रयोग विधि

श्वेत रक्त कोशिकाओं की गणना करने की विधि लाल रक्त कणिकाओं की गणना के समान ही है। परंतु इसमें श्वेत रक्त कोशिका पिपेट तथा तनु करने के लिए, थोमा के तरल का प्रयोग होता है। श्वेत रक्त कोशिका की गणना हीमोसाइटोमीटर के गणन कोष्ठों के दोनों तरफ, एक वर्ग मि.मी. के मध्य रेखित क्षेत्र के चारों कोनों में की जाती है। (चित्र 20.4) श्वेत रक्त कोशिकाओं को अपवर्तनीय (Refractile) आभास और हल्के बैंगनी रंग, के द्वारा पहचाना जाता है। किनारों को छूती हुई कोशिकाओं की गणना नहीं की जाती।



चित्र 20.4 : श्वेत रक्त कोशिका (WBC) पिपेट गणन कोष्ठ के बड़े वर्ग W : श्वेत कणिकाओं की गणना के लिए बड़े वर्गों को दर्शाता है।

अपने परिणामों को नीचे दी गई तालिका में अंकित करें।

20.11 निष्कर्ष

वर्गों की संख्या	श्वेत रक्त कोशिकाओं की संख्या
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	

मनुष्य के रक्त में हीमोग्लोबिन, समस्त लाल रक्त कणिकाओं तथा श्वेत रक्त कणिकाओं का आकलन

$$\text{प्रति घन मि.मी. क्षेत्र में श्वेत रक्त कोशिओं की संख्या} = \frac{\text{गिनी गई कोशिकाओं की संख्या} \times 20 \times 10}{\text{एक वर्ग मि.मी. में गिनी गई कोशिकाओं की संख्या}}$$

चूंकि तनुता 20 गुना है तथा गिने गये क्षेत्र की घन क्षमता 1/10 घन मि.मी. है, अत: कुल आयतन 1/200 घन मि.मी. होगा। उदाहरण के लिए गिनी गई श्वेत रक्त कोशिकाओं की संख्या 25 है। दूसरे शब्दों में 1/200 घन मि.मी. में W.B.C. की संख्या 25 है। अत: 1 घन मि.मी. में श्वेत रक्त कोशिकाओं की संख्या = 25 × 200 = 5000 श्वेत रक्त कोशिकायें। सामान्यत: एक स्वस्थ मनुष्य के रक्त में 4000 से 6000 प्रति घन मि.मी. श्वेत रक्त कोशिकायें होती हैं।

21 विभिन्न आवासों में रहने वाले जंतुओं के उत्सर्जित पदार्थो का परीक्षण

21.1 प्रस्तावना

जीव के शरीर में उपापचयन के द्वारा विभिन्न प्रकार के उप उत्पाद(byproducts) बनते है। उनमें से कुछ उपयोगी होते हैं, और कुछ की उन जीवों को कोई आवश्यकता नहीं होती, बल्कि अगर वे शरीर में रह जाएं तो उनसे नुकसान हो सकता है। ऐसे छोटे जीव जिनमें सतह/कायिक अनुपात (surface/body ratio) अधिक होता है, व्यर्थ पदार्थ विसरण के द्वारा लुप्त हो जाते हैं, लेकिन बड़े प्राणियों में निराविषिकरण, अभिगमन, संचयन और उत्सर्गी पदार्थों के निष्कासन के लिए विशिष्ट तंत्र होता है।

आपने, फिज़ियोलॉजी (LSE-05) के पाठ्यक्रम की इकाई 4 में पढ़ा है कि नाइट्रोजन विषाक्त होती है और उसे बनते ही तत्काल उत्सर्जित किए जाने की आवश्यकता होती है, अथवा उत्सर्जन से पहले उसे कम विषाक्त रूप में बदल दिया जाता हैं। इस कारण, विभिन्न प्राणियों के द्वारा नाइट्रोजन, उनके आवास के अनुसार, भिन्न-भिन्न रूपों में उत्सर्जित होती हैं। जलीय वातावरण में रहने वाले जंतुओं में, स्थलीय जंतुओं की तुलना में, उत्सर्जन की पृथक समस्याएं होती हैं। और जंतुओं को उनके नाइट्रोजन युक्त उत्सर्जित पदार्थो जैसे अमोनिया, यूरिया अथवा यूरिक अम्ल के आधार पर वर्गीकृत किया जा सकता है। वे जंतु जो अमोनिया उत्सर्जित करते हैं, अमोनिया उत्सर्गी कहलाते हैं। वे जो यूरिया उत्सर्जित करते हैं, यूरिया उत्सर्गी तथा वे जो मुख्यतः यूरिक अम्ल उत्सर्जित करते हैं, यूरिकाम्ल उत्सर्गी कहलाते हैं।

इस प्रयोग में आप विभिन्न प्रकार के आवासों (जैसे भूमि, और जल) में रहने वाले जंतुओं द्वारा उत्सर्जित पदार्थों का परीक्षण करेंगे तथा जन्तुओं को उनके द्वारा उत्सर्जित पदार्थों के आधार पर वर्गीकृत करेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- कशेरुकी प्राणियों द्वारा उत्सर्जित पदार्थों में अमोनिया, यूरिया अथवा यूरिक अम्ल की उपस्थिति ज्ञात करने में सक्षम हो सकेंगे।
- विभिन्न प्राणियों के उत्सर्जित पदार्थों के आधार पर उनके आवास का पता कर सकेंगे।

21.2 आवश्यक सामग्री

मछलीघर (aquarium)का पानी।

ऐसी जल-जीवशाला का पानी, जिसमें कुछ दिनों तक मेंढकों को रखा गया हो।

गाय का मूत्र

पक्षी का ग्वानों

परख नलियां

पिपेट्स

नेस्लर का अभिकर्मक

यूरियेस एंजाइम अथवा ताजा बना हुआ काले चने का पाउडर

2 % सोडियम कार्बोनेट का घोल

सान्द्रित नाइट्रिक अम्ल

सान्द्रित हाइड्रोक्लोरिक अम्ल

तनु अमोनियम हाइड्रोक्साइड

21.3 प्रयोग विधि

1. आपके परामर्शदाता आपको, आवश्यक सामग्री में सूचियद्ध किए गए, विभिन्न उत्सर्जित पदार्थो को देंगे।

3. परखनलियों के तीनों समूहों में उत्सर्जित पदार्थों को इस प्रकार लीजिए,

   परखनली 1 मछलीघर का पानी

   परखनली 2 मेंढक वाली जलजीवशाला का पानी

   परखनली 3 गाय का मूत्र

   परखनली 4 पक्षी का ग्वानों

पक्षी के ग्वानों को घोलने के लिए उसमें 2 मि.ली. 2% सोडियम कार्बोनेट का घोल मिलाइये और उबालिए। इसको ठंडा होने के लिए रख दीजिए साफ तरल पदार्थ को दूसरी परखनली में डाल लीजिए। इस पर संख्या 4 डाल कर विभिन्न परीक्षणों में प्रयोग कीजिए।

चार परखनलियों के एक सेट को अमोनिया के परीक्षण के लिए उपयोग कीजिए, एक सेट यूरिया के लिए और तीसरा सेट यूरिक अम्ल की उपस्थिति के परीक्षण के लिए उपयोग कीजिए।

अमोनिया के लिए परीक्षण

अमोनिया के परीक्षण के लिए सेट A का उपयोग कीजिए।

1. हर परखनली में 2 मि.ली. नेस्लर का अभिकर्मक डालिए।
2. रंग में होने वाले अंतर को नोट कीजिए। भूरापन लिए हुआ लाल रंग अमोनिया की उपस्थिति को दिखाता है। अपने निष्कर्षों को तालिका 21.1 में लिखिए।

यूरिया के लिए परीक्षण

यूरिया के परीक्षण के लिए सेट B का उपयोग कीजिए।

1. प्रत्येक परखनली में एक चुटकी यूरिएस एंजाइम मिलाइये। यदि यह एंजाइम उपलब्ध न हो तो काले चने के पाउडर का उपयोग कीजिए।
2. परखनलियों को एल्यूमिनियम की पन्नी से अच्छी तरह ढ़क दें और 10 मिनट के लिए अलग रख दें।
3. हर परखनली में 2 मि.ली. नेस्लर का अभिकर्मक मिलाइए। रंग में होने वाले अंतर को नोट कीजिए। अपने निष्कर्षों को तालिका 21.1 में लिखिए।

बोध प्रश्न 1 यूरिया पर यूरिएस एंजाइम का क्या प्रभाव होता है?

....

....

....

बोध प्रश्न 2 परखनलियों को ढकने की आवश्यकता क्यों पड़ती है?

....

....

....

यूरिक अम्ल के लिए परीक्षण

इस परीक्षण के लिए सेट C का उपयोग कीजिए।

1. प्रत्येक परखनली में किनारों से 2 मि. ली. सान्द्रित HCl को डालिए।
2. यूरिक अम्ल के कणों का बनना देखिए। अपने निष्कर्षों को लिखिए।
3. कणों वाली परखनली में से तरल पदार्थ को फेंक दीजिए। अब कणों को कुछ मि.ली. आसुत जल से धोइए।
4. इन कणों को एक साफ वाचग्लास में रखकर सूक्ष्मदर्शी के द्वारा देखिए। कणों की संरचना का अपनी पुस्तिका में आरेख बनाइये।

बोध प्रश्न 3 यूरिक अम्ल के कणों को आप किस प्रकार घोलेंगे?

....

....

....

बोध प्रश्न 4 जलीय जंतु, यूरिया की बजाय अमोनिया को उत्सर्जित क्यों करते हैं?

....

....

....

बोध प्रश्न 5 पक्षी, किस कारण यूरिया की बजाय यूरिक अम्ल को उत्सर्जित करते हैं?

....

....

....

21.4 निष्कर्ष

तालिका 21.1

उत्सर्जित पदार्थ

जंतु	अमोनिया	यूरिया	यूरिक अम्ल
मछली			
मेंढक			
गाय			
पक्षी			

नोट : सकारात्मक निष्कर्ष को + चिन्ह तथा नकारात्मक निष्कर्ष को – चिन्ह से दिखाइये।

बोध प्रश्न 6 क्या आपके परीक्षणों में एक ही जंतु में विभिन्न उत्सर्जित पदार्थों के लिए सकारात्मक निष्कर्ष निकले हैं? यदि हाँ तो इसका कारण बताइये।

....

....

....

22 मेंढक में पेशी संकुचन का अभिलेखन

22.1 प्रस्तावना

LSE-05 के खण्ड 2 की इकाई 6 में आपने पेशियों के संकुचन के बारे में पढ़ा था। शरीर में, कंकाल पेशियां कायिक प्रेरक तंत्रिकाओं के तंत्रिकीय आवेगों द्वारा संकुचन के लिए उद्दीपित होती हैं। वे तंत्रिका कोशिकाऐं जो कंकाल पेशियों को उद्दीप्त करती है, **कायिक प्रेरक तंत्रिकोशिकाएं** (somatic motor neurons) कहलाती हैं। जैसा कि आप जानते हैं, ये कोशिकाएं मस्तिष्क अथवा मेरु रज्जु में स्थित होती हैं परंतु उनके तंत्रिकाक्ष मस्तिष्क में से कपाल तंत्रकाओं और मेरू रज्जु से मेरू तत्रिकाओं के रूप में नकलते हैं। ये तंत्रिकाएं परिधीय प्रेरक तंत्रिकाएं (peripheral motor nerves) कहलाती है।

कंकाल पेशियों तक पहुंचने के बाद, तंत्रिका तंतु शाखित हो जाते हैं तथा पेशीय तंतुओं का तंत्रिकान्यास करते हैं। तंत्रिका तंतु तथा कंकाल पेशी के बीच का जोड़, तंत्रिका पेशीय संधि (neuro muscular junction) कहलाता है।

वे तंत्रिकीय आवेग जो तंत्रिका पेशीय संधि पर पहुंचते हैं, तंत्रिका के छोर से तंत्रीसंचारी जैसे कि एसिटिलकोलिन (acetylcholine) को निर्मुक्त करते हैं। एसिटिलकोलीन, पेशीय तंतु झिल्ली में ग्राहियों से जुड़ जाता है और झिल्ली को आवेग उत्पन्न करने और संचालित करने के लिए प्रेरित करता है। आवेग Ca^{++} की निर्मुक्ति को उद्दीप्त करता है और पेशीय तंतु का संकुचन करता है।

कंकाल पेशियों को संकुचित करने के लिए तंत्रिका अथवा सीधे पेशी पर ही विद्युत धारा (electric current) का प्रयोग करके उद्दीपित किया जा सकता है। जब पर्याप्त बल का एक उद्दीपन दिया जाता है तब उससे उत्पन्न हुआ संकुचन, 'स्फुर, (twitch) कहलाता है। इसको काइमोग्राफ नामक एक उपकरण, पर अभिलेखित किया जा सकता है। कंकाल पेशी स्फुर का अभिलेखन, उद्दीपन देने के समय तथा संकुचन अनुक्रिया के आरंभ होने के बीच के काल को सूचित करता है। यह अन्तराल **अव्यक्त काल** (latent period) है। अव्यक्त काल विद्युत की धारा के ऊतक और पेशी में होकर फैलने तथा पेशी तंतु में Ca^{++} के निर्मुक्त होने में लिए गए समय को दर्शाता है। अव्यक्त काल के बाद **संकुचन प्रावस्था** (contractile phase), जिसमें पेशी छोटी होती है तथा **विश्रांति प्रावस्था** (relaxation phase) जिसमें पेशी अपनी वास्तविक लंबाई में वापिस आ जाती है, होती है।

इस प्रयोग में आप गैस्ट्रॉक्निमियस (gastrocnemius) पेशी-नितंब (sciatic) तंत्रिका को निकालेंगे तथा उसे विद्युत द्वारा उद्दीपित करके पेशी स्फुर को अभिलेखित करेंगें।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- मेंढक में से ग्रेस्ट्रॉक्निमियस पेशी-नितंब तंत्रिका को निकाल सकेंगे।
- कंकाल पेशी स्फुर को अभिलेखित करने तथा अव्यक्त काल, संकुचन और विश्रांति प्रावस्थाओं के समय को निर्धारित कर सकेंगे।

22.2 आवश्यक सामग्री

जीवित मेंढ़क

विच्छेदन ट्रे

विच्छेदन किट

धागा

हड्डी काटने का उपकरण

मेंढक रिंगर घोल

50 मि.ली. का बीकर

रुई

20% यूरिथेन (urethane), इंजेक्शन सिरिन्ज तथा सुई

काइमोग्राफ अभिलेखन तंत्र

1.5 वोल्ट का शुष्क सेल (dry cell), उद्दीपक (stimulator) जिसमें इलैक्ट्रोड्स (electrodes) उसके साथ ही जुड़े हुए हों।

पेशी उत्तोलक (lever)

दोहरा हुक

फीमर

5 ग्राम का भार

अभिलेखन स्टाइलस (stylus)

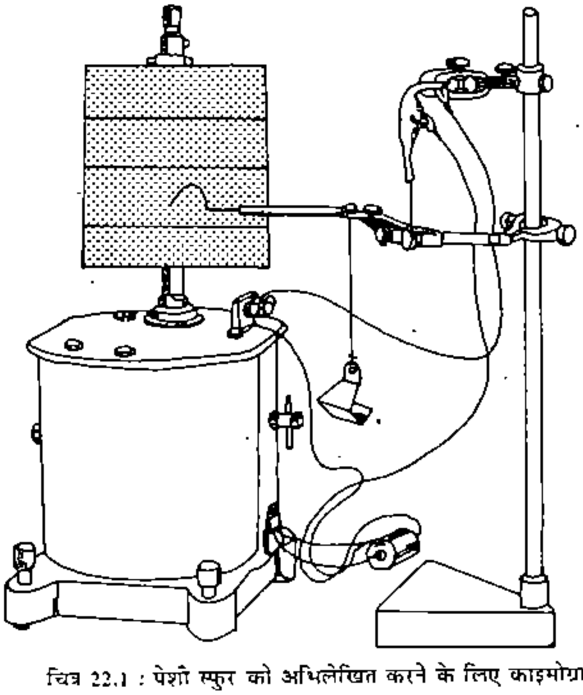
22.3 प्रयोग विधि

यह प्रयोग दो भागों में किया जायेगा। पहले भाग में आप पेशी स्फुर को अभिलेखित करने के लिए काइमोग्राफ उपकरण को समायोजित करेंगे।

दूसरे भाग में आप सावधानीपूर्वक विच्छेदन करेंगे और मेंढक की गेस्ट्रोक्निमियस पेशी तथा नितंब तंत्रिका को निकालेंगे।

काइमोग्राफ उपकरण को व्यवस्थित करना

आपके परामर्शदाता अभिलेखन यंत्र को तैयार कर दें। यह यंत्र एक घूमने वाले ड्रम का बना होता है जो एक समायोज्य (adjustable) गति वाले उपयुक्त प्रेरक/मोटर पर आरोपित होता है। (चित्र 22.1) ड्रम के ऊपर एक कालिख पुता हुआ अभिलेखन कागज चिपका दिया जाता है। तंत्रिका पेशी को अवलंबित करने के लिए स्टैण्ड में फीमर क्लैम्प लगा दिया जाता है। इस परीक्षण में प्रयुक्त होने वाला विद्युत उद्दीपक, दो वैद्युत तारों को एक 1.5 शुष्क सैल के दोनों तरफ, एक-एक तार को झालकर (soldering) बनाया जाता है। दोनों वैद्युत तार सामान्य इलैक्ट्रोड्स (electrodes)से जुड़े रहते हैं।



चित्र 22.1 : पेशी स्फुर को अभिलेखित करने के लिए काइमोग्राफ सेट-अप

तंत्रिका-पेशी को निकालना

(चार विद्यार्थियों के समूहों में कार्य करें)

1. विच्छेदन आरंभ करने से पहले मेंढक को 20% यूरिथेन की 2.5 मि.ली. मात्रा का अंत:पेशीय (intramuscular) इंजेक्शन देकर बेहोश कर लें। यह मेंढक को शान्त कर देगा। वैकल्पिक रूप से आप मेंढक को पिथिंग (pithing) के द्वारा भी अविचल कर सकते हैं।

2. पिथिंग के लिए आप मेंढक को अपने बायें हाथ में उसका सिर आगे की ओर झुकाये हुए, पकड़िये। विच्छेदन सुई की नोंक को सीधे मेंढक के सिर पर मध्यरेखा के ऊपर चलाइये जब

तक कि कपाल के पश्च भाग में गड्ढे का अनुभव न हो।

3. विच्छेदन सुई की नोंक को इस स्थान पर घुसाइये और मेरु रज्जु को मस्तिष्क से काट दीजिये। सुई को आगे की ओर डालिये तथा सुई की नोंक को चारों तरफ इधर से उधर घुमाते हुए मस्तिष्क को नष्ट कर दीजिए। जंतु अब अचल हो जाएगा तथा विच्छेदन के लिए प्रयोग किया जा सकेगा।

4. मेंढक को विच्छेदन ट्रे पर पिन लगा कर रखिए। जंतु की देह-गुहा को खोलिए तथा सावधानीपूर्वक अंतरांगों (visceral organs) को हटा दीजिए। गुर्दों को हटाते वक्त इसका ख्याल रखें कि तंत्रिकाएं क्षतिग्रस्त न हो जायें। अब आप मेरुदण्ड तथा उसके दोनों तरफ, उससे जुड़ी हुई मेरु तंत्रिकाओं (spinal nerves) को देख सकते हैं। मेंढक रिंगर घोल के द्वारा विच्छेदन को सदैव नम रखें।

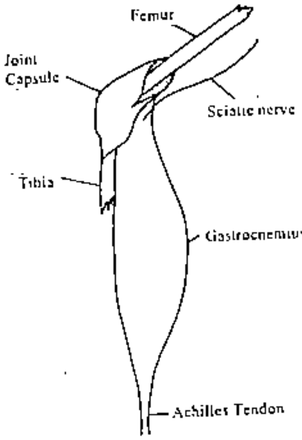
5. दोनों फीमर को अलग करने के लिए, अस्थि काटने वाली कैंची (बोन कटर) का प्रयोग करते हुए श्रोणि मेखला (pelvic girdle) को एक ओर से काटिए।

6. पीछे के एक पैर की त्वचा को, जाँघ के पास, जहाँ पर यह देह से जुड़ा रहता है, चीरा लगा कर अलग कर दीजिए। त्वचा को नीचे पंजे तक, चिमटी की सहायता से उतार दीजिए अथवा उसको हाथ से पकड़ कर इस प्रकार खींचिए जैसे दस्ताने (gloves) को उतार देते हैं । जाँघ की पेशियों तथा संयोजक ऊतकों को हटा दीजिए, तथा नितंब तंत्रिका को मेरु रज्जु से लेकर घुटने के जोड़ तक ट्रेस कीजिए। घुटने की जोड़ की संरचनाओं को मत काटिए और गैस्ट्रॉक्निमियस पेशी के उत्पत्ति स्थल नष्ट मत कीजिए।

7. एकीलिस कंडरा (Achilles tendon) तथा गैस्ट्रॉक्निमियस पेशी को आसपास से घेरे हुए ऊतकों से मुक्त कीजिए। एकीलिस कंडरा के चारों ओर एक मजबूत धागा बाँधिए तथा कंडरा के दूसरे छोर को पैर के पास से काटिए। बोन कटर के द्वारा फीमोरल अस्थि को घुटने के पास से काटिए। मेरुदण्ड को भी नितंब तंत्रिका के ऊपर और नीचे से काटिए। सावधानीपूर्वक मेरुदण्ड के उस भाग को अलग कीजिए, जिससे तंत्रिका जुड़ी रहती है।

8. धागे को पकड़े हुए पेशी को ऊपर की ओर टिबिया (tibia) के पास से अलग कर दीजिए। टिबिया की अस्थि को घुटने के जोड़ के पास से काट दीजिए।

अब आपके पास, नितंब तंत्रिका से जुड़ा हुआ मेरु दण्ड का टुकड़ा, घुटने की जोड़ तथा उससे जुड़े हुए टिबिया और फीमर के टुकड़े तथा कंडिका के चारों ओर लिपटे धागे सहित गैस्ट्रॉक्निमियस पेशी होनी चाहिए। (चित्र 22.2) विच्छेदन के दौरान पूरे समय आपको सावधानी रखनी चाहिए कि तंत्रिका को कोई हानि न पहुँचे तथा मेंढक के रिंगर घोल में डूबी हुई रुई से तंत्रिका पेशी को नम रखा जाये।



चित्र 22.2 : गैस्ट्रॉक्निमियस पेशी - नितंब तंत्रिका

पेशी स्फुर को अभिलेखित करना

1. फीमर को फीमर क्लैम्प में लगाइये तथा यह सुनिश्चित कर लीजिए कि पेशी सीधे उर्ध्वाधर रूप में उसी स्थान के ऊपर निलंबित (suspended) रहे जहाँ कि यह पेशी उत्तोलक से जुड़ेगी।

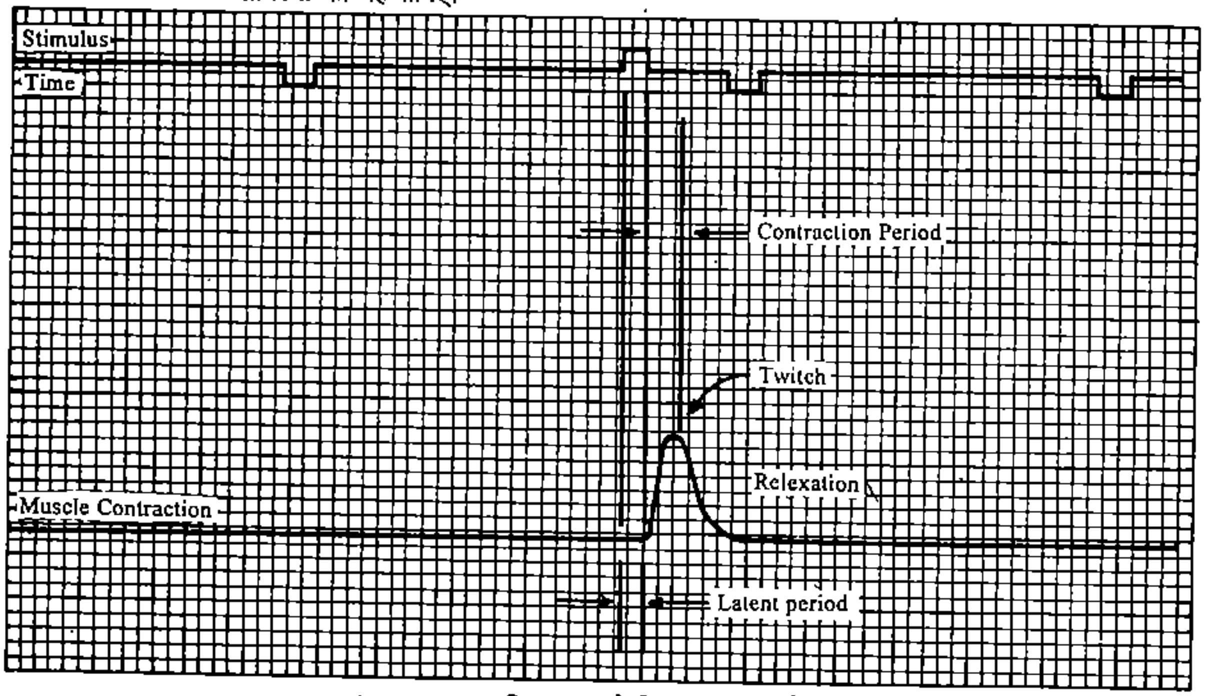
2. धागे को उत्तोलक से दोहरे हुक की सहायता से लटकाइये तथा हुक के दूसरे सिरे पर 5 ग्राम भार रखिए। यह व्यवस्था उत्तोलक को क्षैतिज स्थिति में तथा पेशी और धागे को उर्ध्वाधर स्थिति में रखेगी।

3. पेशी को इस प्रकार से क्लैम्प करिए कि आलम्बक (fulcrum) तथा कंडरा के जुड़ाव के बीच की दूरी, पेशी के प्रत्येक संकुचन पर उत्तोलक को लगभग 2 इंच ऊपर उठा दे। मेंढक के रिंगर घोल में डूबी हुई रुई से तंत्रिका-पेशी को नम रखिए।

4. लेखन स्टाइलस को क्षैतिज उत्तोलक से इस प्रकार जोड़िये कि वह ड्रम को, उसकी गति को प्रभावित किए बिना सिर्फ छूता रहे। मोटर को 32 से. मी. प्रति सैकण्ड की गति पर व्यवस्थित करिए। अब आपका काइमोग्राफ उपकरण पेशी स्फुर को अभिलेखित करने के लिए तैयार है।

5. इलैक्ट्रोड्स को घुटने के जोड़ के पास रखिए। इलैक्ट्रोड्स को घुटने अथवा पेशी को नहीं छूना चाहिए। नितंब तंत्रिका को धीरे से उठाइये और उसको इलैक्ट्रोड्स के ऊपर रखिए। बैटरी स्रोत के द्वारा एक उद्दीपन दीजिए तथा पेशी के एक संकुचन को अभिलेखित (रिकार्ड) कीजिए।

6. एक पूरा घूर्णन (rotation) एक ही गति पर हो, इसके लिए ड्रम पर समय चक्र को चित्रित कीजिए। इस कार्य के लिए, ड्रम को घुमाइये और ड्रम के आधार पर अथवा शीर्ष पर एक रेखा खींचिए। स्टॉप वाच (stop watch) का प्रयोग करते हुए, प्रति 10 सैकण्ड के अंतराल पर रेखा के ऊपर एक बिंदू का चिन्ह लगाइये। यह कार्य विद्युत द्वारा, लेखन बिंदु वाले एक स्वरित्र द्विभुज (tuning fork) का प्रयोग करके भी किया जा सकता है। अपने अभिलेखनों (रिकार्डिंग) की तुलना चित्र 22.3 से किजिए। अभिलेखन में अव्यक्त काल, संकुचन प्रावस्था तथा विश्रांति प्रावस्था को पहचानिए।



चित्र 22.3 : पेशी स्फुर का अभिलेखन

बोध प्रश्न 1 पेशी स्फुरन का क्या मतलब है?

....

....

....

बोध प्रश्न 2 ड्रम पर चित्रित समय मापक्रम (time scale) से क्या आप विभिन्न घटनाओं जैसे अव्यक्त काल, संकुचन प्रावस्था तथा विश्रांति प्रावस्था के समय का पता कर सकते हैं?

....

....

....

बोध प्रश्न 3 तंत्रिका पेशी को मेंढक रिंगर घोल द्वारा नम रखने का क्या औचित्य है?

....

....

....

बोध प्रश्न 4 क्या होगा यदि रिंगर घोल के बदले आसुत जल का प्रयोग किया जाये?

....

....

....

प्रभावसीमा (threshold) उद्दीपन क्या है? क्या आप समझते हैं कि 1.5 वोल्ट से कम के उद्दीपन पर पेशी अनुक्रिया करेगी? किसी अंग में अनुक्रिया को उत्साहित करने के लिए दिया जाने वाला कम से कम उद्दीपन प्रभावसीमा उद्दीपन कहलाता है। आपको एक उच्चायी ट्रांसफोर्मर (step-up transformer) की आवश्यकता होगी, जोकि 0–5 वोल्ट तक की विद्युत धारा दे सके।

इलैक्ट्रोड्स को तंत्रिका पेशी पर रखिए तथा भिन्न-भिन्न बलों जैसे 0.5 वोल्ट, 1 वोल्ट , 1.5 वोल्ट, 2 वोल्ट आदि-आदि की धारा प्रवाहित कीजिए। काइमोग्राफ ड्रम पर, प्रत्येक उद्दीपन देने के पश्चात् संकुचन को अभिलेखित कीजिए। उस वोल्टेज को ज्ञात कीजिए जिस पर पेशी अनुक्रिया करती है। यह वोल्टेज प्रभावसीमा उद्दीपन को प्रदर्शित करेगा। निष्कर्ष को अपनी अभिलेखन पुस्तिका मे नोट कीजिए।

बोध प्रश्न 5 यदि उद्दीपन के बल को प्रभावसीमा उद्दीपन से अधिक बढ़ाया जाये तो क्या पेशी संकुचन के बल में महत्वपूर्ण वृद्धि उत्पन्न होती है? अपने उत्तर के लिये कारण बताइये।

....

....

....

गतिविधि 1: चिमटी के द्वारा पेशी को ठीक घुटने के ऊपर दबाइये। क्या पेशी में अनुक्रिया होती है? यदि हाँ, तो क्यों?

....

....

....

गतिविधि 2: पेशी को 2% एसीटिक अम्ल में डूबी हुई कॉच की छड़ से छुएं। पेशी की क्या अनुक्रिया होती है?

....

....

....

गतिविधि 3: दोनों इलैक्ट्रोड्स को पेशी के ऊपर ही रखकर उद्दीपित करिए। क्या अब संकुचन की ... गति उस संकुचन की गति से भिन्न है जो तंत्रिका को उद्दीपित करके प्राप्त हुआ था?

....

....

....

23 चूहे/मूषक में प्रजनन और अंत:स्त्रावी अंगों का अध्ययन

23.1 प्रस्तावना

इस परीक्षण का उद्देश्य आपको चूहे के नर और मादा अंगो को विच्छेदन प्रक्रिया के द्वारा ढूंढने और पहचानने में समर्थ बनाना है। आप जंतुओं में प्रमुख अंत:स्त्रावी ग्रंथियों (endocrine glands) का पता लगा सकेंगे, और विभिन्न प्रकार के अंत:स्त्रावी ऊतकों को तैयार स्लाइडों के माध्यम से पहचानना भी सीख जायेंगे।

उद्देश्य :

इस परीक्षण को करने के बाद आप समर्थ होंगे :

- नर और मादा चूहे के प्रजनन अंगों की संरचना को पहचान सकने में,
- अण्डजनन (oogenesis) और शुक्राणुजनन (spermatogenesis) की विभिन्न अवस्थाओं को तैयार स्लाइडों में वृषण (testis) और अण्डाशय (ovary) के सेक्शनों (sections) का निरीक्षण करके पहचानने में,
- शरीर में प्रत्येक अंत:स्त्रावी ग्रंथि के स्थान को पहचान सकने में
- सूक्ष्मदर्शी के द्वारा पियूष (pituitary), थाइरॉइड (thyroid), पैराथॉइराइड (parathyroid), अग्न्याशय (pancreas) और अधिवृक्क (Adrenal) ग्रंथियों के सेक्शन को पहचानने में।

23.2 आवश्यक सामग्री

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी

संयुक्त सूक्ष्मदर्शी

विच्छेदन के लिए उपकरण

अण्डाशय, वृषण, पीयूष, थाइरॉइड, पैराथॉइराइड, अग्न्याशय और अधिवृक्क ग्रंथियों की तैयार स्लाइडें

23.3 प्रजनन अंगों का विच्छेदन

सामान्य अंतरंग अंगों (viscera) के लिए ताजा क्लोरोफार्म सुँघायें गये चूहे (नर अथवा मादा) का विच्छेदन कीजिए। आहार नाल (alimentary canal), यकृत (liver), हृदय (heart), और फेंफड़ों (lungs) को निकाल दीजिए।

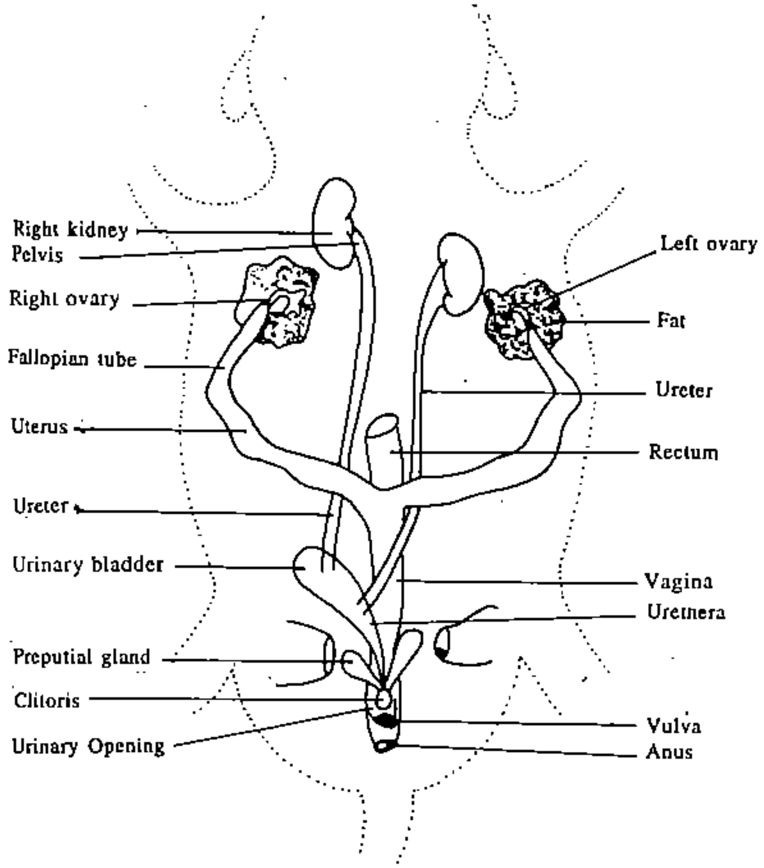
क. मादा प्रजनन अंग

श्रोणि भाग (pelvic region) में मादा प्रजनन अंगों को देखिए (चित्र 23.1)। टोर्सो (torso) पर आप एक छोटे लालामी लिए भूरे रंग के अनियमित आकार के अण्डाशय को प्रत्येक गुर्दे के नीचे ठीक मध्य में ढूंढ निकालने में सफल होंगे। आप देख सकते हैं कि प्रत्येक अण्डाशय एक छोटी कुण्डलित अण्डवाहिनी (फैलोपियन डिम्बवाहिनी नलिका) से जुड़ा होता है जोकि अण्ड अथवा अण्डों को गर्भाशय (uterus) तक ले जाती है। देखिए, कि योनि (vagina) मूत्रमार्ग (urethra) के पीछे स्थित है और बाहर की ओर बढ़कर, योनि द्वार (orifice) पर, गुदा (anus) के आगे की ओर खुलती है। अण्डाशयों, योनि और मूत्राशय को पहचानिए।

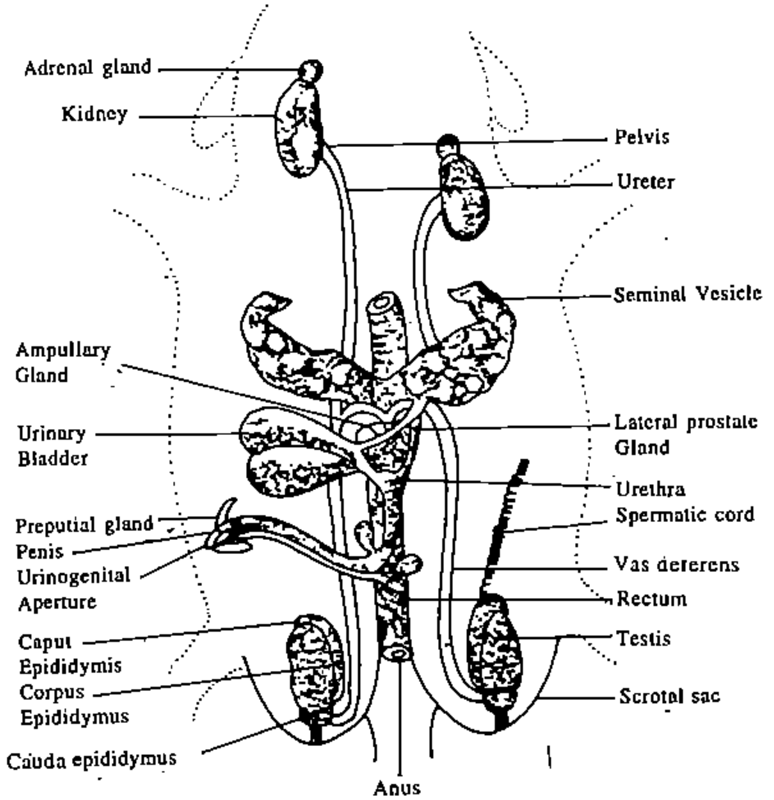
ख. नर प्रजनन अंग

नर चूहों में ठीक श्रोणी भाग के नीचे, वृषण कोष (scrotum) को देखिए, जोकि त्वचा से ढका हुआ एक कोष है। इसमें वृषण का एक जोड़ा होता है (चित्र 23.2)। प्रत्येक वृषण की अग्र पार्श्व सतह पर एक लम्बी कुण्डलित वाहिनी, अधिवृषण (epididymis) को भी देखिए। अधिवृषण से निकलती हुई एक आरोही नलिका (ascending tube), शुक्राणु नलिका होती है, जिसमें शुक्र वाहिका (vas deferens), रक्त वाहिनियाँ और नाड़ी होती है। शुक्राणु नलिका को अनुपथ (trace) कीजिए और देखिए कि यह देह गुहा (body-cavity) में एक द्वार, वंक्षण नाल (inguinal canal) के द्वारा प्रवेश करती है। जब शुक्राणु नलिका मूत्राशय के स्तर तक पहुँचेगी तब आप देखेंगे कि शुक्र वाहिका, शुक्राणु नलिका को छोड़ देती है और मूत्रवाहिनी (ureter) पर मध्य में तथा नीचे की ओर तेजी से मुड़कर

नीचे तक जाती है जब तक कि वह प्रोस्टेट ग्रंथि के स्तर तक पहुंच कर मूत्र मार्ग में नहीं घुस जाती। मूत्रमार्ग को नीचे की ओर अनुपथ (trace) कीजिए, जब तक कि वह शिश्न (penis), एक बाहरी संरचना में प्रवेश कर जाये। शिश्न के भीतर की ओर खुलने वाला द्वार जहाँ मूत्र और शुक्र (semen) निर्मुक्त (released) होते हैं, जननमूत्र द्वार है। वृषणकोष, वृषण, अधिवृषण, शुक्राणु नलिका, शुक्र वाहिका, मूत्रमार्ग, प्रोस्टेट ग्रंथि और शिश्न को पहचानिए।



चित्र 23.1 : मादा चूहे का मूत्रप्रजनन (urinogenital) तंत्र।

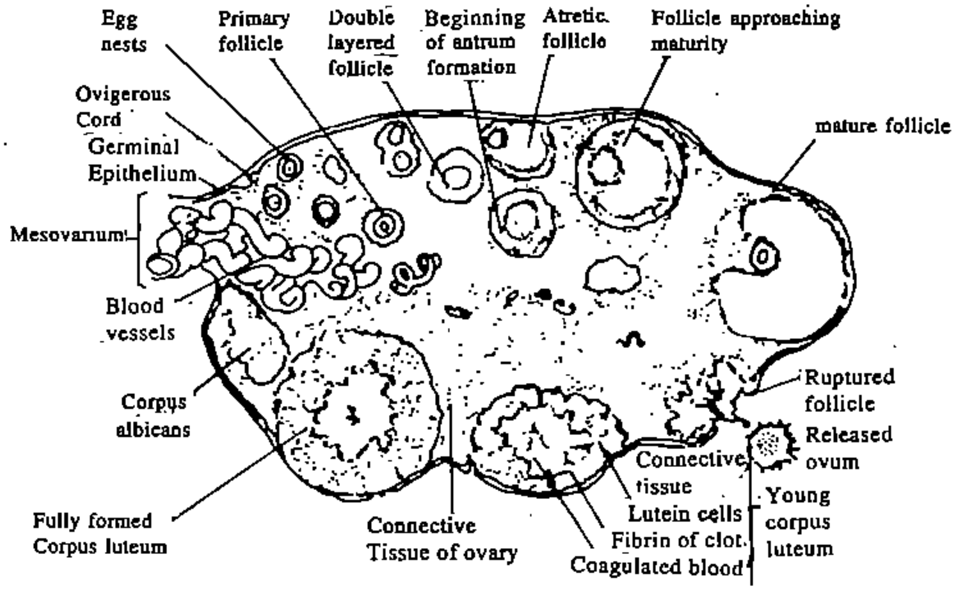


चित्र 23.2 : नर चूहे का मूत्रप्रजनन तंत्र।

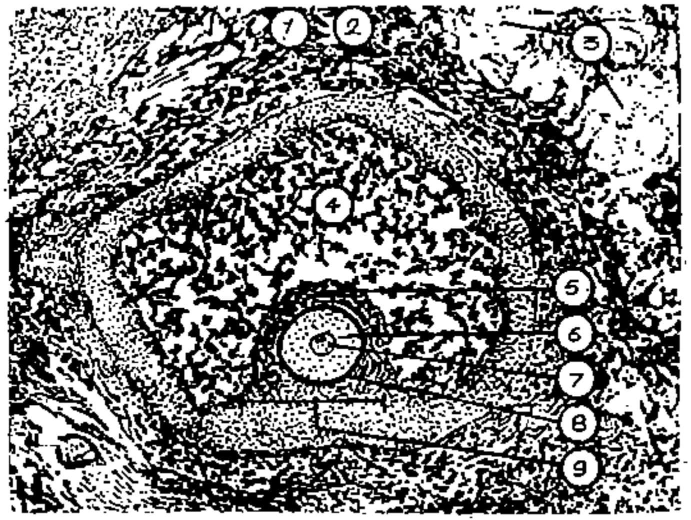
23.4 तैयार स्लाइडों का अध्ययन

ग. स्तनधारीय अण्डाशय की अनुप्रस्थ काट (cross section)

आप अण्डाशय की काट की स्लाइड में ग्राफियन फोलिकिल्स (Graafian follicles) को देखेंगे (चित्र 23.3 और 23.4)। काट की परिधि को घेरे हुए घनाकार (cuboidal) बाह्यत्वचा (epithelium) को देखिए। घनाकार बाह्य त्वचा से मध्यवर्ती भाग की ओर आप प्राथमिक फोलिकिल्स को देख सकते हैं। योवनारंभ (puberty) के बाद, हारमोन्स के प्रभाव के तहत, कुछ फोलिकिल्स अण्डोत्सर्ग (ovulation) के पहले ही विकसित होने लगते हैं और प्राथमिक अण्डक (oocyte), द्वितिय अण्डक और बाद में ग्राफियन फोलिकिल्स बन जाते हैं। आप देखेंगे कि ग्राफियन फोलिकिल्स (चित्र 23.4) जो कि सिर्फ स्तनधारियों में ही पाये जाते हैं, खोखले कोष (hollow sacs)होते हैं, जिनमें अण्डाणु (ovum) होता है, जो पुटक द्रव (follicular fluid/liquor folliculi) से घिरा हुआ रहता है। वह गुहा (cavity) जिसमें पुटक द्रव भरा रहता है गह्वर (antrum) कहलाती है। अण्डाणु के ठीक नीचे की ओर, ग्राफियन फोलिकिल्स के अन्दर कोशिकाओं का एक झुण्ड टीला (mound) होता है, जिसे अण्डधर पुंज (cumulus oophorus) कहते हैं। अपने द्वारा देखी गई संरचनाओं का रेखाचित्र बनाइये और उन्हें चिन्हित कीजिए।



चित्र 23.3 : अण्डाशय की सामान्यीकृत (generalised) संरचना।

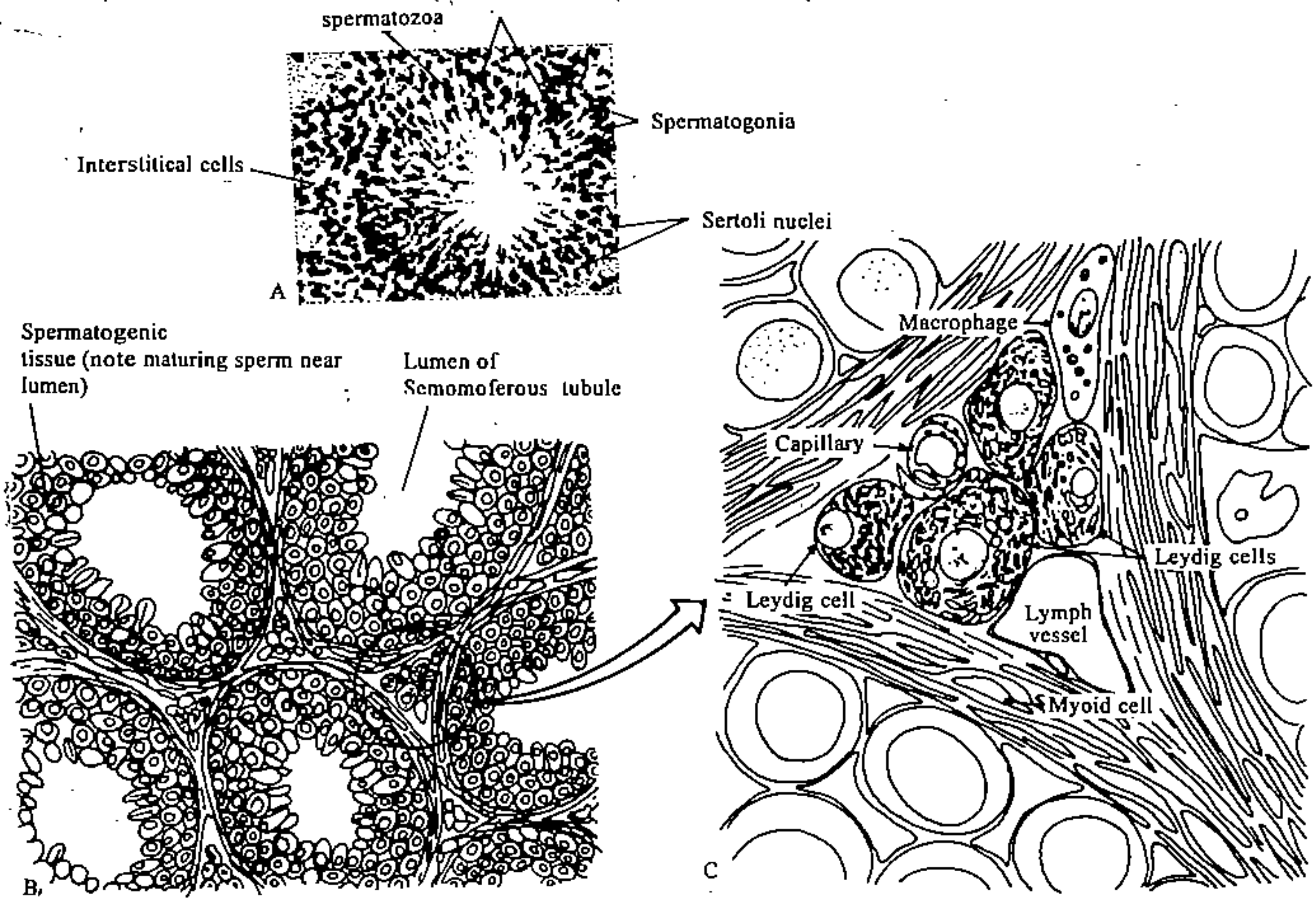


चित्र 23.4 : ग्राफियन फोलिकिल्स।

घ. वृषण की अनुप्रस्थ काट

वृषण की काट वाली स्लाइड को देखिए। वृषण के अन्दर आप अनगिनत शुक्र जनक नलिकायें (seminiferous tubules) पायेंगे (चित्र 23.5)। अनुप्रस्थ काट को, तीव्र पावर में, शुक्र जनक

नलिकाओं की परिधि के पास फोकस कीजिए। परिधि से शुरु करते हुए केन्द्र तक आने में आप शुक्राणु के विकास की विभिन्न अवस्थाओं को देख पाने में सफल होंगे। परिधि की ओर आप अपेक्षाकृत छोटी परन्तु **अनगिनत शुक्राणुजनीय कोशिकाओं** (spermatogonial cells) को देखेंगे। इसके बाद बड़ी **प्राथमिक शुक्राणु कोशिकायें** (spermatocytes) होंगी। इसके बाद आप **द्वितीय शुक्राणु कोशिकाओं** (secondary spermatocytes) को देखेंगे, जो कि अर्धसूत्रीय विभाजन (meiotic division) के बाद बनती हैं। इसके बाद गहरे अभिरंजित शुक्राणुपूर्व (spermatids) होते हैं। शुक्र जनक नलिकाओं के बीच में लीडिंग की अन्तराली कोशिकायें (interstitial cells) होती हैं, जोकि नर हार्मोन टेस्टोस्टेरोन को उत्पन्न और स्रावित करती हैं। वृषण की अनुप्रस्थ काट में अपने द्वारा देखी गई विभिन्न संरचनाओं के चित्र बनाइये और उन्हें सफाई से चिन्हित कीजिए।



चित्र 23.5 : (A) शुक्रजनक कोशिकाओं को पूरी तरह से शुक्रजनीय गतिविधि में दिखाते हुए वृषण की अनुप्रस्थ काट का सूक्ष्मदर्शीय चित्र, (B) शुक्र जनक कोशिकाओं और अन्तराली कोशिकाओं को दिखाते हुए वृषण की काट का चित्र, (C) वृहत्तर आवर्धन (magnification) में लीडिंग कोशिकाओं को दिखाते हुए काट।

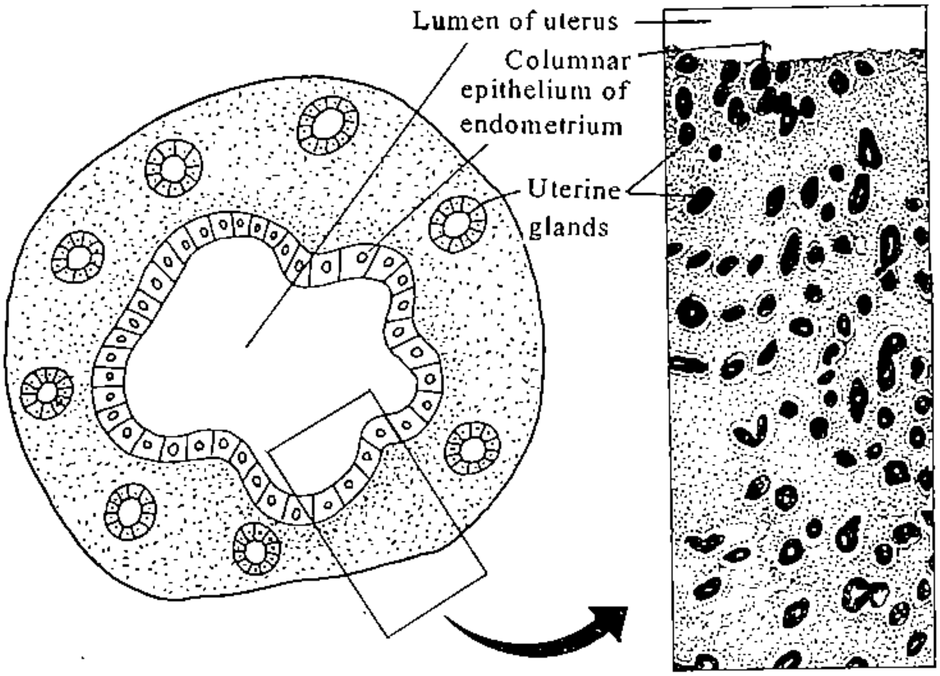
च. गर्भाशय का अनुप्रस्थ काट

गर्भाशय के अनुप्रस्थ काट में आप चिकनी माँसपेशीय भाग तथा गर्भाश्य की अंत:स्तरीय परत को देखेंगे। अंत:स्तर दो परतों का बना होता है: नीचे की ओर आधार स्तर (stratum basale) होता है जिसमें कि रक्त वाहिनियाँ होती हैं, तथा सतह की ओर स्ट्रेटम फंक्शनेल (stratum functionale) होता है, जो कि स्रावी ग्रंथियों (secretary glands) और स्थंभाकार (columnar) बाह्य त्वचा का बना होता है। स्ट्रेटम फंक्शनेल मद चक्र (estrus) काल के दौरान (योनि आलेप पर परीक्षण को याद कीजिए) निर्मोचित (sloughed off) हो जाता है (चित्र 23.6)। विभिन्न संरचनाओं के चित्र बनाकर चिन्हित कीजिए।

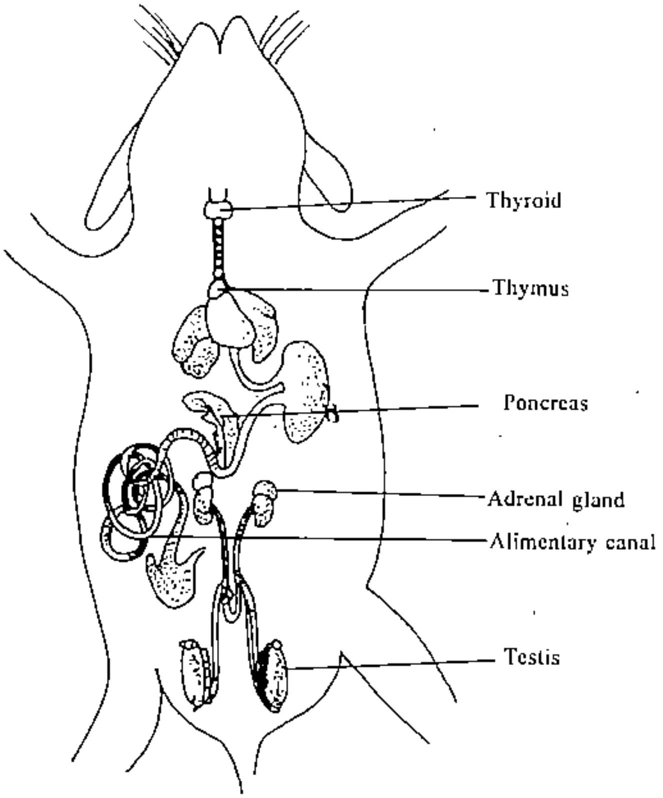
23.5 अंत:स्रावी ग्रंथियों की अवस्थिति

अंत:स्रावी ग्रंथियाँ, वाहिनी रहित ग्रंथियाँ हैं जो रासायनिक पदार्थों जिन्हें हार्मोन्स कहते हैं, को स्रावित करती है। प्रत्येक अंत:स्रावी ग्रंथि से हार्मोन की धारा में वाहित (transported) होकर शरीर के दूसरे भागों में पहुँचते हैं, जहाँ पर वे लक्ष्य ऊतकों या अंगों पर क्रिया करके, क्रमबद्ध अनुक्रियाओं (systematic responses) या अनुकूलनों को उद्दीपित करते हैं। अंत:स्रावी ग्रंथियां तंत्रिका तंत्र (nervous system) के साथ मिलकर शरीर में अंगों और अंग तंत्रों के कार्यों को सम्पादित करती हैं (चित्र

23.7)। विभिन्न अंत:स्रावी ग्रंथियों की स्थिति ज्ञात करने के लिए, चूहे का विच्छेदन करने से पहले विभिन्न अंत:स्रावी ग्रंथियों और उनके कार्यों को ध्यान में लाने के लिए आप LSE-05 पाठ्यक्रम के खण्ड II की इकाई 10 को पढ़ सकते हैं।



चित्र 23.6 : चूहे के गर्भाशय का अनुप्रस्थ काट।



चित्र 23.7 : चूहे का अंत:स्रावी तंत्र।

अंत:स्रावी ग्रंथियों का विच्छेदन

1. देह गुहा को खोलने के लिए ताज़े बेहोश किये गए चूहे को विच्छेदित कीजिए।
2. श्वासनली (trachea) को खोलिये और श्वास नली के आरंभ में ग्रसनी (pharynx) के अधर

भाग की तरफ, थाइरॉइड ग्रंथि को देखिए (चित्र 23.8)। यह लालामी युक्त भूरे रंग की होती है।

3. थाइमस ग्रंथि के लिए, ठीक हृदय के ऊपर, आलिंदो (auricles) के पास देखिए। यह दो पालियुक्त (bilobed) और सफेद रंग का होता है।

4. ग्रहणी (duodenum) को खोलिए और ग्रहणी की भुजाओं के बीच में, गुलावी-ग्रे रंग के, बहुत अधिक शाखित अग्न्याशय (pancreas) को देखिए। लूप को मत खोलिए।

5. आहार नाल (alimentary canal) को शेष अंगों से अलग करने के लिये आंत्र योजनियों (mesentaries) को हटा दीजिए, जिससे अन्य अंत:स्रावी ग्रंथियों को देखा जा सके। आहार नाल को एक तरफ खींचकर पिन लगा दीजिए और गुर्दों (kidney) को अनावरित कीजिए।

6. प्रत्येक गुर्दे के शीर्ष पर हल्के पीले रंग की, टोपीनुमा अधिवृक्क ग्रंथि (adrenal) को देखिए।

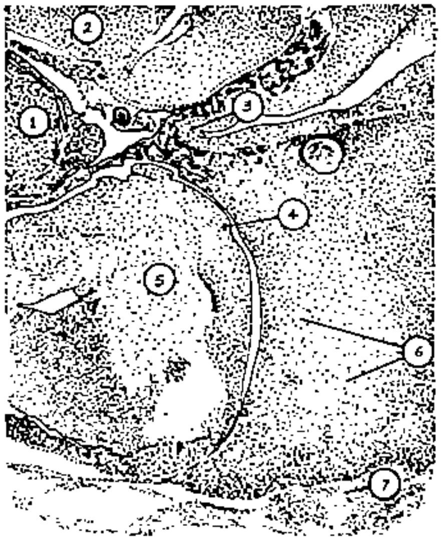
7. प्रजनन अंगों के वर्णन में बताये गये अनुसार अण्डाशयों और वृषण को अनुपथ कीजिए, क्योंकि इन अंगों की कुछ कोशिकाएं, हार्मोन्स स्रावित करती हैं।

अपने द्वारा किए गए विच्छेदन का भली प्रकार से चिन्हित चित्र बनाइये।

इस अभ्यास के अगले भाग में आप विभिन्न अंत:स्रावी ग्रंथियों के सेक्शन्स (sections) की तैयार स्लाइडों का निरीक्षण करेंगे।

क. पीयूष ग्रंथि (पीयूषिका)

पीयूष ग्रंथि (Hypophysis) के सेक्शन का निरीक्षण कीजिए। सेक्शन का चित्र बनाइये और निम्न को चिन्हित कीजिए: कीपाकार वृंत (infundibular stalk), दूरस्थांश (pars distalis), रंजक रागी कोशिकाएं (chromophil cells), तंत्रिकांश (pars nervosa), मध्यांश (pars intermedia) (चित्र 23.8)। इस सेक्शन को इसकी संपूर्णता में देखने के लिए पहले इसे विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी द्वारा देखिए।



चित्र 23.8 : पीयूष ग्रंथि का अनुप्रस्थ काट

ख. थाइरॉइड ग्रंथि

इस सेक्शन में आप कुछ थाइरॉइड (Thyroid Gland) फोलिकिल्स को देखेंगे, प्रत्येक धनाकार बाह्य कोशिका द्वारा रेखित होगी और उसमें कोलॉइडल पदार्थ होगा जोकि गुलाबी रंग में अभिरंजित (stains) होता है। यह पदार्थ थाइरोग्लोबुलिन (thyroglobulin) है, जो थाइरॉक्सीन (thyroxine) और ट्रायोडोथाइरोनीन (triodothyronine) की पूर्वगामी (Precursor) और संचयन प्रकार है। (चित्र 23.9) कोलॉइड और धनाकार बाह्यत्वचा का चित्र बनाइये और उसे चिन्हित कीजिए।

ग. अग्न्याशय

गुच्छकोष्ठक ऊतको (acinar tissues) में बिखरे हुए लैंगरहैन्स के द्वीपों (islets of langerhans) को देखिए (चित्र 23.10), जोकि पाचक एन्जाइम्स (enzymes) को स्रावित करते हैं। ये द्वीप तीन हार्मोन्स उत्पन्न करते हैं: ग्लूकैगॉन, एल्फा कोशिकाओं से, इंसुलिन बीटा कोशिकाओं से तथा सोमेटोस्टेटिन डेल्टा कोशिकाओं से। अग्न्याशय के सेक्शन का चित्र बनाइये और गुच्छकोष्ठक तथा द्वीपों के भाग को चिन्हित कीजिए।

घ. अधिवृक्क ग्रंथियां

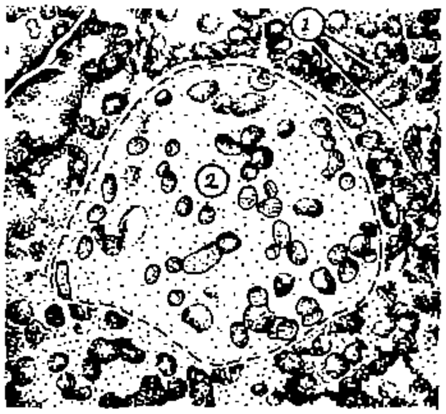
प्रत्येक अधिवृक्क ग्रंथि (adernal glands) बाहर की ओर, मज्जा (medulla) को घेरे हुए, वल्कुट (cortex) होता है। वल्कुट तीन खंडों का बना होता है: बाहरी ज़ोना ग्लोमेरुलोसा (zona glomerulosa) जो एल्डोस्टीरोन (aldosterone) स्रावित करता है: मध्य ज़ोना फेसीकुलेटा (zona

fasciculata); तथा भीतरी ज़ोना रेटिकुलेरिस (zona reticularis)। अधिवृक्क वल्कुट/कोर्टेक्स कोर्टिकोस्टीरोइड हार्मोन्स, ग्लुकोकोर्टिकोइड्स (glucocorticoids) तथा मिनरलोकोर्टिकोइड्स (mineralocorticoids) को स्रावित करता है तथा मज्जा एपीनेफ्रीन तथा नारएपीनेफ्रीन (norepinephrine) को स्रावित करता है।

f Thyroid follicle
p Parathyroid tissue

चित्र 23.9 : मूषक में थाइरॉइड और पैराथाइरॉइड ग्रंथियों का सेक्शन।

1. Pancreatic acini
2. Islet of Langerhans



चित्र 23.10 : लैंगरहन्स के द्वीपों को दिखाता हुआ अग्न्याशय का अनुप्रस्थ काट।

1. Capsule
2. Zona glomerulosa
3. Zona fasciculata
4. Zona reticularis
5. Medulla
6. Veins in medulla

चित्र 23.11: वल्कुट और मज्जा को दिखाते हुए अधिवृक्क ग्रंथि की अनुप्रस्थ काट।

23.6 बोध प्रश्न

1. इनमें से कौन सा अण्डजनन (oogenesis) के लिए सही क्रम है?

   a) अंडजननी (oogonium), प्राथमिक अण्डक (oocyte), अण्डाणु (ovum), द्वितीय अण्डक, ऊटिड (ootid)

   b) प्राथमिक अण्डक, द्वितीय अंडक, अंडजननी, ऊटिड, अण्डाणु

   c) अंडजननी, प्राथमिक अण्डक, द्वितीय अण्डक, ऊटिड, अण्डाणु

   d) अंडाणु, प्राथमिक अण्डक, अण्डजननी, द्वितीय अंडक, ऊटिड

2. प्राथमिक शुक्राणु कोशिका (spermatocyte) से सामान्यतः कितने शुक्राणु (spermatozoa) उत्पन्न होते हैं?

   a) एक

   b) एक धन तीन ध्रुवीय कायाएं (polar bodies)

   c) दो

   d) चार

3. (I) को (II) से मिलाइये।

   (I) a) पीयूषिका

   b) पैराथाइरॉइड

   c) थाइरॉइड

   d) अग्न्याशय

   e) अधिवृक्क

   (II) i) यह ग्रंथि, अंतःस्रावी तथा बाह्यस्रावी दोनों प्रकार की ग्रंथि है।

   ii) इस ग्रंथि में निम्नलिखित संरचनायें होती हैं: दूरस्थांश (pars distalis), तंत्रिकांश (pars nervosa) तथा मध्यांश (pars intermedia)

   iii) इस प्रकार की ग्रंथियाँ आमतौर पर चार होती हैं।

   iv) यह ग्रंथि अनुवर्तनी (tropic) हार्मोन्स उत्पन्न करती है।

   v) इसका प्रमाण है कि यह ग्रंथि दोनों लिंगों में, एन्ड्रोजन्स (androgens) उत्पन्न करती है।

   vi) यह ग्रंथि थॉइराइड स्टिमुलेटिंग हार्मोन (TSH) उत्पन्न करती है।

24 चूहे/मूषक की योनि आलेप की स्लाइड तैयार करना

24.1 प्रस्तावना

LSE 05 खंड 2 की इकाई 8 में आपने पढ़ा कि मादा कशेरुकियों में युग्मक उत्पादन चक्रीय होता है और अधिकांश जंतुओं में, यह उस मौसम में संपन्न होता है जो कि उनकी संतानों की उत्तरजीविता के लिए सर्वाधिक अनुकूल होता है।

प्राइमेटस के अतिरिक्त अन्य स्तनधारियों में प्रजनन चक्र **मद चक्र** कहलाता है। चूहों और मूषकों में यह चक्र 4 से 5 दिनों का होता है और मोटे तौर पर चार चरणों में बंटा होता है।

1. *मद (estrus)* : वह काल होता है जिसके दौरान अण्डोत्सर्ग होता है। यह काल पुटकोद्दीपक हारमोन (follicle stimulating hormone) तथा एस्ट्रोजन के प्रभाव में 9-15 घंटे तक रहता है। सिर्फ इसी काल के दौरान मादा, नर के लिए ग्राही रहती है। अत: अण्डोत्सर्ग और निषेचन भली प्रकार समन्वित रहते हैं। गर्भाशय बड़ा हो जाता है तथा योनि की श्लेष्मिका प्रचुरोदभवित हो जाती है तथा योनि की बाह्यत्वचा शल्की (squamous) और श्रृंगित (cornified) बन जाती है। इस काल के दौरान लिए गए योनि आलेप **शल्की कोशिकाओं** को दर्शाते हैं, जो कि मद चक्र को इंगित करती हैं। आगे की घटनायें नर के साथ लैंगिक संपर्क पर निर्भर करती हैं।

2. *मदह्रास (metaestrus)* : संयुग्मन की अनुपस्थिति में अण्डोत्सर्ग के तुरंत बाद यह अवस्था 10-14 घंटे तक रहती है। एक छोटा कॉर्पस ल्युटियम (corpus luteum) बनता है और प्रोजेस्ट्रोन स्रावित होती है। इस अवस्था में लिया गया योनि आलेप कुछ श्रृंगित **कोशिकाओं** के साथ **श्वेताणुओं** को दर्शाता है।

3. *मदशांति (diestrus)* : यह काल 60 से 70 घंटे तक रहता है। कॉर्पोरा ल्युटिया का इस काल में कार्यात्मक ह्रास हो जाता है और योनि आलेप में सिर्फ **श्वेताणु** रहते हैं।

4. *मदपूर्व (proestrus)* : यह काल लगभग दो घंटे तक रहता है। यह अगले मदचक्र का पूर्वप्रदर्श है। पुरानी कॉर्पोरा ल्युटिया का अपह्रासन (degeneration) जारी रहता है, परन्तु नई पुटक शीघ्रता से परिपक्व हो जाती है। गर्भाशय पुन: प्रसरित हो जाता है तथा योनि आलेप में **केन्द्रकीय बाह्यत्वचीय कोशिकाएं** (nucleated epithelial cells) अलग-अलग या फिर परतों में पायी जाती है। योनि की कोशिकाओं में ये सभी बदलाव, चित्र 24.1 में आरेखित रूप में दिखाए गए हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोग में आप :

- चूहे या मूषक के योनि आलेप बनाने में सक्षम होंगे।
- दिए गए जंतुओं में मदचक्र की अवस्था को पहचानने में सक्षम होंगे।

24.2 आवश्यक सामग्री

मादा चूहे/मूषक

शरीरक्रियात्मक सेलाइन

रुई के फाहे

जीमसा अभिरंजक

माइक्रो स्लाइडस्

कवर स्लिप्स्

DPX आरोपक

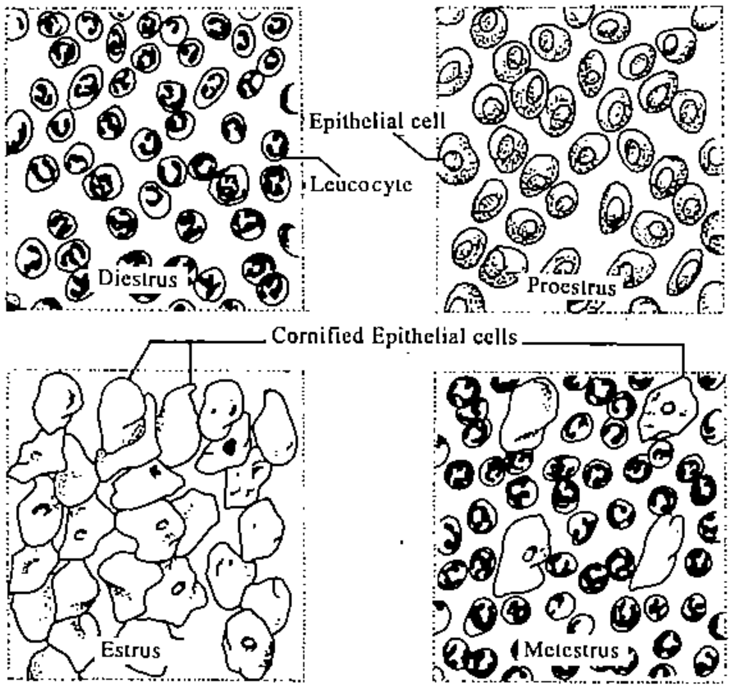
24.3 प्रयोग विधि

चूहों/मूषकों को क्लोरोफार्म सुघां कर बेहोश करें। जैसे ही वे चलने फिरने में असमर्थ हो जायें तो उन्हें अधर (ventral surface) ऊपर की तरफ रखते हुए, डिसेक्शन ट्रे में लिटा दें। शरीरक्रियात्मक सेलाइन

में भीगा हुआ रुई का फाहा (कान साफ करने वाली रुई की बड का प्रयोग करना बेहतर होगा) प्रयोग करें। इसको जंतु की योनि में डालें और धीरे से घुमाएं। योनि की दीवारों के अस्तर (lining) से चिपकी हुई कोशिकाएं भीगी हुई रुई के फाहे में चिपक जायेंगी। रुई के फाहे को निकाल लीजिये और उसे एक साफ स्लाइड पर हलके से रगड़ कर आलेप बनाईये। स्लाइड को थोड़ी देर हवा में हिला कर सुखा लीजिये। अब इसे पेट्रीडिश में रखिये और जीमसा अभिरंजक (Giemsa stain) की थोड़ी सी मात्रा इस आलेप पर डालिये। इसको ढक दीजिए और 10 मिनट के लिए ऐसे ही छोड़ दीजिए। स्लाइड को भली प्रकार से आसुत जल से धो लीजिए। इसे हवा में सुखा लीजिए। DPX आरोपक का प्रयोग करते हुए स्लाइड को कवर स्लिप से आरोपित कीजिए।

24.4 निरीक्षण और परिणाम

सूक्ष्मदर्शी से निरीक्षण कीजिए, और प्रस्तावना में दिए गए वर्णन और नीचे दिये गये चित्र की सहायता से अपनी स्लाइड में मदचक्र की अवस्था को पहचानिये। अपनी स्लाइड पर पहचानी गई अवस्था का चित्र अपनी नोटबुक में बनाइए।



चित्र 24.1 : आलेप में अपनी विशिष्ट कोशिकीय संरचनाओं को दिखाते हुए मदचक्र की विभिन्न अवस्थाऐं।

क्योंकि जंतुओं को क्लोरोफार्म देकर बेहोश किया जाता है, अत: वे जल्दी ही होश में आ जाएंगे। इसलिए आलेप निकालने के पश्चात उन्हें वापिस उनके दड़बों (cages) में रख दीजिये।

आप शिक्षाकेन्द्र में अपने दो सप्ताह के प्रवास के दौरान, इस तरह के बहुत सारे योनि आलेप, एक ही जंतु से 2-3 दिनों के अंतराल से बना सकते हैं।

बोध प्रश्न 1. आपने अपने जंतु को, मद चक्र की कौन सी अवस्था में पाया?

....

....

....

बोध प्रश्न 2. अपने द्वारा पहचानी गई अवस्था में आपने किस प्रकार की कोशिकाएं देखी?

....

....

....

दी गई तालिका को, दूसरे विद्यार्थियों से आंकड़े लेकर भरिये।

मद चक्र की अवस्था	मद	मदह्रास	मदशांति	मदपूर्व
जंतुओं को संख्या				

बोध प्रश्न 3. **क्या आपने मदचक्र की किसी विशिष्ट अवस्था में जंतुओं को अधिक संख्या में पाया है? यदि हां, तो क्या आप इस प्रकार के प्रेक्षण के लिए संभावित कारण बता सकते हैं?**

....

....

....

25 मेढ़क के विकास की विभिन्न अवस्थाओं की स्थाई स्लाइडों द्वारा अध्ययन

25.1 प्रस्तावना

प्राणी का परिवर्धन आमतौर पर अण्डे के शुक्राणु द्वारा निषेचन (fertilization) के साथ ही आरंभ होता है। अण्डे और शुक्राणु के केन्द्रक संयोजित हो जाते हैं तथा पिता और माता के जीन्स (genes) संतान गुणों को निर्धारित करते हैं। अन्य जैविकी प्रक्रियाओं (biological processes) की तुलना में, भ्रूण का परिवर्धन अपेक्षाकृत धीमा है। नई कोशिकाऐं, ऊतक तथा अंग भ्रूण में अपना प्रगटन (appearance) घंटों, दिनों अथवा सप्ताहों तक के काल में करते हैं।

इस प्रायोगिक अभ्यास में, हम अनिषेचित अंडे से लेकर टेडपोल (tadpole) अवस्था तक का मेंढ़क का परिवर्धन का अध्ययन स्थाई स्लाइडों तथा उनके अभिरंजित (stained) सेक्शन (section) की सहायता से करेंगे। ऐसा करने से पहले, अभ्यास को और अधिक अर्थपूर्ण बनाने के लिये, हम मेंढ़क के परिवर्धन में प्रमुख घटनाओं के संक्षिप्त वर्णन से शुरू करेंगे। आप LSE-06 पाठ्यक्रम की इकाई 13, 14 और 15 की सहायता भी ले सकते हैं।

मेंढ़क के भ्रूण विज्ञान का वर्णन

मेंढ़क एक अंशजलीय (semiaquatic) जन्तु है तथा अपने अण्डे पानी में देता है। अण्डे मध्यपीतक (mesolecithal) प्रकार के होते हैं, जिनमें पीतक (yolk) की साधारण मात्रा होती है जो कि अल्पक्रिय (नीचे) के गोलार्द्ध में सन्द्रित रहती है। निषेचन, अण्डोत्सर्ग (ovulation) के कुछ मिनट बाद ही होता है तथा परिवर्धन को आगे बढ़ाने के लिये आवश्यक होता है। अण्डोत्सर्ग से लेकर टेडपोल (tadpole) बनने तक की विकास की अवस्थाऐं पानी में संपन्न होती है। मेंढ़क के अण्डाणु में ध्रुवण (polarity), निषेचन के भी पहले से होती है और यह अण्डाणु में दो अलग-अलग भाग होते हैं (i) जन्तु गोलार्द्ध (animal hemisphere) —— तीन जेली (Jelly) की परतों में ढ़का रहता है। गहरा वर्णकित (pigmented) भाग, जो अण्डे का आधे से अधिक भाग अधिग्रहीत करता है तथा जिसमें केन्द्रक होता है (2) अल्पक्रिय गोलार्द्ध (vegetal hemisphere)- हल्के रंग का पीतक से भरा हुआ अपेक्षाकृत भारी भाग (चित्र 25.1)।

निषेचित अण्डा (युग्मनज) (zygote) -अण्डे में शुक्राणु के प्रवेश के बाद निषेचन होता है, जिसके परिणामस्वरूप युग्मनज बनता है। शुक्राणु सिर्फ जन्तु ध्रुव (animal pole) पर ही प्रवेश कर सकता है और जब वह ऐसा करता है तो , आमतौर पर शुक्राणु के प्रवेश की विपरीत दिशा में एक धूसर नवेन्दु (grey crescent) बनता है (चित्र 25.2) शुक्राणु के प्रवेश पर अन्य बदलाव भी होते हैं (LSE-06 पाठ्यक्रम की इकाई -13 को पढ़ें) पीतक झिल्ली (vitellime membrane) जो अण्डे के चारो ओर कस के बंधी रहती है, पीछे हट जाती है, जिससे युग्मनज घूम जाता है। इससे जन्तु ध्रुव सबसे ऊपर हो जाता है, यदि वह ऐसा पहले नहीं था।

आरंभिक विदलन (cleavage) तथा मोरूला (morula) का बनना -निषेचन के पश्चात् परिवर्धन तीव्र गति से होता है, इससे कुछ ही घण्टों के अन्दर सामान्य तापमान पर युग्मनज बहुत सी कोशिकाओं (ब्लास्टोमिर्यस) में विदलित अथवा विभाजित होता है। विदलन पूर्णभंजी (holoblastic) होता है (संपूर्ण अण्डा विदलित होता है) तथा असमान होता है, यानि कि ब्लास्टोमियर्स समान आकार के नहीं होते हैं। वे जो जन्तु ध्रुव पर होते हैं आकार में छोटे होते है तथा माइक्रोमिर्यस (micromeres) कहलाते है और जो अलपक्रिय ध्रुव पर होते हैं, मेक्रोमिर्यस (macromeres) कहलाते है। आरंभिक विदलन के फलस्वरूप ब्लास्टोमिर्यस (blastomeres) का ठोस गोला बनता है जो मोरूला या तूतक कहलाता है। ब्लास्टोमिर्यस (कोरकखंडो) का यह कुल गुच्छा (cluster) आकार में अब भी वास्तविक नषेचित कोशिका से बड़ा नहीं होता है।

ब्लास्टुला (blastula) - लगभग चौथे अथवा पांचवे विदलन के पश्चात् एक गुहा जिसे कोरक गुहा (ब्लास्टोसील) कहते हैं, मोरूला से विकसित होती है और कोरक (ब्लास्टूला) को जन्म देती है। यह तरल से भरी हुई गुहा, जन्तु ध्रुव की ओर अधिक होती है तथा सिर्फ भ्रुण के सेक्शन में ही देखी जा सकती है। ब्लास्टोमिर्यस का विभाजन अब समकालिक (synchronous) नहीं रहता है (चित्र 25.3)। जन्तु ध्रुव की तरफ के कोरक खंड (blastomeres), पीतक लिये हुए अल्पक्रिय खंड में उपस्थित कोरकों की अपेक्षा अधिक तीव्रता से विभाजित होते हैं। अत: बाह्य रूप से जंतु ध्रुव के कोरकखंड अधिकांश कोरक को ढ़क लेते हैं।

गैस्ट्रुला (Gastrula) -गैस्ट्रुला (कन्दुक) एक गहरे रंग का वर्णकित कोशिकाओं का गोला जैसा दिखाई पड़ता है, जिसमें अल्पक्रिय कोशिकाओं का गोलाकार पीतक प्लग (plug) होता है, ग्रैस्ट्रुला तब बनता है जब एक सतही कोरक, तीन सतही संरचना में रूपान्तरित होता है, जिसमें (i) बाहरी बाह्यत्वचा (ectoderm) (2) मध्य की मध्यजनस्तर (mesoderm) तथा (3)भीतरी अंतस्त्वचा होती है। कन्दुकन (gastrulation) में कोशिकाओं का विभाजन तथा चलन होता है। ये गतिविधियां एक निश्चित पैटर्न (तरिके) के अनुसार होती हैं, जोकी पीतक की मात्रा पर निर्भर करती है (चित्र 25.4 a)। कन्दुकन संरचना की शुरूआत कोशिकाओं के जन्तु ध्रुव की ओर, कोरक के मध्यवर्ती भाग के कुछ नीचे की स्थिति में, जन्तु अथवा अल्पक्रिय गोलार्द्ध की सीमारेखा पर धूसर नवेन्दु के क्षेत्र में, धकियाय (pushing) जाने अथवा अंर्तवलन (invagination) से होती है। अंर्तवलन से एक नवचन्द्राक होंठ (crescent shaped lip) बनता हैं, जो कि ब्लास्टोपोर (blastopore) कहलाता है। ब्लास्टोपोर (कोरकरंध्र) की स्थिति भविष्य में भ्रूण के पश्च भाग को चिन्हित करती है। भ्रुण का अग्रभाग भविष्य में जन्तु ध्रुव पर विकसित होता है। जन्तु ध्रुव की कोशिका विभाजित होती रहती है तथा भ्रुण के चारों ओर बढ़ती है [अध्यारोहण (epiboly)] तथा उसके पश्चात् कोरकरंध्र से अन्दर की ओर मुड़ जाती है [अर्न्तवलन (invagination or involution)]। एक नई गुहा आद्यांत्र (archenteron) बनती है, जो कि कोरकगुहा के व्यय से विस्तारित होती है तथा कोरकरंध्र से जुड़ी होती है। आद्यांत्र आगे चलकर जठरगुहा (gastrocoel) के रूप में परिवर्धन होती है।

अब तक बताई गई सभी प्रक्रियाओं के पूरा होने पर, कन्दुक की तीनों प्राथमिक परतों को भ्रूण की खड़े काट (vertical section) में पहचानना सम्भव है। (चित्र 25.4 b)

न्यूरूला (neurula) -कन्दुकन की समाप्ति के करीब होने पर पृष्ट सतह की अनुदैर्ध्य अक्ष के आसपास की बाह्यत्वचा, मोटी दिखाई देती है जो एक स्पष्ट चौड़ी पट्टिका न्यूरल प्लेट (neural plate) बनाती है। इस न्यूरल प्लेट (तंत्रिक पट्ट) के किनारे ऊपर की ओर एक दूसरे से जुड़ जाते हैं और अंतत: मध्य रेखा में एक बंद नलिका, जो कि न्यूरल नलिका (neural tube)कहलाती है, बनाते हैं (चित्र 25.5) I बाह्यत्वचीय कोशिकाओं से निर्मित न्यूरल नलिका, जो भ्रुणं के अग्र से पश्च भाग तक जाती है, अलग हो जाती है तथा बाह्यत्वचा के नीचे बैठ जाती है (जो कि पहले उसके ऊपर स्थित थी)। न्यूरल नलिका, इस प्रकार से बाह्यत्वचा से ढ़क जाती है तथा समय आने पर मस्तिष्क और रीढ़ रज्जू में विभेदित हो जाती है।

इसी दौरान पृष्ठरज्जु (notochord) भी कोशिकाओं की एक कतार से (मध्यजनस्तर उत्पत्ति की) आद्यांत्र की मध्य पृष्ठ भित्ति में एक बेलनाकार छड़ (cylindrical rod) के रूप में विकसित हो जाती है तथा न्यूरल नलिका के नीचे व आद्यांत्र के ऊपर आकर स्थित हो जाती है। इसी काल के दौरान, मध्यत्व जनस्तर ऊतक भी पृष्ठरज्जु (नोटोकॉर्ड) के अधर पार्श्व में तथा पृष्ठरज्जु से अलग विकसित हो जाता है। मध्यजनस्तर, देहगुहा (bodycavity) में ही अंतरंग (splanchnic) तथा कायिक (somatic) परतों में विभक्त हो जाती है। इन दोनों परतों के बीच में प्रगुहा (coelom) स्थित रहती है।

कन्दुकीकन तथा तंत्रिकाभवन (neurulation) की संरचनाविकासक (morphogenetic) गतियां विभिन्न कोशिकाओं के समूहों को स्थिति (position)में ला देती है, जिससे कि उनकी परवर्ती (subsequent) पारस्परिक क्रियाओं तथा आगे की विकास की अवस्थाओं में वयस्क के ऊतकों में विभेदित होने के लिये आधारीय योजना बन जाती है। आगे के सिरे पर सिर बनना शुरू हो जाता है। मुख, आद्यांत्र के अग्रसिरे से बन जाता है तथा क्लोम छिद्र (gill slits) आद्यांत्र की पार्श्व दीवारों से विकसित हो जाते हैं। एक पुच्छ कलिका पश्च भाग में बन जाती है, जो पूंछ में विकसित हो जाती है। न्यूरेला इस प्रकार से तरूण लारवा (डिम्भक) अथवा टेडपोल (tadpole) में रूपान्तरित हो जाता है, जिसमें सभी कॉर्डेट्स (रज्जुकी प्राणियों) के चार स्पष्ट गुण होते हैं, एक नली-नली देह योजना के अर्न्तगत, पृष्ठ तंत्रिका रज्जु, पृष्ठरज्जु तथा क्लोम छिद्र। (चित्र 25.6)

मुक्त तैरने वाला लारवा (larva) -डिम्भक अथवा तरूण टेडपोल जल्दी ही स्वतंत्र अस्तित्व के रूप में समर्थ बन जाता है तथा जैली के ढ़ेर से अथवा जैलीनुमा आवरण से बाहर निकल कर एक मुक्त तैरने वाला प्राणी बन जाता है। इस अवस्था में शाकाहारी डिम्भक पोषण के लिये सिर्फ अपने पीतक के संग्रह पर ही पूरी तरह से निर्भर नहीं रहता है। इसके अतिरिक्त एक वलित त्वचा (fold) जो कि प्रच्छद (operculum) कहलाता है, पीछे की ओर विकसित होता है तथा आन्तरिक क्लोमों को ढ़क लेता है।

कुछ महीनें तक बढ़ने के बाद, डिम्भक व्यस्क में कायान्तरित (metamorphoses) हो जाता है । इस प्रक्रिया में स्पष्ट बाह्य तथा आन्तरिक बदलाव होते है। (चित्र 25.7, 25.8, 25.9) मुख दाँत तथा जीभ

परिवर्तित हो जाते हैं, जब शाकाहारी मेंढ़क माँसाहारी में बदल जाता है। परिसंचारी रूपान्तरण (circulatory modifications) के कारण रक्त परिसंचारण क्लोम से बदल कर फेफड़ों में होने लगता है। पेशीन्यास (musculature) मछली की भांति तैरने वाले से पैरों द्वारा चलने वाले में रूपांतरित हो जाता है।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप:

- सूक्ष्मदर्शीय स्लाइड्स में दिखाई पड़ती मेंढ़क के पहरवर्धन की प्रमुख अवस्थाओं, निषेचित अण्डे से लेकर टेडपोल लार्वा अवस्था तक को पहचान सकेंगे और उनका वर्णित कर सकेगें।
- स्थाई स्लाइडों में प्रारंभिक तथा बाद की भ्रुणीय व डिम्भकीय अवस्थाओं को चित्रित कर सकेगें तथा चिन्हित कर सकेगें।

25.2 आवश्यक सामग्री

मेंढ़क के विकास की सथाई सूक्ष्मदर्शीय स्लाइडें

अनिषेचित अण्डा

निषेचित अण्डा

संपूर्ण कोरक/ब्लास्टुला तथा उसकी खड़ी काट

संपूर्ण कन्दुक/गैस्टुला तथा उसकी खड़ी काट

संपूर्ण न्यूरूला तथा उसकी खड़ी काट

मेंढ़क का संपूर्ण टेडपोल लारवा

टेडपोल के कान (श्रवण आशय)से गुजरता हुआ T.S. (Transverse section) (अनुप्रस्थ काट)

टेडपोल के आँखों से गुजरता हुआ T.S. (Transverse section) (अनुप्रस्थ काट)

टेडपोल के सिर तथा क्लोमों (gills) से गुजरता हुआ T.S. (अनुप्रस्थ काट)

सुक्ष्मदर्शी

25.3 प्रयोग विधि

स्लाइडों का अध्ययन शुरू करने से पहले आप ध्यानपूर्वक प्रस्तावना में दिए गये मेंढ़क भ्रुण विज्ञान के वर्णन तथा प्रायोगिक अभ्यास में दिये गये विभिन्न चित्रों को देख लें। यह आपको मेंढ़क में होने वाली विभिन्न परिवर्धन की प्रक्रिया से अवगत कराने में तथा उन्हें आपके द्वारा अध्ययन की जा रही स्लाइडों से संबद्ध करने में सहायक होगा। पहले भ्रुण की अवस्था के पूर्ण आरोपणों का परीक्षण करके मेंढ़क के परिवर्धन में होने वाले सामान्य तथा संपूर्ण बदलावों से अवगत हो जाइए। इस अध्ययन के पश्चात् परिवर्धन की अवस्थाओं के सेक्शन/काटों का अध्ययन करिये आप उनको पूर्ण आरोपणों से सहस्बन्धित करने में समर्थ होना चाहिये।

आपके काउन्सलर मेंढ़क के परिवर्धन की विभिन्न अवस्थाओं की स्लाइडों की व्यवस्था कर देंगे। स्लाइडों को पहले ध्यानपूर्वक संयुक्त सूक्ष्मदर्शी (अल्प आवर्धक) में अवलोकन कीजिए और यदि आवश्यकता हो तो उच्चावर्धक (high power) में अवलोकन कीजिए तथा अपने द्वारा देखे गये स्लाइडों की तुलना प्रायोगिक अभ्यास में दिये गये वर्णन तथा चित्रों से कीजिए। एक स्लाइड देखने के पश्चात् आप दूसरी की ओर बढ़िये जब तक कि आप स्लाइडों की संपूर्ण शृंखला को ना देख लें।

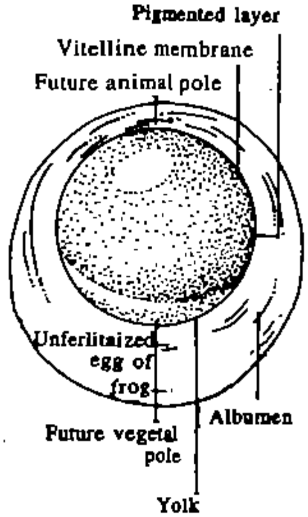
अपनी नोटबुक में अपने द्वारा देखी गई परिवर्धन की सभी अवस्थाओं के चित्र बनाइऐ, उन्हें चिन्हित कीजिए तथा उनका वर्णन लिखिए।

वह अवस्थाऐं जिनको आप देखेंगे तथा जिनके चित्र तथा वर्णन आपको दिए जायेंगे उनकी लिस्ट नीचे दी गई है:

1. अनिषेचित अण्डा
2. निषेचित अण्डा
3. कोरक संपूर्ण तथा कोरक का V.S. (खड़ी काट)
4. कन्दुक संपूर्ण तथा कन्दुक कोरक का V.S. (खड़ी काट)
5. संपूर्ण न्यूराला तथा न्यूराला का V.S. (उर्ध्वाधर काट)
6. मेंढ़क का संपूर्ण टेडपोल लारवा
7. आँख के क्षेत्र से होकर टेड़पोल की अनुप्रस्थ काट
8. श्रवण आशयों (auditory vesides) से होता हुआ टेडपोल का अनुप्रस्थ काट
9. सिर तथा क्लोमों से होता हुआ टेडपोल का अनुप्रस्थ काट

25.4 निरीक्षण

क: मेंढ़क का अनिषेचित अण्डा (चित्र 25.1)



चित्र 25.1:अ निषेचित अण्डा

1. अण्डा सामान्य रूप से गोलार्धपीतक (telolecithal) अथवा मध्यपीतकी (mesolecithal) होता है।
2. अण्डा अथवा अण्डाणु तीन भिन्न परतों से ढका रहता है (a) सबसे अन्दर की ओर पीतक झिल्ली (vitelline membrane) जो कि खुद अण्डे के द्वारा ही स्त्रावित होती है। (b) मध्य की परत, जरायु (chorion) जो अंडाशय की पुटक कोशिकाओं (follicular cells) द्वारा स्त्रावित होती है तथा (c) श्लेषी (gelatinous) तृतीय झिल्ली अथवा एल्बूमिन (albumin) जिसमें 3-4 श्लेषी वलय (rings) होते हैं और जो अण्डवाहिनी (oviduct) की भित्ति द्वारा स्त्रावित होती है।
3. अण्डाणु की आधी से अधिक सतह, मैलेनिन वर्णकों (melanin pigments) की उपस्थिति के कारण काली सी दिखाई पड़ती है, जबकि बाकी पीतक की उपस्थिति के कारण अधिकांशत: सफेद सी दिखाई पड़ती है।
4. वर्णकित क्षेत्र आगे चलकर जन्तु गोलार्द्ध बनाता है, जबकि अवर्णकित क्षेत्र, भविष्य में अल्पक्रिय गोलार्द्ध को बनाता है।
5. जन्तु ध्रुव में अण्डे का पारदर्शक कोशिकाद्रव्य (cytoplasm) तथा अगुणित केन्द्रक (haploid nucleus) स्थित रहते हैं।
6. अल्पक्रिय गोलार्द्ध में स्थूल रूप में पीतक रहता है जो भ्रुणीय विकास के लिए आवश्यक पोषण है।

बोध प्रश्न I

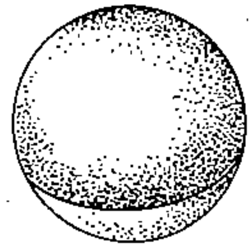
क्या आप अण्डाणु में जैली के तीन आवरणों की उपयोगिता को समझा सकते हैं?

....

....

....

ख: निषेचित अण्डा (चित्र 25.2)

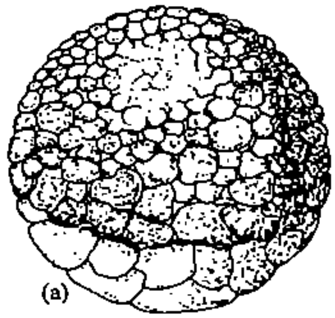


चित्र 25.2 : निषेचित अण्डा

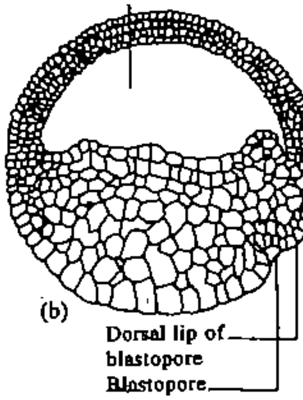
1. जन्तु तथा अल्पक्रिय गोलार्द्ध के केन्द्र क्रमश: जन्तु तथा अल्पक्रिय ध्रुव कहलाने लगते हैं।
2. जन्तु ध्रुव में द्विगुणित केन्द्रक होता है जो शुक्राणु तथा अण्डे के केन्द्रकों के मिलने से बनता है।
3. पीतक झिल्ली अब निषेचन झिल्ली कहलाने लगती है। निषेचन के ठीक बाद में अण्डा प्रोटीन युक्त द्रव्य स्त्रावित करता है जो पानी को सोख लेता है और फूल जाता है, जिससे पीतक झिल्ली अण्डे से ऊपर की ओर उठ जाती है।
4. धूसर नवेन्दु, जन्तु तथा अल्पक्रिय ध्रुव के बीच की सीमा पर मुख्यरूप से जन्तु ध्रुव में, शुक्राणु के प्रवेश के बिन्दु के विपरीत दिशा में दिखाई पड़ता है। यह जन्तु गोलार्द्ध की अपेक्षा अधिक हल्के रूप से वर्णकित होता है। धूसर नवेन्दु बाद में भ्रूण का पश्च तथा पृष्ठ भाग बनता है।

बोध प्रश्न 2

चिन्हित आरेखों की सहायता से मेढ़क के अनिषेचित तथा निषेचित अण्डे के बीच की भिन्नताओं को दिखाइए।



ग. संपूर्ण कोरक तथा उसका V.S. (चित्र 25.3)



चित्र 25.3: कोरक (a) संपूर्ण (b) V.S

1) कोरक, कोशिकाओं का एक गोला है जिसमें एक मध्य गुहा, कोरकगुहा होती है।

2) कोरक का V.S. दर्शाता है कि उसमें एक उत्केन्द्रीय गुहा कोरक गुहा होती है जो कि असमान आकार के कोरकखंडो से घिरी रहती है।

3) छोटे वर्णकित कोरकखंड जन्तु गोलार्द्ध में स्थित होते हैं तथा लघुखंड (micromere) कहलाते हैं, जबकि बड़े पीतक भरे हुए कोरकखंड, जो अल्पक्रिय गोलार्द्ध में स्थित होते हैं, वृहत्खण्ड (macromeres) कहलाते हैं।

4) लघुखंड जन्तु गोलार्द्ध पर कोरक गुहा के ऊपर एक पतली, बहुपरतीय छत बनाते हैं, जबकि अल्पक्रिय गोलार्द्ध के वृहत् खंड कोरकगुहा का फर्श बनाते हैं।

बोध प्रश्न 3

क्या अल्पक्रिय ध्रुव में सभी कोशिकाओं, जन्तु ध्रुव कोशिकाओं से कुछ बड़ी, अधिक बड़ी अथवा कई गुना बड़ी हैं?

....

....

....

बोध प्रश्न 4

संपूर्ण कोरक तथा उसके खड़ी काट का चिन्हित आरेख बनाइये।

घ. संपूर्ण कन्दुक तथा उसका V.S. (चित्र 25.4)

कोरक, कन्दुक में रूपान्तरित हो जाता है, जो बाहर से देखने पर एक गहरी वर्णकित कोशिकाओं का गोला जैसा दिखाई पड़ता है, जिसमें गोलाकार, हल्के रंग का पीतक प्लग होता है।

1) कन्दुक का आकार अब भी उतना ही छोटा होता है, जितना कि युग्मनज का होता है।

2) कन्दुक, कोरक की कोशिकाओं का पुनर्व्यवस्था (rearrangement) के द्वारा बनता है। कन्दुकीकन पूरी तरह से भ्रूण को पुर्नसंगठित करता है तथा तीन जननस्तरों में परिणत होता है (1) बाहरी बाह्यत्वचा (2) बीच की मध्य जनस्तर तथा (3) सबसे भीतर की अंतस्त्वचा । जन्तु के विभिन्न अंग इन्हीं तीन परतों से बनते हैं। कन्दुक की विभिन्न परतें भली प्रकार विभेदित होती हैं तथा खड़ीकाट में स्पष्ट दिखाई पड़ती हैं।

3) बाह्यत्वचा, अधिचर्म (**epidermis**), त्वक ग्रंथियों (cutaneous glands), तंत्रिका तंत्र, आंख के भागों मुखगुहा तथा अवस्कर (cloaca) की परत (lining) को जन्म देती है।

4) अंतस्त्वचा आहार नाल, यकृत (liver), अग्न्याशय (pancreasc) फेफड़े, मूत्राशय, तथा जनन

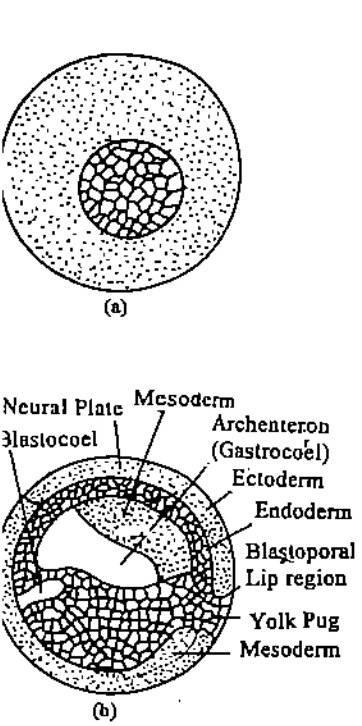
(primordial) कोशिकाओं की परत बनाती है।

5) मध्यजनस्तर पीछे की ओर एक छोटे से क्षेत्र जैसी दिखाई पड़ती है तथा पेशी विन्यास, संयोजक ऊतक, संवहन तंत्र, जनन अंगों, उत्सर्गी अंगों, अस्थिपंजर तथा पृष्ठरज्जु को जन्म देती है।

6) सेक्शन में दिखाई पड़ने वाले और अन्य संरचनाऐं हैं कोरक रंध्र का पृष्ठ होंठ, पीतक प्लग, तथा कोरक रंध्र का अधर होंठ।

7) पृष्ठरज्जु अथवा रज्जु कोशिकाऐं तथा तंत्रिकी न्यूरल पट्टिकाऐं भलीप्रकार से विभेदित होती है तथा पृष्ठ भाग में स्थित होती हैं।

8) कन्दुक की गुहा जो कि आधांत्र कहलाती है भ्रूण के अग्रभाग के पृष्ठ पार्श्व की ओर स्थित होती है। आधांत्र आगे चलकर आँतो में वकसित हो जाती है।



चित्र 25.4: कन्दुक (a) संपूर्ण (b) V.S.

च. न्युरूला (चित्र 25.5)

1) भ्रूण न्युरूला तब कहलाता है जब कन्दुक की दोनों तंत्रिक पट्टिकाऐं (न्यूरल प्लेट), अनुदैर्ध्य अक्ष पर तंत्रिक नली बनाने के लिये आपस में जुड़ जाती हैं।

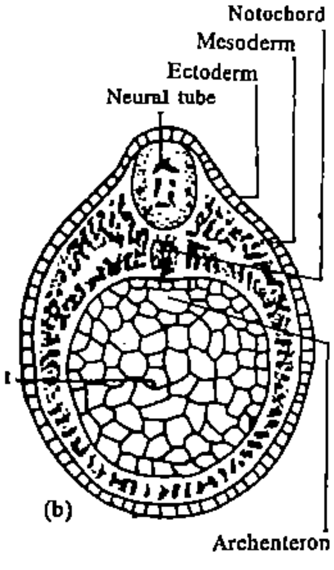
2) बाह्य रूप से भ्रूण में तंत्रिक अनुदैर्ध्य नली एक लम्ब अक्ष पर मोटी कटक (thickened ridge) की भांति दिखाई पड़ती है।

3) न्युरूला की खड़ीकाट में तंत्रिक नली जो कि बाह्यत्वचीय उत्पत्ति की होती है, पृष्ठरज्जु के ऊपर दिखाई पड़ती है।

4) पृष्ठरज्जु, एक छड़नुमा संरचना , मध्यजनस्तर से मध्यपृष्ठ क्षेत्र में उत्पन्न होती है तथा तंत्रिक नली के नीचे व अधांत्र के ऊपर स्थित रहती है। पृष्ठरज्जु, भ्रूण की अनुदैर्ध्य अक्ष के लम्बाई के साथ की लम्बाई के साथ साथ स्थित रहती है।

5) तंत्रिकनली तथा पृष्ठरज्जु के दोनों तरफ सघन मध्यजनस्तर ऊतक देखे जा सकते हैं।

6) मध्यजनस्तर ऊतक जो तंत्रिक नली को घेरे रहते हैं, कायखंड (somite) मध्यजनस्तर बनाते हैं।



चित्र 25.5: न्युरूला का V.S

7) पार्श्व मध्यजनस्तर जो कायखंड मध्यत्वचा का ही बढ़ा हुआ भाग है, विभाजित दिखाई देती है 1) अंतरंग मध्यजनस्तर जो आंत्र अंत:त्वचा के सबसे नजदीक होती है 2) कायिक मध्यजनस्तर, जो अंत:त्वचा के सबसे नजदीक स्थित होती है।

8) एक नई तरल से भरी हुई गुहा, प्रगुहा (सीलोम) अंतरंग तथा कायिक मध्यजनस्तर के बीच में उपस्थित रहती है

घ. मेंढ़क का टेडपोल लारवा (डिम्भक) (चित्र 25.6)

1) अण्डा मुक्त रहने वाले शाकाहारी डिम्भक के रूप में स्फुटित होता है।

2) डिम्भक की लम्बाई 5-7 मि.मी. (m.m.) होती है।

3) डिम्भक का शरीर विधिवत देह तथा पंख वाली पूंछ में विभेदित रहता है।

4) डिम्भक में मुख, चूषक, बाहरी क्लोम, आंखों के अवशेष, घ्राण गर्त (olfactory pits) आहार नली, गुदा तथा पेशी खंड (माँस पेशीयां)होते हैं।

5) मुख में शृंगी जबड़े (horny jaws) अथवा दांत होते हैं।

6) तीन बाहरी, पंखीय क्लोमों के जोड़ कार्यवाहक श्वसन अंगों की भाँति कार्य करते हैं।

7) पूँछ लम्बी होती है तथा अपनी ऊर्ध्व तथा पृष्ठ सतह पर पुँछ पंख (tail fin) धारण किए रहती है।

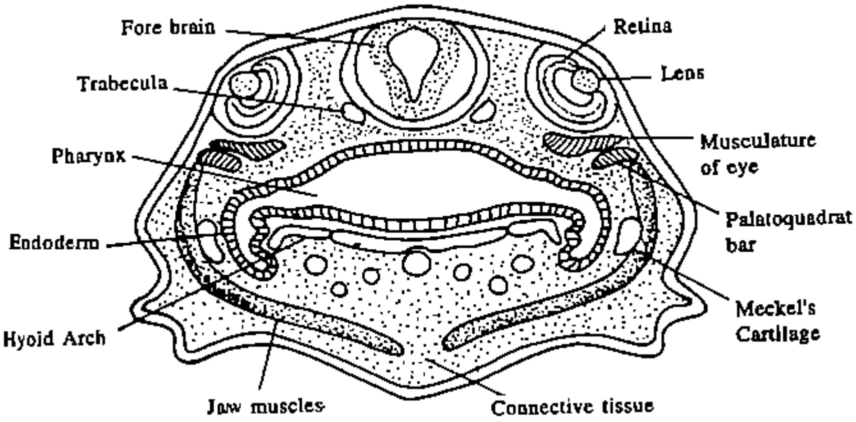
8) शाकाहारी डिम्भक पेड़-पौधों से भोजन लेता है तथा उसकी आंत्र कुण्डलित होती है। डिम्भक, व्यस्क में कायान्तरित हो जाता है।

ज. टेडपोल का आंख के क्षेत्र से होता हुआ अनुप्रस्थ काट: (चित्र 25.7)

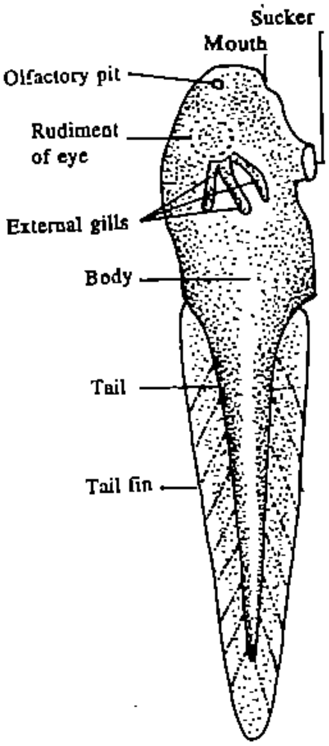
1) आँखें बहुत जल्दी विकसित हो जाती हैं तथा बाह्यत्वीय उत्पत्ति की होती है। ये टेडपोल की सबसे स्पष्ट (conspicous) तथा प्रोद्वर्धी (protuberant) संरचनाऐं हैं।

2) आँखें दृक्आशय (optic vesicles) से विकसित होती है, जो अंधवर्ध (diverticulum) के जोड़े से उत्पन्न होती हैं। यह अंधवर्ध दोनों तरफ अग्रमस्तिष्क (प्रोसेनसेफेलॉन) से विकसित होते हैं।

3) टेडपोल की आँख के क्षेत्र से गुजरते हुऐ अनुप्रस्थ काट में अग्रमस्तिष्क पृष्ठसतह के केन्द्र में दिखाता है।



चित्र 25.7: टेडपोल का आँख के क्षेत्र से गुजरता हुआ T.S.



चित्र 25.6 : मेंढक लारवा

4) आँखें, मस्तिष्क के पार्श्व भागों में दिखाई पड़ती हैं। यह लेन्स, रेटिना (retina) की संवेदी सतह (sensory layer) तथा नेत्र पेशीयों की बनी होती हैं।

5) ग्रसनी (pharynx) अनुप्रस्थ काट के मध्य में स्थित रहती है।

6) तालव प्रलंब दंड (palato quadrate) ग्रसनी के पृष्ठ भाग में, दोनों पार्श्व भागों पर स्थित होते हैं।

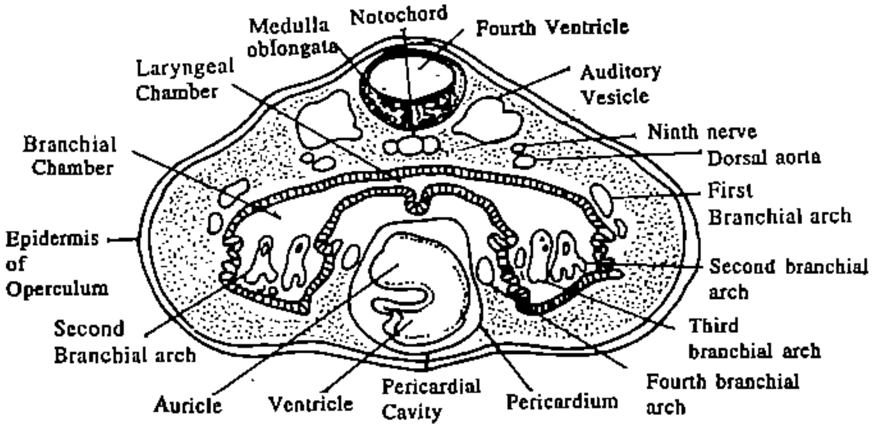
7) मेकेल उपास्थि (Meckel's cartilage) ग्रसनी की पार्श्व पर स्थित रहते हैं।

8) सेक्शन में दिखाई पड़ने वाली अन्य संरचनाऐं जबड़े की पेशियाँ, ट्रेबेकुली (Trabaculae), संवंधक बाह्य त्वचा तथा संयोजक (connective) ऊतक हैं।

झ. श्रवण आशयों (auditory vesicles) से गुजरता हुआ टेडपोल का अनुप्रस्थ काट (चित्र 25.8)

1) कान, श्रवण गर्त के जोड़े के रूप में, अधिकोरक (epiblast) से मस्तिष्क पर विकसित होते हैं।

2) श्रवण आशय, प्रारंभिक टेडपोल अवस्था में विकसित हो जाते हैं तथा काट में पार्श्व पृष्ठ सतह पर, पश्चमस्तिष्क (hind brain) के नीचे पाये जाते हैं।



चित्र 25.8: श्रवण आशयों से गुजरता हुआ टेडपोल का T.S.

3) श्रवण गर्त, आशयों जैसे हो जाते हैं तथा मध्यकान को ढ़ंक लेते हैं। अर्धवृत्ताकार नलिका (semicircular canal) उद्वर्ध के रूप में श्रवण आशयों की भित्तियों से विकसित होती हैं।

4) पश्च मस्तिष्क की मेडुला ऑब्लांगेटा (medulla oblongata) सेक्शन के मध्यपृष्ठ भाग में, दोनों श्रवण कोषों (auditory capsule) के बीच में तथा चौथे वेन्ट्रिकल (fourth ventricle) को घेरे हुए, स्थित होती है।

5) पृष्ठरज्जु सेक्शन में मेडुला ऑब्लांगेटा के नीचे स्थित दिखाई देती है ।

6) क्लोम कक्ष (branchial chamber) जिसमें कंठ कक्ष (laryngeal chamber) होता है पृष्ठरज्जु तथा श्रवण आशयों के नीचे स्थित रहता है।

7) पृष्ठ महाधमनी (aorta) तथा प्रथम, द्वितीय, तृतीय तथा चौथी क्लोम चापें (branchial arches) सेक्शन के पार्श्व भाग में स्थित होती हैं।

8) हृद्‌यावरणी गुहा (pericadial cavity) जो विकासशील आलिंद (ऑरिकिल) तथा निलय (वेन्ट्रिकिल) को परिबद्ध किये रहती है , सेक्शन के अधर भाग में कंठ कक्ष के नीचे स्थित रहती है।

त. सिर तथा क्लोमो से गुजरता हुआ टेडपोल का अनुप्रस्थ काट (चित्र 25.9)

टेडपोल के सिर तथा क्लोमों से गुजरता हुआ अनुप्रस्थ काट निम्नलिखित विस्तारों को दर्शाता है।

1) चौथे निलय (ventricle) को परिबद्ध किये हुए मेडुला ऑब्लांगेटा मध्य पृष्ठ स्थिति में स्थित रहती है।

2) मेडुला ऑब्लांगेटा के दोनों पार्श्व भागो की ओर में झिल्लीनुमा लेबीरिंथ (labyrinth) उपस्थित रहती हैं।

3) पृष्ठरज्जु ठीक मेडुला ऑब्लांगेटा के नीचे स्थित रहती है।

4) ग्रसनी (Pharynx) सेक्शन के मध्य में रहती है।

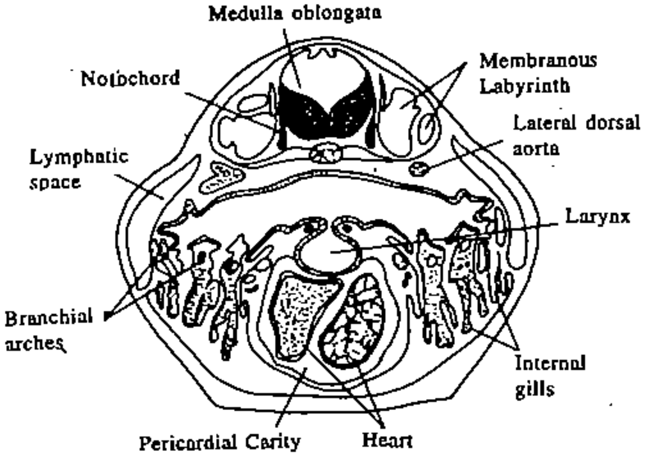
5) कंठ, (larynx) ग्रसनी के सतत में दिखाई पड़ता है।

6) हृदयावरण (pericardium) में परिबद्ध हृदय ठीक कंठ के नीचे दिखाई पड़ता है।

7) क्लोम चापें तथा आंतरिक क्लोम, हृद्‌यावरण के पार्श्व भागों में उपस्थित रहते हैं।

8) पार्श्व पृष्ठ महाधमनी ग्रसनी के ऊपर स्थित रहती है।

9) लसीका अवकाश (lymphatic spaces) दोनों पार्श्व भागों में स्थित रहते हैं।



चित्र 25.9 : टेडपोल के सिर तथा क्लोमों से गुजरता हुआ T.S.

बोध प्रश्न 5

रिक्त स्थानों को भरिए:

क) आरंभिक भ्रूणीय परिवर्धन के दौरान एक खोखली गेंद की अवस्था, जो कन्दुक अवस्था से पहले बनती है ....कहलाती है।

ख) मेंढ़क का अण्डा मध्यपीतकी कहलाता है क्योंकि इसमें पीतक की मात्रा .... होती है।

ग) भ्रूणीय परिवर्धन में कोशिकाओं की ठोस गेंद .... कहलाती है।

घ) वह गुहा जो भ्रूणीय विकास के दौरान बनती है तथा वयस्क में आंत्र को बनाती है ....कहलाती है।

च) प्रगुहा एक तरल भरी हुई गुहा है जो .... मध्यजनस्तर को .... मध्यजनस्तर से अलग करती है ।

छ) मेंढ़क के अण्डे का विदलन........................प्रकार का है लेकिन ....गोलार्द्ध में ये विदलन पीतक की उपस्थिति के कारण धीमी गति से होता है।

ज) कन्दुक का नवचन्द्राकार जिसमें होकर बाह्यत्वचीय कोशिकाएं अंतर्वलित होती हैं .... कहलाता है।

झ) .... कोरक रंध्र द्वारा कोशिकाओं का अंतर्वलन है जिसके फलस्वरूप अंत:त्वचा तथा मध्यजनस्तर में विभेदन होता है।

2) अन्तत: कोरक गुहा का क्या भाग्य है?

....

....

....

3) कौन से जननस्तर से तंत्रिक तंत्र विकसित होता है?

....

....

....

4) मेंढ़क के आरंभिक परिवर्धन की अवस्थाओं के हमारे अध्ययन में तीन जनन स्तरों का बनना दिखाया गया है जिनसे प्रमुख अंगों का निर्माण होता है। नीचे दी गई तालिका में जननस्तरों तथा उनके व्युत्पन्नों (derivatives) को सूचित कीजिए जैसा कि प्रायोगिक अभ्यास में वर्णित किया गया है।

जनन स्तर	विकसित अंग
1.	
2.	
3.	

5) किस प्रकार से कोरक के आकार की तुलना एक कोशिकीय अवस्था से करी जा सकती है? मेंढ़क के परिवर्धन में कोरक की बाद की अवस्था में पहुंचने तक लगभग 1000 कोशिकाएं होती हैं। ये कितने विभाजनों को प्रदर्शित करता है। इस प्रकार की गणना के लिये किसी कल्पना की आवश्यकता होती है? क्या कोरक में सभी कोशिकाएं समान होती हैं?

....

....

....

....

....

....

6) अपने द्वारा अध्ययन करी गई सभी स्लाइड्स के स्पष्ट तथा चिन्हित आरेख बनाइए।

26 चिक भ्रूण की कोरकचर्म का अभिरंजन तथा आरोपण

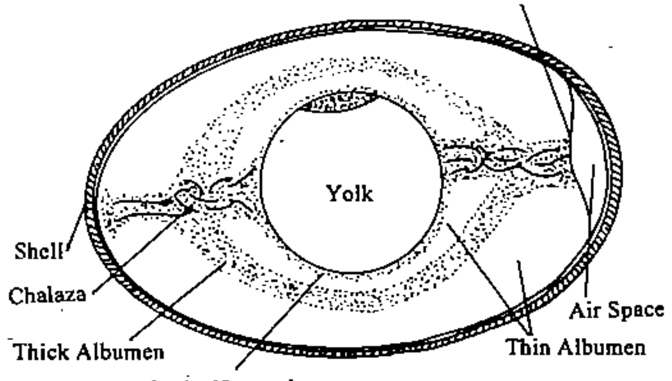
26.1 प्रस्तावना

चिड़ियों तथा सरीसृप (reptiles) के अण्डे भूमि पर दिये जाते हैं। मुर्गी का अण्डा उसके दिये जाने के पूर्व ही निषेचित हो जाता है तथा भ्रूण का परिवर्धन माता के शरीर के बाहर ही होता है। मुर्गी का अण्डा एक कवच (shell) से ढका रहता है तथा गैसों के आदान प्रदान के अतिरिक्त उसका बाहर के वातावरण से कोई संबन्ध नहीं रहता है। मुर्गी का अण्डा, पतीक के रूप में पोषक तत्वों से भरा रहता है जो भ्रूण के परिवर्धन में प्रयुक्त होता है। भ्रूण एक चपटी डिस्क कोरकचर्म (ब्लास्टोडर्म) के रूप में होता है तथा पतीक के ऊपर स्थित रहता है (चित्र 26.1)। पतीक एक पतली पारदर्शक पतीक झिल्ली (vitelline membrane) से चारों ओर घिरे रहते हैं। इस अभ्यास में आप अण्डे में से विकासशील भ्रूण को आरंभिक अवस्था में अलग करके उसको अभिरंजित करें तथा विभिन्न अंगों तथा अंग तंत्रों के विकास का निरीक्षण करें।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप:

- चिक भ्रूण के कोरकचर्म का अभिरंजन और आरोपण कर सकेंगे।
- 33 घंण्टे के चिक भ्रूण की विभिन्न संरचनाओं को पहचान सकेंगे, चिन्हित कर सकेंगे और उनके चित्र बना सकेंगे।



चित्र 26.1: कोरकचर्म की स्थिति को दिखाता हुआ मुर्गी का अण्डा

26.2 आवश्यक सामग्री

38°C पर 30 से 38 घंटे तक उष्मायित (incubated) किये हुए निषेचित अंडे

0.9% लवणीय (सेलाइन) घोल या चिक रिंगर घोल

अंगुलि कटोरा (finger bowl) 200 मि.ली. क्षमता का

पेट्री डिश

वाच ग्लास

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी [द्विनेत्री त्रिविमी (binocular stereoscopic) विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी, को प्राथमिकता दी जाती है]

लैम्प

निस्यंदक पत्र (Filter Paper)

तेज धार वाली कैंची

छानने वाला छलनी चम्मच

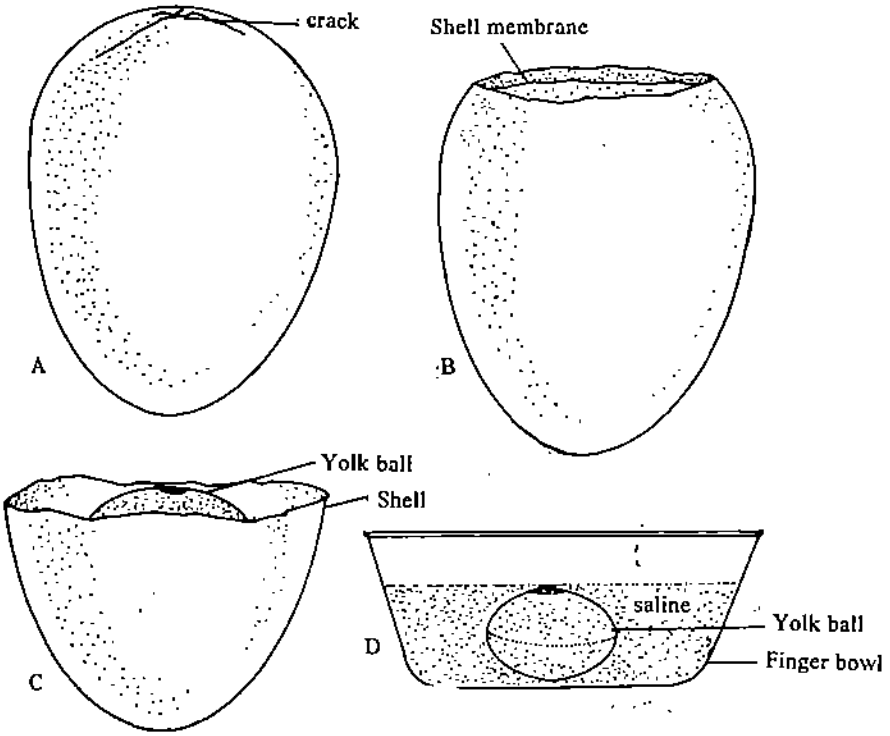
नुकीली चिमटी

पास्तेर पिपेट्स

न्युट्रल रेड अथवा नाइल ब्लू (0.1% घोल)

26.3 प्रयोग विधि

1) चिमटी के कुन्द (blunt) सिरे से अण्डे के कवच का छोटा सा हिस्सा चौड़े सिरे पर से तोड़िए (चित्र 26.2A)। कवच के टुकड़ों को सावधानीपूर्वक हटाइए जिससे कि आप अपारदर्शी कवच झिल्ली को देख सकें (चित्र 26.2B)। इसमें दो कवच झिल्लियां होती हैं जो कि अण्डे के कुन्द सिरे के अतिरिक्त और सब जगह पर एक दूसरे से जुड़ी रहती हैं। कुन्द सिरे पर ये एक छोटी 'हवा भरी हुई जगह को' परिबद्ध किये हुऐ एक दूसरे से अलग रहती हैं। कुन्द सिरे पर हवा भरी जगह होने के कारण, कुन्द सिरे पर से, भ्रूण को क्षति पहुंचाए बिना, अण्डे को खोलना अधिक आसान होता है।



चित्र 26.2: अण्डे में से भ्रूण को निकालने की प्रक्रिया

1) कवच झिल्लियों को चिमटी से अलग कर दीजिए। अब आप को पीले पतीक के साथ पतले एल्बुमिन में तैरते हुए कोरकचर्म दिखेगा।

2) पास्तेर पिपेट की सहायता से जितना संभव हो सके उतना एल्बुमिन निकाल दीजिए।

3) कवच के छेद को चौड़ा करिए जिससे कि आप आसानी से अंडे के सभी अंशों को रिंगर घोल भरे हुऐ अंगुलि कटोरे में डाल सके।

4) 0.1% न्यूट्रल रेड अथवा नाइल ब्लू घोल की बूंद, कोरकचर्म पर डालिए। पाँच मिनट के पश्चात् अतिरिक्त अभिरंजक को पास्तेर पिपेट से सावधानीपूर्वक रिंगर घोल का उत्क्षेपण (squirting) करके धो डालिए।

5) कोरकचर्म की संरचना का विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी, प्राथमिक रूप से द्विनेत्री त्रिविमी-(binocular stereoscopic) विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी द्वारा निरीक्षण कीजिए।

6) कोरकचर्म को बाकी पतीक से अलग करने के लिये, निम्नलिखित प्रक्रिया को अपनाइए।

क) पेट्रीडिश तैयार कीजिए उसमें वाचग्लास की उत्तल (convex) सतह को ऊपर मध्य में रखिये तथा गर्म (37°C) चिक रिंगर तब तक डालिए जब तक कि द्रव ठीक वाचग्लास के शीर्ष को ना ढंक ले।

ख) पीतक झिल्ली (पीतक को ढंके रहने वाली झिल्ली) को अपनी चिमटी द्वारा उठाइए तथा उसको कोरकचर्म के किनारों के आगे से लगभग 3 मि.मी. के गोले में धीरे से काट लीजिए। इससे कोरकचर्म सही सलामत रहता है तथा आप उसे आसानी से अलग कर सकते हैं।

ग) झिल्ली के कटे हुए किनारे को अपनी चिमटी से पकड़िए और सावधानी से उसे पतीक की सतह से उठाकर छानने वाले चम्मच में रख लीजिए। झिल्ली को पकड़े रखिए और चम्मच को रिंगर से बाहर निकालिए तथा झिल्ली व कोरकचर्म को तैयार पेट्रीडिश में स्थानान्तरित कर दीजिए।

घ) सावधानीपूर्वक धीरे से थोड़ा चिक रिंगर घोल कोरकचर्म के ऊपर, कटे हुए किनारों को चिमटी से पकड़कर, पीतक की अधिक मात्रा को हटाने के लिए डालिए। पेट्रीडिश को विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी के नीचे रखिए। कोरकचर्म को ऊपर, वाचग्लास के शीर्ष पर खिसकाइए, जो कि पहले से ही रिंगर से ढका हुआ है । यदि कोरकचर्म वाचग्लास पर से फिसल रही हो, तो उसको निस्यंदक (फिल्टर) पत्र के एक छोटे टुकड़े को एक किनारे के शीर्ष पर रखकर रोका जा सकता है।

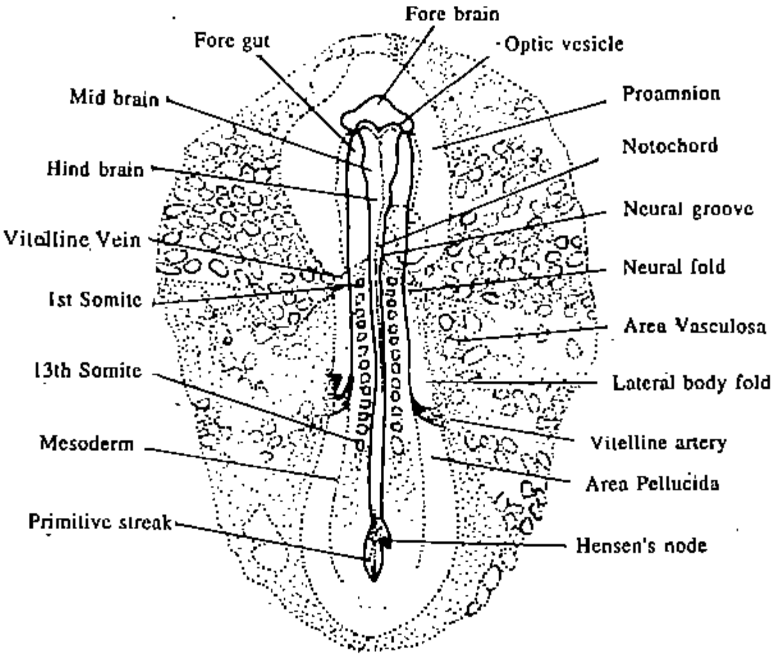
26.4 निरीक्षण

1) कोरकचर्म का सूक्ष्मदर्शी द्वारा निरीक्षण कीजिए। धड़कते (beating) हृदय के सर्वोत्तम दृश्य के लिये, भ्रूण को उसकी अधर सतह को ऊपर रखते हुए, रखिए। भ्रूण को पलटने के लिए, धीरे से कोरकचर्म को वाचग्लास के बाहर खिसकाइए, एक सिरे को अपनी चिमटी से पकड़िए तथा शीघ्रता से उसे पलट दीजिए। फिर उसे वापिस वाचग्लास के ऊपर खिसका दीजिए।

2) भ्रूण अपेक्षाकृत स्पष्ट क्षेत्र से घिरा रहता है, जो पारदर्शी क्षेत्र (area pellucida) कहलाता है जो स्वयं अपारदर्शी क्षेत्र (area opaca) से घिरा रहता है।

3) आप पीतकी परिसंचरण देखेंगे। पहले पीतक से भ्रूण तक पोषक तत्व ले जाने वाली रक्त वाहिनी को देखिये फिर वो रक्त वाहिनों को देखने की कोशिश करिये जो वापिस पतीक के ऊपर स्थित केशिकाओं में आती है।

4) भ्रूण का अध्ययन कीजिए तथा चित्र 26.3 की सहायता से निम्नलिखित संरचनाओं को पहचानिए।



चित्र 26.3: 33 घंटे की उम्र वाला चिक भ्रूण

क) देखिए कि भ्रूण के सिर का क्षेत्र तीन खण्डों में विभाजित है–आगे की ओर दृकआशयों (optic vesicles) के साथ अग्रमस्तिष्क, मध्य में बढ़ा हुआ भाग मध्य मस्तिष्क तथा अन्त में पश्च मस्तिष्क जो कि तंत्रिक नली के रूप में भ्रूण की पूरी लम्बाई में से जाती है।

ख) देखिए कि तंत्रिक मोड़ (neural folds) पीछे की ओर जुड़े हुए नहीं हैं। आदि धारियों के अवशेष (remnants of primitive streak) खुले तंत्रिक मोड़ों के पीछे की ओर देखे जा सकते हैं।

ग) पृष्ठरज्जु (notochord) को एक मोटी धारी के रूप में भ्रूण के मध्यभाग में, तंत्रिक नली के पास तथा आगे की ओर अग्रमस्तिष्क में एक ठोस छड़ के रूप में प्रवेश करते हुए देखिए।

घ) मस्तिष्क तथा तंत्रिक नली के अग्रभाग के नीचे आप नलिकाकार हृदय को देखेंगे, जिसमें अभी तक संरचना विकास (morphogenesis) पूरा नहीं हुआ है।

ड.) बड़ी नाभि-आंत्रयोजनी शिराओं (omphalo mesenteric veins) के द्विपक्षी जोड़े को पीछे के भाग से हृदय में प्रवेश करते हुए देखिए। ये शिराऐं हृदय में, पीतक के क्षेत्र में विकसित होने वाली पीतक वाहिनियों के द्वारा, रक्त लाती हैं।

च) शरीर के मध्य भाग में कायखंडों (somites) को देखिए। ये मध्यत्वचा से व्युत्पन्न होते हैं। ये विभिन्न प्रकार की पेशियों को जन्म देते हैं। भ्रूण की इस उम्र में विकसित हुऐ कायखंडों की संख्या को गिनिए।

छ) आंत्र की रूपरेखा को भी देखिए जो मध्य मस्तिष्क के भाग में दोनों तरफ स्पष्ट रूप से दिखाई पड़ती है।

बोध प्रश्न 1

अपने द्वारा आरोपित किए गये भ्रूण का चिन्हित आरेख बनाइए।

नोट: यदि अंडे को खोलने पर आपको कोरकचर्म ना दिखाई पड़े तथा अण्डे के पतीक में सिर्फ सफेद धब्बा सा दिखे, तब इसका मतलब है कि भ्रूण विकसित होने में असफल रहा है। इस अंडे को फेंक दीजिए तथा दूसरे उष्मायित अंडे का उपयोग करिए। अण्डे को फेंकने से पहले अपने काउन्सलर से भी जांच जरूर करवा लीजिए।

27 तैयार स्लाइडों के द्वारा चिक भ्रूणों का अध्ययन

27.1 प्रस्तावना

अभ्यास 26 में हमने 48 घंटे तक के चिक (कुक्कुट) भ्रूण के आरम्भिक कोरकचर्म (blastoderm) के पूर्ण आरोपण तैयार करने की विधि का वर्णन किया था। 48 घंटे के बाद भ्रूण की मोटाई बढ़ जाती है तथा तब आपके लिये पूर्ण आरोपण तैयार करना आसान नहीं रहता है। हालांकि पूर्ण आरोपणों की तैयार स्थायी स्लाइडों तथा भ्रूणों के काट/सेक्शन का प्रयोग चिक के भ्रूण विज्ञान के अध्ययन के लिये किया जा सकता है। इस अध्याय में आप सूक्ष्मदर्शी के द्वारा कोरक बिम्ब (blastodisc) के विभेदन से लेकर अंगों तथा अंगतंत्रों के विकसित होने तक की भ्रूण के विकास की अवस्थाओं का निरीक्षण करेंगे। चिक भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं को दिखाने वाली स्लाइडों का ध्यानपूर्वक निरीक्षण कीजिए। अपने निरीक्षणों का यहां हमारे द्वारा दिये गये प्रत्येक अवस्था के वर्णन से मिलान कीजिए तथा अपनी रिकार्ड नोटबुक में साफ और चिन्हित आरेख बनाइये। चिक के भ्रूण विज्ञान का अध्ययन आपको आरम्भिक भ्रूणीय कोशिकाओं से ऊतकों, अंगों तथा अंग तंत्रों के विभेदन को समझने में सक्षम बनायेगा। पुनः इस प्रकार का अध्ययन सिर्फ विकास की एक निश्चित अवस्था तक ही सम्भव है, जैसे 96 से 120 घंटे तक।

उद्देश्य

इस अध्याय को समाप्त करने के पश्चात् आप सक्षम होंगे:

- चिक भ्रूण के विकास की विभिन्न अवस्थाओं को पहचानने में
- विकासशील भ्रूण की विभिन्न अवस्थाओं को आरेखों द्वारा समझाने में
- चिक भ्रूण के अंगों तथा अंग तंत्रों के उन्नतशील विकास को ज्ञात करने में।

27.2 आवश्यक सामग्री

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी

संयुक्त सूक्ष्मदर्शी

चिक भ्रूण की विभिन्न अवस्थाओं के पूर्ण आरोपणों तथा काटों/सेक्शनों की तैयार स्लाइडें

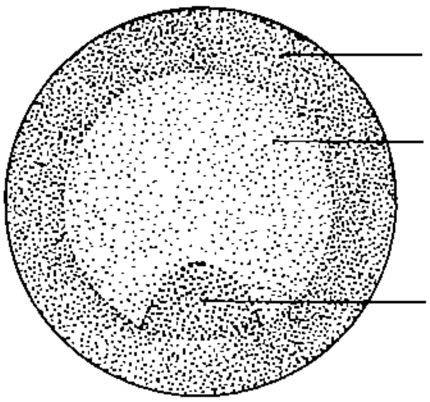
27.3 निरीक्षण

क) चिक भ्रूण - 4 घंटे का पूर्ण आरोपण

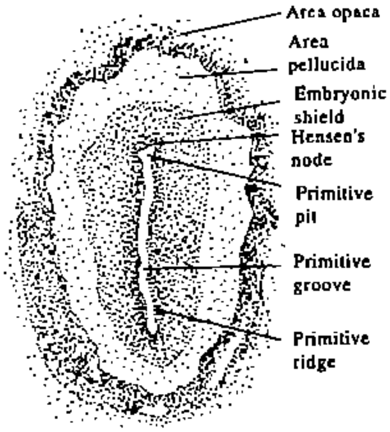
इस स्लाइड में आप कोरकबिम्ब का पारदर्शी क्षेत्र (area pellacida) तथा अपारदर्शी क्षेत्र (area opaca) में विभेदन का निरीक्षण करेंगे। आप यह भी नोट कर सकते हैं कि पारदर्शी क्षेत्र का एक चौथाई हिस्सा मोटा हो गया है। यह भविष्य में बनने वाले भ्रूण के पुच्छ सिरे (caudal end) को चिन्हित करता है (चित्र 27.1)। 7 से 8 घंटे के पश्चात् ये मोटाई और लम्बी हो जाती है तथा आदि रेखा (Primitive streak) की शुरुआत को प्रदर्शित करती है। आरेख बनाइये तथा उसे चिन्हित कीजिए।

ख) चिक भ्रूण -16 घंटे का पूर्ण आरोपण

16 घंटे के भ्रूण में (चित्र 27.2) आप स्पष्ट आदि रेखा को देख सकेंगें। इस अवस्था में भ्रूण आदि रेखा अवस्था होता हुआ अभिलक्षित (characterized) होता है। स्थायी तथा अभिरंजित (stained) स्लाइड में भ्रूण मध्य खाँच, जो कि *आदि खाँच* कहलाती है, मोटी हो गई *आदि कटकों* का बना होता है। भ्रूण के शीर्ष छोर पर (सिर का सिरा) पास-पास बंधी हुई कोशिकाऐं एक मोटा क्षेत्र बनाती हैं, जो हेन्सन्स नोड कहलाती हैं। पारदर्शी क्षेत्र का वह भाग जो आदि रेखा के साथ लगा होता है, अधिक मोटा दिखता है तथा भ्रूणीय क्षेत्र अथवा भ्रूणीय कवच/शील्ड बनाता है। ध्यान दीजिए कि पारदर्शी क्षेत्र दीर्घवृत्तीय आकार (elliptical shape) ले लेता है। लंबी हुई आदि रेखा भविष्य में बनने वाले भ्रूण के शरीर के लम्ब अक्ष को प्रदर्शित करती है। वह सिरा जो आरेखीय रूप से हेन्सन्स नोड के विपरीत होता है, वह भ्रूण का पुच्छ सिरा है।



चित्र 27.1: चिक भ्रूण, उष्मायन (incubation) के 4 घंटे पश्चात् (पूर्ण आरोपण)।

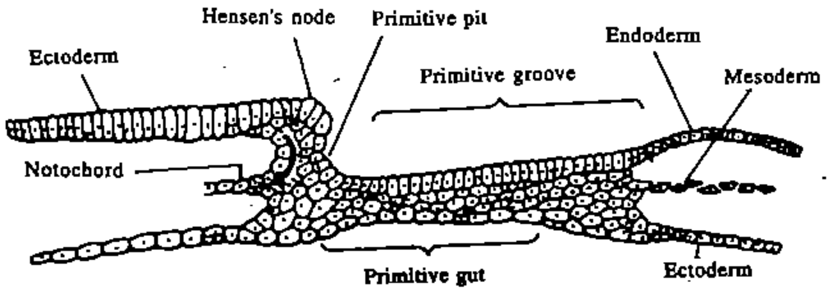


चित्र 27.2: चिक भ्रूण का पूर्ण आरोपण, उष्मायन (incubation) के 16 घंटे पश्चात्।

संरचना विकास/मोर्फोजिनेसिस एक ग्रीक शब्द है जिसका अर्थ है संरचना अथवा प्रारूप का बनना, मोर्फोस (Morphos) संरचना अथवा प्रारूप जेनेसिस (genesis) उत्पत्ति।

ग) 16 घंटे के भ्रूण का अनुदैर्ध्य काट

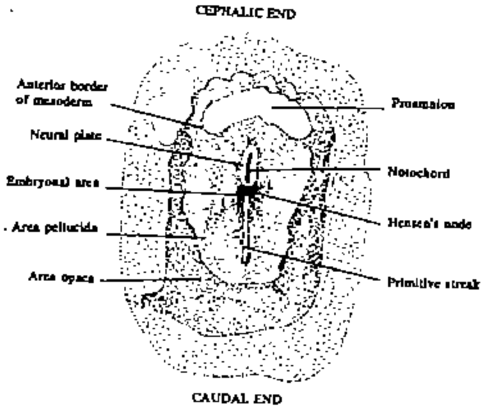
16 घंटे के भ्रूण से होता हुआ अनुदैर्ध्य काट आदि रेखा के बनने के तत्काल बाद की अवस्था को प्रदर्शित करता है तथा यह पृष्ठरज्जु (notochord) बनाने के लिये कोशिकाओं की संरचनाविकास गति के आरंभ होने को भी दिखाता है। सेक्शन/काट, बाहयत्वचा, हेन्सन्स नोड, आद्य गर्त (primitive pit), आदि खाँच, पृष्ठरज्जु ताथा आध आंत (primitive gut) को दर्शाता है। मध्यत्वचा का प्रसार बाहयत्वचा तथा अंत:त्वचा के मध्य दोनों तरफ रहता है (चित्र 27.3)।



चित्र 27.3 चिक भ्रूण, 16 घंटे के भ्रूण का अनुदैर्ध्य काट।

घ) चिक भ्रूण 18 घंटे का पूर्ण आरोपण

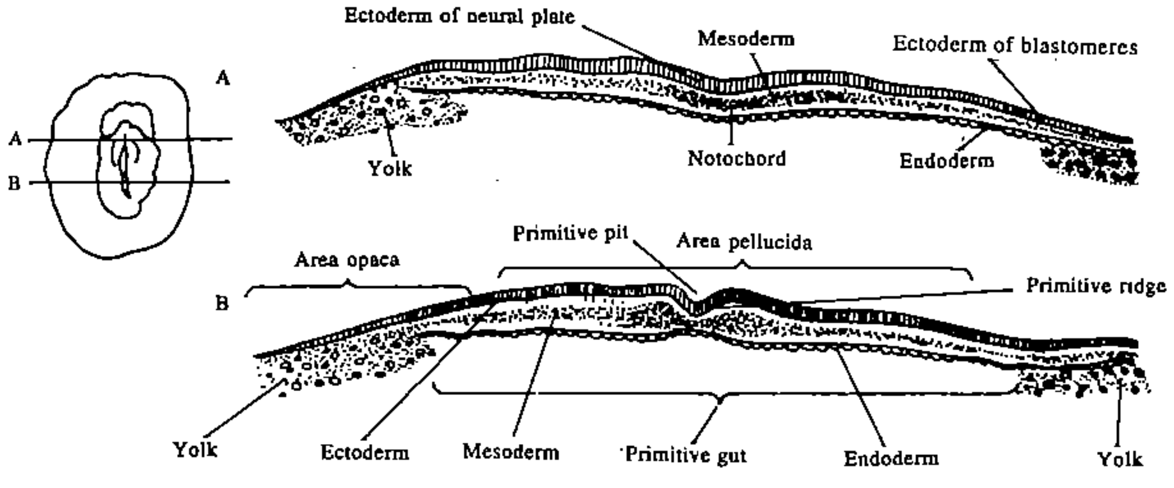
18 घंटे के भ्रूण में आप देखेंगे कि पृष्ठरज्जु एक सुस्पष्ट (conspicuos) संरचना बनाने के लिये स्पष्ट रूप से लंबी हो जाती है। पृष्ठरज्जु शीर्ष क्षेत्र की ओर हेन्सन्स नोड से मध्य में बढ़ती है। उष्मायन के इस काल का भ्रूण, *सिर प्रवर्ध अवस्था* (Head process stage) में कहलाता है। पृष्ठरज्जु को घेरे हुए *तंत्रिका पट्टिका* (neural plate) विकसित हो जाती है। गहरे रंग का, परिधि की ओर अपारदर्शी क्षेत्र, अन्दर की ओर पारभासी (transluscent) पारदर्शी क्षेत्र तथा मध्य भ्रूणीय क्षेत्र स्पष्ट रूप से दिखाई पड़ते हैं। बाहर के क्षेत्र में आप पारदर्शी क्षेत्र का एक छोटा और अधिक पारभासी भाग देखेंगे जो *प्राक्उल्व* (proamnion) कहलाता है। आदि रेखा, पारदर्शी क्षेत्र के मध्य में, पीछे के आधे भाग में रहती है। आप देखेंगे कि तंत्रिका पट्टिका तथा आदि रेखा हेन्सन्स नोड के द्वारा विभाजित रहती है।



चित्र 27.4:चिक भ्रूण का पूर्ण आरोपण, उष्मायन के 18 घंटे पश्चात्

च) 18 घंटे के भ्रूण का अनुर्दर्ध्य काट

18 घंटे के उष्मायित भ्रूण का अनुदैर्ध्य काट जनन स्तरों (germ layers) की विकसित आंतरिक संरचना को दिखाता है। वाह्यत्वचा में ऊर्ध्वाधर/खड़ी कोशिकाऐं होती हैं, जबकि मध्यत्वचा की कोशिकाऐं घने कोणीय विन्दुओं द्वारा प्रदर्शित होती है। अंत:त्वचा विन्दुचित्रण (stippling) द्वारा प्रदर्शित होती है जोकि एक ही रेखा द्वारा पोषित होती है। आप स्लाइड में (चित्र 27.5A) पतीक, तंत्रिका पट्टिका की बाह्य त्वचा, पृष्ठरज्जु, मध्यत्वचा, तथा कोरकचर्म की बाह्य त्वचा व अंत:त्वचा को देखेंगे। आप पतीक, अंत:त्वचा, आद्यगर्त, आदि खाँच, मध्यत्वचा तथा आध आंत को भी देख सकते हैं (चित्र 27.5B)।

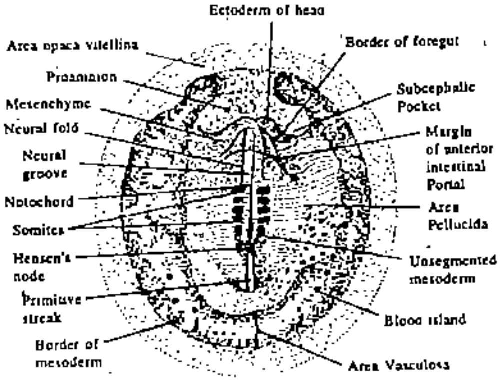


चित्र 27.5:उष्मायन के 18 घंटे पश्चात चिक भ्रूण का अनुदैर्ध्य काट।

छ) चिक भ्रूण 24 घंटे का पूर्ण आरोपण

24 घंटे के चिक भ्रूण में शीर्ष क्षेत्र में तेजी से वृद्धि होने के कारण वह क्षेत्र उत्कृष्ट रूप से दिखाई पड़ता है और आगे की ओर प्राकउल्व क्षेत्र के ऊपर लटकता हुआ बढ़ता है। शीर्ष क्षेत्र जो कोरकचर्म से अलग निकला हुआ दिखता है, अब इसे सही तौर पर सिर कहा जा सकता है। सिर तथा कोरकचर्म के बीच में बन गई जगह अध: शीर्ष कोटरिका (sub cephalic pocket) कहलाती है। मध्यरेखा में

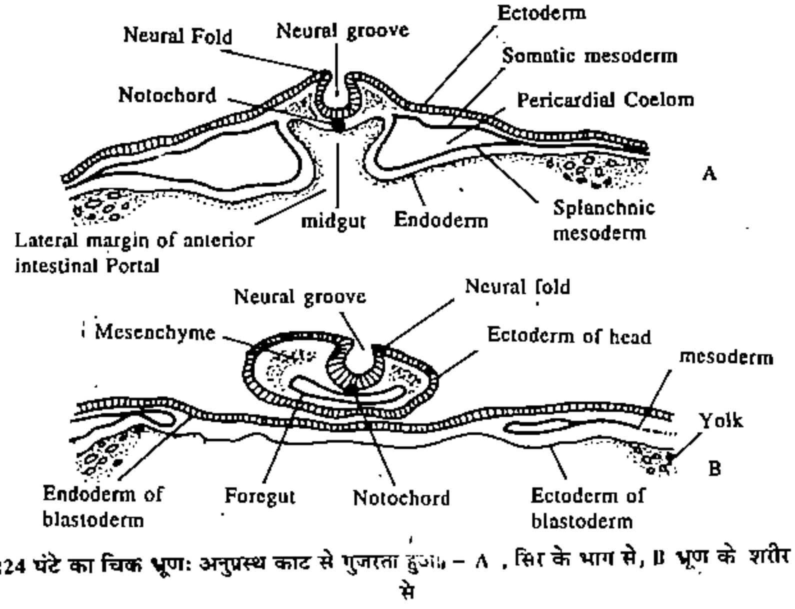
पृष्ठरज्जु दिखाई पड़ती है। यह पुच्छ की ओर अपने उत्पत्ति स्थल के पास बड़ी होती है, उसके बाद वह सिरनुमा हो जाती है। तंत्रिक पट्टिका अपेक्षाकृत अधिक स्पष्ट रूप से दिखाई पड़ती है। तंत्रिका वलन (neural folds) गहरी पट्टियों के जोड़े जैसे दिखाई देते हैं। शिर्ष सिरे पर, तंत्रिका खाँच अधिक गहरी होती है तथा तंत्रिका वलन भी उसी के अनुसार पुच्छ भाग की अपेक्षा अधिक स्पष्ट होते हैं। मध्य रेखा में कायखंडों (somites) के चार जोड़े दिखाई पड़ते हैं। आदिरेखा आकार में क्रमशः घटती जाती है। अग्रांत्र (fore gut) भी बन जाता है। आंत्र का वह भाग जो अंग्रात्र के पुच्छ भाग की ओर होता है वह मध्यांत्र (midgut) कहलाता है तथा मध्यांत्र से अग्रांत्र में खुलने वाला छिद्र अग्र आंत्र निवाहिका (anterior intestinal portal) कहलाता है। इन संरचनाओं के अतिरिक्त, अपारदर्शी क्षेत्र पतीकी/विटेलिन, पारदर्शी क्षेत्र, प्राक्उल्व, अखंड (unsegmented) मध्यत्वचा, हैन्सन्स नोड, संवहनीय क्षेत्र (area vasculosa) तथा रक्त द्वीप (blood islands) भी दिखाई देते हैं (चित्र 27.6)।



चित्र 27.6: चिक भ्रूण, 24 घंटे का (पूर्ण आरोपण)।

ज) 24 घंटे के भ्रूण का अनुप्रस्थ काट

सिर के भाग से गुज़रता हुआ अनुप्रस्थ काट (चित्र 27.7A) यह दर्शाता है कि एक पूर्ण नलिका बनाने के लिये तंत्रिका पट्टिकायें वलित हो जाती हैं। तंत्रिका वलन के नीचे पृष्ठरज्जु होता है। सेक्शन में दिखाई पड़ने वाली अन्य संरचनाएं मध्योतक (mesenchyme), अग्रांत्र, सिर की बाह्य त्वचा, मध्यत्वचा तथा अंतःत्वचा है। चिक भ्रूण के शरीर के मध्यभाग से गुज़रता हुआ अनुप्रस्थ काट (चित्र 27.7B) कायखंडों का निर्माण तथा मध्यत्वचा में आये बदलावों को दिखाता है। मध्यत्वचा, पृष्ठ मध्यत्वचा (dorsal mesoderm), मध्य मध्यत्वचा (intermediate mesoderm) तथा पार्श्व मध्यत्वचा (lateral mesoderm) में विभक्त हो जाती है। अन्य संरचनाएं जो दिखाई पड़ती है वे बाह्यत्वचा, अंतःत्वचा, अग्र आंत्र निवाहिका का पार्श्व किनारा, मध्यांत्र तथा हृदयावरणी प्रगुहा (pericardial coelom) हैं।

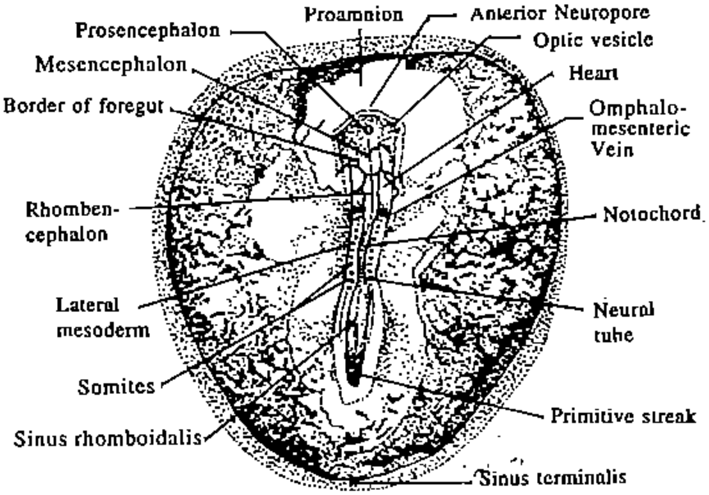


चित्र 27.7: 24 घंटे का चिक भ्रूण: अनुप्रस्थ काट से गुजरता हुआ – A, सिर के भाग से, B भ्रूण के शरीर के मध्य भाग से

झ) चिक भ्रूण, 33 घंटे का पूर्ण आरोपण

33 घंटे का चिक भ्रूण केन्द्रीय तंत्रिका तंत्र तथा संवहन तंत्र के निर्माण के कुछ प्रमुख चरणों को

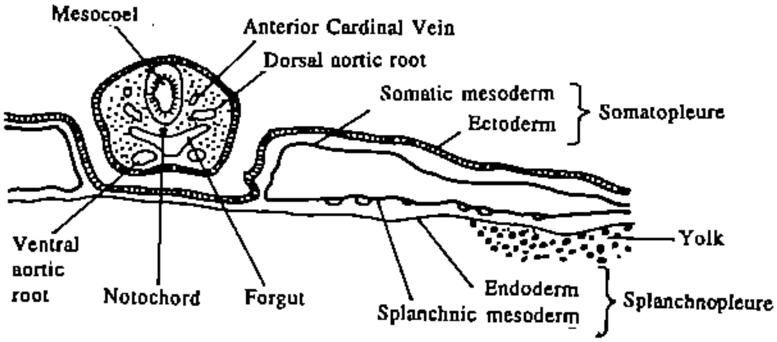
दिखाता है। आप मस्तिष्क के विकास में कुछ खास बदलावों को देखेंगे। देखिए कि मस्तिष्क प्रोसेनसिफेलॉन (अग्र-मस्तिष्क) मेसेनसिफेलान (मध्य) मस्तिष्क रमबेनसिफेलॉन (पश्च मस्तिष्क) में विभेदित हो जाता है। द्रक् आशय (optic vesicles) अग्रमस्तिष्क के उद्वर्ध (outgrowth) के पार्श्व जोड़े के रूप में बन जाते हैं। द्रक्आशय शीघ्र ही बढ़कर सिर की पूरी चौड़ाई को भर देते हैं। कीपक (infundibulum) प्रोसेनसिफेलॉन के फर्श पर बन जाता है। हृदय का मध्य भाग काफी चौड़ा हो जाता है तथा दांई ओर को मुड़ जाता है। कायखंडों के बारह जोड़े बन जाते हैं। अग्र नाभि-आंत्र योजनी (amphalomesentric) शिराएं विकसित हो जाती हैं। आदि रेखा तंत्रिका नलिका के लंबी हो जाने के कारण छोटी हो जाती है। प्राक्उल्व, तंत्रिका नलिका, पृष्ठ रज्जु, चतुष्कोणीय कोटर (sinus rhomboidalis) तथा अंत:कोटर (sinus terminalis) भी उपस्थित होते हैं (चित्र 27.8)।



चित्र 27.8:चिक भ्रूण, 33 घंटे का (पूर्ण आरोपण)।

अ) 33 घंटे के भ्रूण का अनुप्रस्थ काट

33 घंटे के भ्रूण का अनुपस्थ काट (चित्र 27.9) बाह्य वचा, अग्रगुहा (prosocoel), द्रक्गुहा (opticoel), मध्योतक (mesenchyme), कायिक मध्यत्वचा, अंतरंग मध्यजनस्तर (splanchnic mesoderm) तथा अंत:त्वचा को दिखाता है। काट मध्य संरचनाओं जैसे, मध्यगुहा, अग्र प्रमुख शिरा (anterior cardinal vein), महाधमनी मूल (aortic root), कायस्तर (somatopleure), भ्रूण बाह्य प्रगुहा (extraembryonic coelom), अंतरंग स्तर (splanchnopleure), अग्रांत्र, पृष्ठरज्जु तथा अधर महाधमनी मूल को दिखाती है।

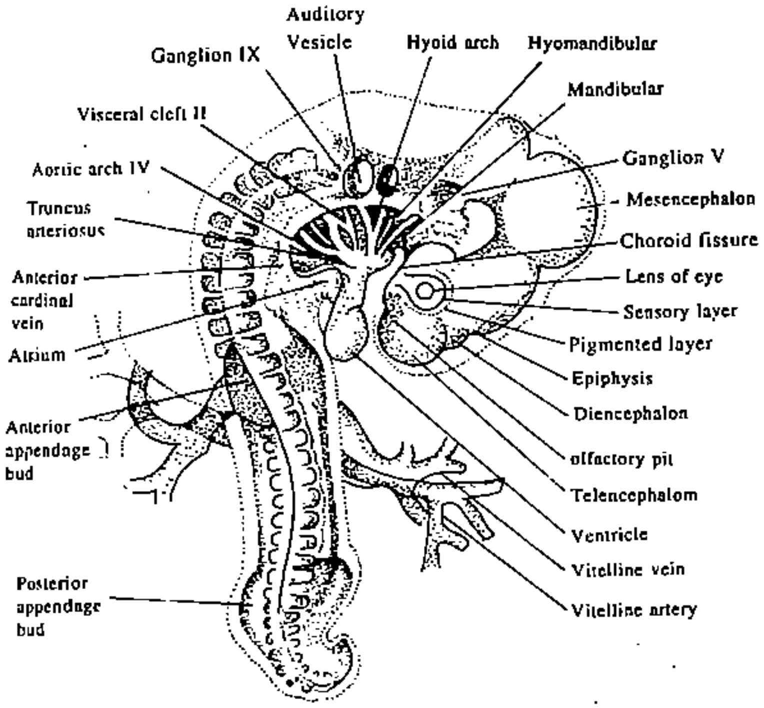


चित्र 27.9: 33 घंटे के चिक भ्रूण का अनुप्रस्थ काट।

आ) चिक भ्रूण 72 घंटे का

72 घंटे का भ्रूण (चित्र 27.10) पूर्ण रूप से मरोड़/ऐंठन (torsion) से प्रभावित रहता है तथा पूरा शरीर 90° के कोण से मुड़ा रहता है। पीछे की ओर हृदय के स्तर तक ऐंठन/मरोड़ पूर्ण होती है, परन्तु भ्रूण का पूँछ का भाग अपनी ओर नहीं मुड़ा रहता है। कपाल तथा ग्रैव आनमनों (cervical flexures) के कारण, भ्रूण का लंब अक्ष मध्यमस्तिष्क तथा गर्दन के हिस्से में लगभग समकोणीय मोड़ को दर्शाता है। मध्य काया अवतल (concave) हो जाती है। अंतरंग चापें विकसित हो जाती हैं। चिनुक चाप (mandibular arch) मुख के गढ्ढे की पीछे की परिसीमा बनाती है तथा अधिक स्पष्ट हो जाती है। नासा गर्त (nasal pits) छिछले गढ्ढों जैसे

दिखाई पड़ते हैं। शिरोभवन (cephalization) चलता रहता है। टेलेनसिफेलॉन/उन्मस्तिष्क भी विकसित हो जाता है। आँख में लेन्स, संवेदी तथा वर्णकित सतहें विभेदित हो जाती हैं। कायखंडों की संख्या बढ़कर 36 जोड़े हो जाती है । पतीकी/विटेलिन धमनीयां तथा पतीक/विटेलिन शिराएं भी दिखाई पड़ने लगती हैं।

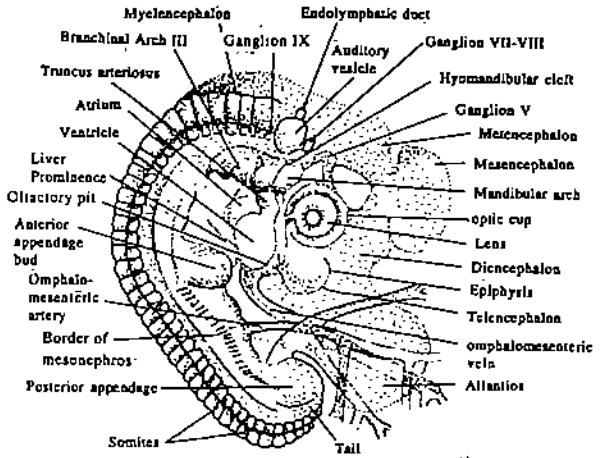


चित्र 27.10:चिक भ्रूण, 72 घंटे का (पूर्ण आरोपण) ।

ङ) चिक भ्रूण 96 घंटे का

96 घंटे के चिक भ्रूण में (चित्र 27.11), सम्पूर्ण शरीर 90° के कोण पर मुड़ जाता है तथा भ्रूण पतीक की ओर अपने बाँये भाग पर स्थित रहता है। 96 घंटे की समाप्ति पर देहवलन भ्रूण को काट देते हैं। जिससे कि वह पतीक से सिर्फ एक पतले वृंत (stalk) द्वारा जुड़ा रह जाता है। पतीक वृंत शीघ्र ही लंबा हो जाता है, जिससे भ्रूण पहले मध्य-पृष्ठ भाग में तथा उसके बाद पृष्ठ भाग में सीधा हो जाता है।

कपाल, ग्रैव, पृष्ठ तथा पुच्छ आनमनों में लगातार वृद्धि के परिणामस्वरूप भ्रूण अपने ऊपर ही मुड़ जाता है जिससे उसकी वास्तविक सीधी लंब अक्ष अंग्रेजी वर्णमाला 'C' के आकार की हो जाती है तथा उसके सिर और पूँछ के पास-पास स्थित हो जाते हैं। द्रक् चषक (optic cup) अधिक विकसित लैंस को दर्शाता है। अंतर्लसीका वाहिनी (endolymphatic duct) श्रवण आशय (auditory vesicle) से निकलती है। अंतरंग चापें बहुत अधिक मोटी हो जाती हैं। अनुबंध/उपांग कलिकाएं (appendage buds) तेज़ी से आकार में बढ़ने लगती हैं तथा लंबी हो जाती हैं। कायखंडों की संख्या बढ़कर 41 जोड़े हो जाती है। अपरापोषिका (allantois) भी उपस्थित हो जाती है। नाभि आंत्र-योजनी धमनी (omphalomesentric artery) तथा नाभि आंत्र योजनी शिरा भी विकसित हो जाती है।



चित्र 27.11:चिक भ्रूण, 96 घंटे का (पूर्ण आरोपण)।

28 अनुकूलनशीलता को विकसित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को प्रदर्शित करते हुए एक प्रयोग

28.1 प्रस्तावना

एल एस ई- 07 पाठ्यक्रम की इकाई 11 और 12 (वर्गिकी और विकास) में आपने विकास की प्रक्रिया में प्राकृतिक चयन की भूमिका के बारे में पढ़ा होगा। समष्टि में प्राकृतिक चयन उन युग्म विकल्पों को बढ़ावा देता है जो धारण करने वाले व्यष्टि को अनुकूल होने में लाभ पहुंचाता है । इन्हीं इकाइयों में आगे *बिस्टन बिटूलेरिया और* दात्र कोशिका अरक्तता (sickle cell anaemia) के उदाहरण देकर हमने अनुकूलनशीलता को विकसित करने में प्राकृतिक चयन की सकारात्मक भूमिका को भी समझाया है। शायद आपको याद हो कि इंग्लैंड में औद्योगिक क्रांति के बाद के काल में कालिख से घिरे हुए पेड़ों पर रहने वाली अतिकृष्ण (काले गहरे रंग के) प्रकार के *बिस्टन बिटूलेरिया* की संख्या में वृद्धि हो गई थी जबकि औद्योगिक क्रांति के पहले के काल में लाइकेन्स से घिरे पेड़ों पर अकृष्ण (चितकबरे धूसर रंग) प्रकार के *बिस्टन बिटूलेरिया* की संख्या अधिक थी। इसका कारण यह है कि मेलेनिक्स ऐसे पर्यावरण में आसानी से परभक्षण से बच जाते हैं जहां वे अधिक अनुकूलित हैं। प्राकृतिक चयन जनसंख्या में से उन लक्षणों को बढ़ावा देता है जो कि किसी पर्यावरण के लिए बेहतर अनुकूलित होते हैं। अफ्रीकी जनसंख्या में दात्र कोशिका युग्म विकल्पी विषम युग्मी अवस्था में (Hb^A/Hb^A -सामान्य समयुग्मी जीनी संरचना, Hb^A/Hb^S -विषमयुग्मी जीनी संरचना तथा Hb^S/Hb^S - दात्र कोशिका अरक्तता जीनी संरचना) पाई जाती है। विषम युग्मजी में न तो मलेरिया और न ही दात्र कोशिका अरक्तता की बीमारियां होती हैं। ये ऐसे पर्यावरण में रहने के लिए अधिक अनुकूलित होते हैं, जहां कि ये दोनों जानलेवा बीमारियां पाई जाती हैं। इस सरल अभ्यास में आप समष्टि में उपयोगी अनुकूलनशीलता को विकसित करने में चयन प्रक्रिया की संभावित भूमिका के बारे में जानेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप:

- प्राकृतिक चयन की कल्पना को साधारण युक्ति द्वारा समझा सकेंगे।
- यह चर्चा कर सकेंगे कि अनुकूलनों का उद्‌भव अयादृच्छिक प्रक्रिया है और
- प्रयोग में वर्णित उदाहरणों को वास्तविक जीवन स्थितियों से संबंध कर सकेंगे ।

28.2 आवश्यक सामग्री

सफेद कार्ड बोर्ड के 2 सेमी वर्ग के 260 टुकड़े

प्लास्टिक के दो कटोरे

28.3 प्रयोग विधि

अंग्रेजी वर्णमाला (A से Z) के प्रत्येक अक्षर को 10 टुकड़ों पर लिखें। इसका मतलब आपके पास 10A, 10B, 10C होंगे और इसी क्रम से 10Z तक लिखे हुए वर्गाकार 260 अक्षर होंगे।

स्थिति I

1. सभी 260 कार्डों को प्लास्टिक के कटोरे में डालिए और अच्छी तरह मिलाइये। आपका कार्य उन कार्डों में से एक बार में किन्हीं तीन कार्डों को निकाल कर उनसे एक अर्थपूर्ण शब्द बनाना है। मान लीजिए हमें CAT शब्द बनाना है।
2. अगर CAT शब्द ना बन पाये तो उन तीनों कार्डों को दूसरे कटोरे में फेंक दीजिए। आप इस प्रक्रिया को तब तक जारी रखिये जब तक कि शब्द CAT ना बन जाये। आप पायेंगे कि तीन अक्षर C, A और T शीघ्र ही, शब्द CAT के बने बिना ही विलुप्त हो जायेंगे। इसकी बजाय आप सभी प्रकार के अर्थहीन संयोजन जैसे ALC, TXP, BYA आदि बना पायेंगे। 86 बार

निकालने के बाद, कटोरा लगभग खाली हो जायेगा और उसमें सिर्फ दो कार्ड ही बचे रहेंगे, और शब्द CAT तब तक भी नहीं बन पायेगा। किसी चमत्कार को छोड़कर, आप अपना चाहा हुआ शब्द सैंकड़ों बार कार्ड निकालने के बाद भी नहीं बना पायेंगे।

अनुकूलनशीलता को विकसित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को प्रदर्शित करते हुए एक प्रयोग

स्थिति II

अब हम खेल के नियमों को थोड़ा सा बदल कर देखें। जब आप तीन अक्षरों को निकालें और यदि उनमें आपके द्वारा चाहे गये अक्षर C, A और T किसी और संयोजन में दिखाई पड़े, तो इन अक्षरों को वापिस उसी कटोरे में डाल दें और सिर्फ बाकि अक्षरों को ही दूसरे कटोरे में फेंके। मान लीजिए आपने X, A और P निकाले, तो A को वापिस पहले कटोरे में डाल दीजिये तथा X और P को अलग कर दीजिये, और अगर आप T, U और C निकालें, तो T और C को वापिस पहले कटोरे में डाल दें और U को अलग कर दें। इस प्रक्रिया से C, A और T अक्षर, कटोरे में जमा होने शुरू हो जायेंगे, साथ ही अन्य अक्षर धीरे-धीरे विलुप्त होते जायेंगे। जल्दी ही आपके पास 10C, 10A अक्षर 10T कटोरे में होंगे। सामान्य रूप से कुछ ही बार कार्ड निकालने के बाद आपको अर्थपूर्ण शब्द CAT मिल जायेगा। सही शब्द पाने के लिए आपको कितने बार कार्ड निकालने पड़े उनकी संख्या को नोट करें।

स्थिति III

अब हम खेल के नियमों में एक और बदलाव करें। जब आप तीन अक्षरों का संयोजन जैसे Q, T और C, A,W और T आदि निकालें, तो गैर जरूरी अक्षरों जैसे Q और W और को फेंक दें, जैसा कि आपने पहले किया था । लेकिन जरूरी अक्षरों को वापिस कटोरे में रखने से पहले, उन्हें एक साथ बांध दें। इस कार्य के लिए जेम क्लिप का उपयोग करें। इस प्रकार T और C, A, और T तथा C और T अक्षर एक साथ बंधेंगे। अब आप जब शब्द CAT के अक्षरों को कटोरे से निकालेंगे, तो आप इस कार्य को कम संख्या में कार्डों को निकाल कर ही सफल हो जायेगें। इस निरीक्षण को भी रिकार्ड कीजिए ।

28.4 निष्कर्ष

इन ऊपर दी गई तीन स्थितियों से आप क्या निष्कर्ष निकालेंगे? स्थिति I में प्राकृतिक चयन कार्य नहीं कर रहा है। अक्षर C, A और T का अन्य अक्षरों की अपेक्षा कोई अधिक लाभ नहीं है। जिसके परिणाम स्वरूप शब्द CAT यानी अनुकूलन नहीं प्रगट हो रहा है।

स्थिति II में, प्राकृतिक चयन कार्य कर रहा है। अक्षर C,A और T जो कि अनुकूलन में सहयोग कर रहे हैं, वे जनसंख्या में ही रखे गये हैं। दूसरे शब्दों में, इन तीनों अक्षरों का अन्य अक्षरों की अपेक्षा अधिक पक्ष लिया गया है। यह तथ्य कि आप इन तीनों अक्षरों को वापिस कटोरे में रखें, जनसंख्या में अनुकूलन को धारण करने का प्रतीक स्वरूप है। प्राकृतिक चयन के प्रभाव में, अर्थपूर्ण अनुकूलन यहां पर अर्थपूर्ण शब्द (CAT) उत्पन्न होता है।

स्थिति III में दो आवश्यक अक्षरों को जब भी निकाला, आपने उन्हें साथ बांध दिया (जैसे कि C और T तथा A और T) ये एक साथ बांधना एक अन्य प्रक्रिया को सार्थक करता है, जो कि प्राकृतिक रूप से जनसंख्या में पाई जाती है-एक प्राकृतिक आनुवंशिक घटना जो कि प्रतिलोमन या व्युत्क्रमण कहलाती है। अपनी एल एस ई - 03 पाठ्यक्रम (खण्ड 2) की इकाई 9 को याद कीजिए कि प्रतिलोमन या व्युत्क्रमण जीन विनिमय के निरोधक (supressor) होते हैं। प्रतिलोमन या व्युत्क्रमण, इसी वजह से अनुकूलित जीनों को कसे बन्ध में एक साथ बांधे रखते हैं। एक साथ बंधे हुए दो अक्षर C और T तथा A और T संबध जीन्स को दर्शाते हैं और अन्य अक्षरों के साथ पुनर्संयोजन नहीं कर पाते हैं।

1. तीनों स्थितियां एक साथ ध्यान में रखे जाने पर क्या दर्शाती हैं?

....

....

....

2. व्युत्क्रमण किसलिए जीन विनिमय के निरोधक समझे जाते हैं?

29 उपयोगी अनुकूलनशीलता को रखने और अनुपयोगी अनुकूलनों को निष्कासित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को दर्शाते हुए एक प्रयोग

29.1 प्रस्तावना

पिछले प्रयोग में हमने अनुकूलनों को विकसित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को दर्शाया था। इसका मतलब है कि ऐसी विभिन्नताऐं जो कि पर्यावरण के लिए कम अनुकूल होती है वे धीरे-धीरे समष्टि में से कम होती जाती हैं। *बिस्टन बिटुलेरिया* के उदाहरण में अनुपयुक्त पर्यावरण में अकृष्ण (चितकबरे धूसर रंग - non melanics) की संख्या कुछ काल के बाद क्षीण हो गई, क्योंकि वे आसानी से चिड़ियों द्वारा देख लिए जाते थे और परभक्षण का शिकार हो जाते थे। लाइकेन्स से आच्छादित पेड़ों पर निवास करने वाले अतिकृष्ण (रूप रंग में काले) के साथ भी यही बात सच थी और इसी कारण वे भी चिड़ियों के द्वारा आसानी से देख लिऐ जाते थे। किसी युग्मविकल्पी का निष्कासन तब तक नहीं होता है जब तक कि जीविता की दृष्टि से कोई दूसरा बेहतर युग्मविकल्पी उपस्थित हो। ऐसे वातावरण में जहां पर मलेरिया ना होता हो वहां पर दात्र कोशिका युग्म विकल्पी (sickle cell allele) की आवृत्ति बहुत कम होती है। यह भी सच है कि चयन प्रक्रिया आबादी में से पूरी तरह से ना चाहे जाने वाले युग्म विकल्पी को नहीं हटा सकती क्योंकि विकास के अन्य कारक जैसे कि उत्परिवर्तित युग्मविकल्पी को उत्पन्न करते रहते हैं। यह प्रयोग दिये गये वातावरण में बेहतर अनुकूलित अथवा कम अनुकूलित युग्म विकल्पियों की आवृत्तियों को क्रमशः बढ़ाने अथवा घटाने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को दर्शाता है।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के पश्चात आप:

- यह दर्शाने में समर्थ हो सकेंगे कि प्राकृतिक चयन किसी युग्म विकल्पी को पूर्णतः (100%) संवंर्धित नहीं करता चाहे वह भली प्रकार पर्यावरण के अनुकूल हो और
- यह विवेचन कर सकेंगे कि अनुकूलित युग्म विकल्पियों की बहुत कम आवृति समष्टि में पायी जाती है।

29.2 आवश्यक सामग्री

प्लास्टिक के बड़े आकार वाले मोती (लाल, काले, नीले और हरे रंग के प्रत्येक रंग के 500)

एक प्लास्टिक का कटोरा

खुरदरे कपड़े का सफेद तोलिया

29.3 प्रयोग विधि

1. प्लास्टिक के कटोरे में 2000 मोतियों को (नीले, लाल, हरे और काले, प्रत्येक रंग के 500) रखिये और अच्छी तरह मिलाइये।
2. 2000 के योग में से 100 मोतियो को कटोरे में देखे बिन यादृच्छिक तरीके से निकाल लीजिए और उन्हे मेज पर बिछे हुए सफेद तोलिये पर फैला दीजिए। सफेद खुरदरा तौलिया उपयोग करने का उद्‌देश्य यह है कि सफेद पृष्ठभूमि पर रंगीन मोती स्पष्ट रूप से देखे जा सकेंगे और मोती लुढ़केंगे भी नहीं। आप 100 से अधिक भी निकाल सकते हैं परन्तु 100 निकालने से गणनाओं का प्रतिशत निकालने में सुविधा रहेगी।
3. अगले चरण में, तोलिये पर ही 100 मोतियों को रंग के आधार पर अलग-अलग कर लीजिए। चूंकि आपने 100 मोतियों को 2000 मोतियों की आबादी से यादृच्छिक तरीके से निकाला है, आपने 25 के आसपास प्रत्येक रंग के मोती निकाले होंगे। मान लीजिए कि आपके द्वारा निकाले गये मोतियों की संख्या इस प्रकार है:

हरे	26
लाल	24
नीले	26
काले	24

प्राप्त संख्याओं को अपनी नोटबुक में नोट कर लीजिए।

4. अब, हम कह सकते हैं कि प्राकृतिक चयन कार्य कर रहा है। मान लीजिए कि प्राकृतिक चयन समष्टि में से हरे रंग के मोतियों को पसन्द करता है और काले रंग के मोतियों का विरोध करता है। इस धारणा को प्रस्तुत करने के लिए 10 और हरे मोतियों को 100 में मिला दीजिये और 10 काले मोतियों को निकाल दीजिए। नई आवृत्तियां इस प्रकार से होंगी।

उपयोगी अनुकूलनशीलता को रखने और अनुपयोगी अनुकूलनों को निष्कासित करने में प्राकृतिक चयन की भूमिका को दर्शाते हुए एक प्रयोग

हरे	36
लाल	24
नीले	26
काले	14

प्राप्त संख्याओं को अपनी निरीक्षण पुस्तिका में नोट कर लीजिए।

5. अब, हम इन आवृत्तियों से 1000 इकाइयों की नई समष्टि बनायेंगे, इसका मतलब है कि आप 360 हरे मोतियों को 240 लाल, 260 नीले और 140 काले मोतियों को मिलाकर कुल 1000 की संख्या बनायें। ये 1000 व्यष्टियां दूसरी पीढ़ी की होंगी। इन 1000 मोतियों की जनसंख्या में से 100 मोतियों को निकालिए। मान लीजिए कि नये प्रतिदर्श 100 व्यष्टियों का विभाजन इस प्रकार से हैं :

हरे	34
लाल	27
नीले	23
काले	16

प्राप्त संख्याओं को अपनी निरीक्षण पुस्तिका में नोट कीजिए।

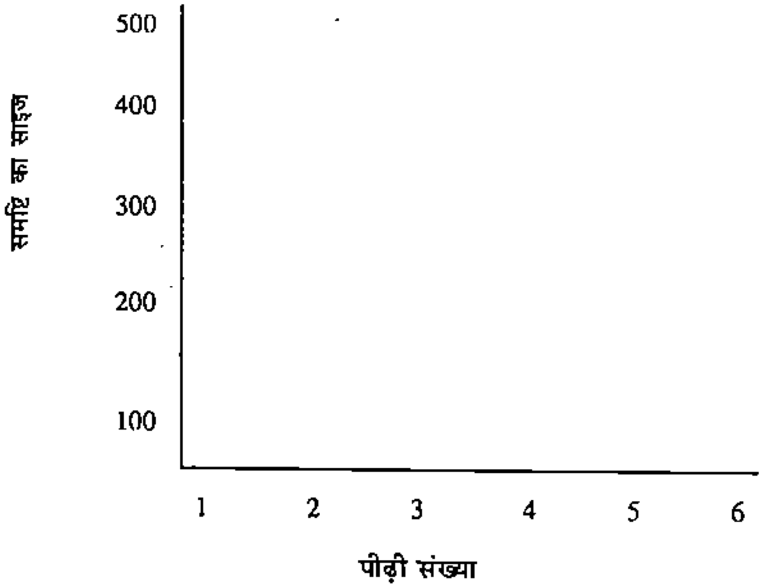
चयन प्रक्रिया के कारण, मोतियों की आवृत्तियां बदल गई है। पसन्द किए जाने वाले मोतियों की संख्या (यानि लक्षण या युग्मविकल्पी) बढ़ गई है और कम चाहे जाने वाले मोतियों की संख्या घट गई है। चयन को आगे भी कार्यान्वित होने दें। अब 10 और हरे मोतयों को मिला दें और 10 काले मोतियों को निकाल दें। नई आबादी जो कि तीसरी पीढ़ी का निर्माण करेगी, वह इस प्रकार होगी,

हरे	44
लाल	27
नीले	23
काले	6
	100

इन परिणामों को अपनी निरीक्षण पुस्तिका में नोट कीजिए । आप इस प्रयोग को बहुत सारी पीढ़ियों तक जारी रख सकते हैं लेकिन आप छः या सात पीढ़ियों तक ही सीमित कीजिए और दी गई तालिका में परिणामों को नोट कीजए।

मोतियों की संख्या				
पीढ़ी	काले	हरे	लाल	नीले
I.				
II.				
III.				
IV.				
V.				
VI.				

प्राप्त परिणामों को ग्राफ के रूप में दिखाइये।



29.4 निष्कर्ष

एल एस ई -07 पाठ्यक्रम की इकाई 11 से आप विकास की एक परिभाषा को दोहरा सकते हैं। एक समष्टि आनुवंशिक विज्ञानी के द्वारा प्रस्तावित परिभाषा के अनुसार विकास जीन की आवृत्तियों में क्रमवद्ध परिवर्तन है। आप कह सकते हैं कि जीन की आवृत्तियों में इस प्रकार के परिवर्तन विकास के मापक हैं। आप ये भी देख सकते हैं कि कुछ पीढ़ियों के पश्चात् विभिन्न विशेषक (इस प्रयोग में रंग) की आवृत्तियां लगभग समान ही रहती हैं। कुछ पीढ़ियों के बाद हरे रंग की आवृत्ति 40 - 50% के बीच में स्थिर हो जायेगी। लाल और नीले की 20% अथवा और कम और काले की 5% से भी कम रह जायेगी। इस दौरान काला रंग समष्टि से पूर्णत: खत्म नहीं होगा। दूसरे शब्दों में, छटवी या अधिक पीढ़ी के अंत में, सभी कारक (रंग) योग्यतम हरा, योग्यतर लाल और नीला तथा सबसे कम योग्य काला, समष्टि में उपस्थित रहेंगे। प्राकृतिक चयन समष्टि में किसी युग्म विकल्पी को पूरी तरह से स्थिर (100% उपस्थिति) अथवा निष्कासित (0%) नहीं कर सकता। जब पर्यावरण अनुकूल हो, तो प्राकृतिक चयन अनुकूल युग्म विकल्पी की आवृत्ति को बढ़ा देता है लेकिन वह समष्टि में से कम अनुकूलित युग्म विकल्पी को पूर्णत: निष्कासित नही कर सकता । इस प्रकार से डार्विनी चयन की भूमिका अवगमित होती है।

30 आनुवंशिक विस्थापन की धारणा को दर्शाने के लिए एक प्रयोग

30.1 प्रस्तावना

हार्डी बेनबर्ग के सिद्धान्त के अनुसार (एल एस ई-03 पाठ्यक्रम की इकाई 20-समष्टि में जीनों का व्यवहार) चयन और उत्परिवर्तन की अनुपस्थिति में किसी दिये गये युग्मविकल्पी जोड़े की आवृत्ति (frequency) स्थिर रहती है, जब किसी विशाल जनसंख्या में अगर यादृच्छिक संगम होता है। यदि चयन और उत्परिवर्तन होते हैं, तो आवृत्तियां बदल जाती हैं और इस प्रकार के परिवर्तन आम तौर पर कम और धीरे-धीरे होते हैं। एल एस ई-07 पाठ्यक्रम की इकाई 13 में हमने छोटी समष्टियों में जीनों के व्यवहार पर चर्चा की थी और आनुवंशिक बदलाव की संकल्पना को एक किसान के चावल के खेत में रहने वाले मूषकों के चार या पांच परिवारों की छोटी जनसंख्या का उदाहरण देकर समझाया था। हमारा सुझाव है कि आप इकाई 13 के इस खंड को यह प्रयोग शुरू करने से पहले पढ़ लें। छोटी समष्टि में प्रतिचयन त्रुटि (sampling error) के कारण जीनों की आवृत्तियों में अनियमित बदलाव होंगे। जीनों की आवृत्तियों में इस प्रकार के बदलाव या विस्थापन भली भांति अनुकूलित विशेषकों (traits) को समष्टि में से हटा कर अनुकूलित लक्षणों को स्थापित कर सकते हैं। पूर्व अध्याय में हमने बताया था कि प्राकृतिक चयन (natural selection) के प्रभाव में न तो विशेषकों का स्थायीकरण (100%) और ना ही उनका विलोपन (0%) होता है। आनुवंशिक विस्थापन के प्रभाव में एक विशेषक समष्टि में स्थायी (100%) अथवा विलुप्त (0%) भी हो सकता है। इस प्रयोग में हम आनुवंशिक विस्थापन की धारणा को सरल उदाहरण के द्वारा समझायेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को समाप्त करने के बाद आप:

- विकास की प्रक्रिया में प्राकृतिक चयन और आनुवंशिक विस्थापन की विशिष्ट भूमिका में भेद दर्शा सकेंगे।

30.2 आवश्यक सामग्री

हरे, लाल, नीले और काले रंग के बड़े आकार के प्लास्टिक के मोती (प्रत्येक 500)

दो प्लास्टिक के कटोरे

30.3 प्रयोग विधि

पूर्व अभ्यास की ही भांति हम मान लें कि हरा रंग, च [illegible]रा पसन्द किया जाता है और काले रंग का विरोध किया जाता है।

1. प्लास्टिक के कटोरे में अच्छी तरह मिलाकर रखे गये 2[illegible] मोतियों (प्रत्येक रंग के 500) की संख्या में से अपनी अंगुली की पोर से मात्र 10 मोती निकाल ली[illegible]। यह बिना कटोरे को टटोले यादृच्छिक (random) रूप से किया जाना चाहिये। मान लीजिए कि [illegible]0 मोती निम्न प्रकार से चार रंगों के निकले।

हरे	4
लाल	1
नीले	3
काले	2
	10

2. प्राप्त परिणामों को अपनी नोट बुक में रिकार्ड कीजिये। अब, ऊपर दी गई आवृत्तियों से 100 मोतियों की जनसंख्या एक कटोरे में बनाइये जिनका विभाजन इस प्रकार से होगा :

हरे	40
लाल	10
नीले	30
काले	20
	100

3. इन 100 मोतियों में से पुन: 10 मोती अपनी अंगुली की पोर से उठाइये। मान लीजिए आपको मोती इस प्रकार से मिले

हरे	0
लाल	2
नीले	3
काले	5
	10

प्राप्त परिणामों को रिकार्ड कीजिये।

. अब उनमें सिर्फ तीन रंग बचेंगे। एक बार नई आवृत्तियों के आधार पर 100 मोतियों की संख्या बनाइये। इसका मतलब होगा कि 100 बनाने के लिए हरा एक भी नही, 20 लाल, 30 नीले और 50 काले होंगे। इन सौ मोतियों में से 10 मोती निकाल लीजिये। मान लीजिए आपको निम्न प्रकार का विभाजन मिला :

लाल	0
नीले	4
काले	6

प्राप्त परिणामों को रिकार्ड कीजिये।

5. अब नई आवृत्तियों के आधार पर 40 नीले और 60 काले मोतियों से 100 की संख्या बनाइये। इन 100 मोतियों में से 10 मोती छांटिये। मान लीजिए आपके निम्न संख्या मिली

नीले	3
काले	7

प्राप्त परिणामों को रिकार्ड कीजिये।

6. 30 नीले और 70 काले मोतियों को मिला कर 100 मोती छांटने के बाद इस प्रयोग को फिर दोहराइये। मान लीजिए अब हमें मोती निम्न प्रकार मिले

नीले	0
काले	10

प्राप्त परिणामों को रिकार्ड कीजिये।

7. अपने परिणामों को ग्राफ वाले कागज पर दर्शाइये।

30.4 निष्कर्ष

आप ये देख सकते हैं कि हरा रंग जो कि चयन प्रक्रिया द्वारा पसंद किया गया था वह तीसरी पीढ़ी में आने तक जनसंख्या में से विलुप्त हो गया। इसके विपरीत काला रंग जिसका कि सामान्यत: चयन प्रक्रिया द्वारा विरोध किया गया था। वह छठवीं पीढ़ी तक आते-आते जनसंख्या में स्थाई हो गया।

1. ऐसा क्यों हुआ?

....

....

....

2. क्या आप सोचते हैं कि आनुवंशिक विस्थापन के प्रभाव सामान्य चयन द्वारा होने वाले प्रभावों से काफी विपरीत हैं? ऐसा किसलिए है?

....

....

....

....

....

3. क्या आनुवंशिक विस्थापन विकास की प्रक्रिया में एक महत्वपूर्ण कारक हो सकता है?

....

....

....

31 पादपालय पर परियोजना कार्य

31.1 प्रस्तावना

पादपालय दबे (pressed) और सूखे हुऐ पौधों का संग्रह है, जो कि वर्गीकरण (classification) की किसी मान्य प्रणाली (system) के अनुसार व्यवस्थित किए जाते हैं और संदर्भ (reference) के लिये उपलब्ध होते हैं। पौधों के अध्ययन से संबंधित सभी अनुसंधान और शिक्षण संस्थानों में, स्थानीय नमूनों के संग्रह के अतिरिक्त लाखों की संख्या में, लंबे काल के दौरान संग्रहित हुऐ प्रतिदर्श (sample) भी होते हैं जो कि एक अथवा अधिक महाद्वीपों के पेड़-पौधों को प्रलेखित (document) करते है। पादपालय पौधों के संग्रह का एक आधान (repository), अनुसंधान, प्रशिक्षण और सेवा संस्थान है जो कि संदर्भ केन्द्र, प्रलेखन सुविधा और आंकड़े संचित करने के गृह के रूप में कार्य करता है। संग्रह में नमूनें होते हैं जो कि प्रकृति, प्रायोगिक बगीचों अथवा प्रयोगशाला की आबादी और वर्गकों (taxa) के प्रतिदर्श होते हैं।

उद्देश्य

इस परियोजना कार्य को करने के पश्चात आप

- पादपालय के लिये नमूनें संग्रहित कर सकेंगे,
- पादपालय के लिये नमूनें संरक्षित कर सकेंगे और
- वानस्पतिक बगीचे (botanical garden) में विभिन्न प्रकार के पौधों को पहचान सकेंगे।

31.2 संग्रह करने के लिये आवश्यक उपकरण

संग्रह करने के लिये निम्न उपकरण आवश्यक है। (चित्र 31.1)

1. शाकीय पौधों की जड़ों और प्रकंदों (rhizomes) को खोदने के लिये एक पिक (Pick) की आवश्यकता होती है, जिससे कि संग्रहित नमूना पूर्ण प्राप्त हो।
2. शाखाओं तथा अन्य हिस्सों को काटने के लिये एक तेज चाकू की आवश्यकता होती है।
3. काष्ठीय (woody) और ठोस वस्तुओं को काटने के लिये एक जोड़ा काट-छांट करने वाली कर्तनी (shears) अथवा कलम कैंची (secateur) की आवश्यकता होती है।
4. पुष्पीय संरचनाओं -बाह्यदलों (sepals), दलों (petals), पुंकेसरों (stamens) और स्त्रीकेसरों (carpels)] के अध्ययन के लिये पुष्प कलिका को खोलना पड़ता है इसके लिये एक चिमटी उपयोग में लाई जाती है (forceps)।
5. संग्रहित नमूनों को रखने के लिये एक वास्कुलम (vasculum), जिसमें उनका अध्ययन किया जा सके और जितनी जल्दी संभव हो सके उन्हे दबा कर सुखाया जा सके।
6. संग्रहित नमूनों को दबाने और रखने के लिये, सोख्तों (blotters) अथवा अखबारी कागजों सहित एक प्लांट प्रेस (plant press)। (चित्र 31.2)
7. संग्रहित पौधों का संपूर्ण विवरण लिखने के लिये एक फील्ड-बुक।
8. 2 × 10 सेमी आकार के टिन अथवा एल्युमिनियम के टुकड़े जिनके एक सिरे पर छेद हो। प्रत्येक टुकडे पर रंगीन मोम से संख्या लिखिये और नमूने से बांध दीजिये। यह संख्या फील्ड बुक के उस पन्ने की संख्या से मिलनी चाहिये, जिस पर आपने पौधे का विवरण लिखा हो।
9. पौधों के नमूनों को ताजा रखने के लिये पॉलिथिन की थैलियों की आवश्यकता होती है। इन थैलों में पौधों कों संग्रहित करने के पश्चात् थैले के मुख को बंद कर देना चाहिये, जिससे कि नमूने मुरझा न जाये।
10. पौधे के नमूने पर लगातार और स्थिर दाब रखने के लिये पौधों वाली प्रैस की आवश्यकता होती है।

क्षेत्र के भ्रमण के लिये तैयारियां

आप क्षेत्र के भ्रमण की योजना बनाने से पहले:

1. जंगल, राष्ट्रीय उद्यान (national park) अथवा वन्य प्राणी उद्यान (wild life sanctuary) को देखने के लिये संबन्धित अधिकारियों से आज्ञा ले लें।
2. जंगल के मार्गदर्शक अथवा अन्य किसी कार्यालयी सहायता के लिये कहें।
3. अपने कैम्प (camp) में हमेशा आवश्यक दस्तावेजों (documents) की प्रतिलिपि साथ रखें।
4. अपने निवास, भोजन, कपड़ों आदि का समुचित प्रबंध करें और क्षेत्र में प्रयोग होने वाले जूतों का प्रयोग करें।

31.3 प्रयोग विधि

अपनी मातृभूमि में वनस्पति पर्याप्त मात्रा में उपलब्ध है। पौधों को पत्थरों की दरारों, रेत के टिब्बों (dunes) दलदल वाली जगहों, पहाड़ों, कैल्शियमी क्षेत्रों (calcareous regions) तथा मृत और गिरे हुऐ पेड़ के तनों में भी तलाशियें। पौधे की प्रकृति (nature) तथा उसके अन्य पौधों और अवस्तर (substrate) से साहचर्य (association) को देखिये। पुष्प और फल सहित पूर्ण अैर उपयुक्त पौधे को संग्रहित कीजिये। निम्नलिखित उपखण्ड़ों में हम आपकों निर्देश देगें:

1. नमूनों को संग्रहित करने के लिये
2. पौधों को दवाने के लिये

31.3.1 नमूनों को संग्रहित करना

पादपालय में संसाधन (processing) के लिये ताजे पौधों को संग्रहित कीजिये। हर पौधे के कम से कम पाँच नमूने एकत्रित करने चाहिये, जिनमें से सर्वोत्तम 20 वभिन्न पौधे, आप परियोजना के पूरे होने पर दिखा सकें। एकत्रित किये गये नमूनें फलती-फूलती अवस्था में होने चाहिये।

शाकों (herbs) को उनके भूमिगत हिस्सों सहित संग्रहित कीजिये तथा झाड़ियों (shrubs) और पेड़ों की सिर्फ टहनियों (twings) को ही एकत्रित कीजिए, पुष्प और फल रहित नमूनों को फेंक दीजिये। प्रत्येक पौधे के नमूनों को उसी वक्त दबा दीजिये, जैसे ही आप उसे उस जगह से एकत्रित करें। अन्यथा आप वास्कुलम (vasculum) में लगभग बारह घंटे तक पौधों को रख सकते हैं और बाद में जब भी आपको वक्त मिले उन्हें दबा सकते हैं।

31.3.2 पौधे को दबाना/प्रैस करना

पौधे के नमूने को या तो पौधों को दबाने वाली प्रेस का उपयोग करते हुए दबायें, जिसे आप को जीव विज्ञान संबन्धी सामानों की पूर्ति करने वाले स्टोर्स से खरीद सकतें है। अन्यथा आप प्लाइवुड की परतों के, 12/10" टुकड़ों को काटकर, उन्हें प्रैस के दोनो पल्लों के रूप में प्रयोग करके भी बना सकते हैं। नमूनों को दबाने के लिये अखबारी कागजों का उपयोग कीजिए। पौधों के नमूनों को दबाते वक्त नीचे दिये गये चरणों का अनुसरण कीजिये।

1. एक नमूने को, मुड़े हुऐ अखबारी कागज पर फैलाइये।
2. बड़ी पत्तियों वाले नमूने को दो या अधिक टुकड़ों में काट दीजिये और प्रत्येक टुकड़े को दो या अधिक मुड़े हुऐ अखबारी कागजों में दबाइये।
3. पादपालय पत्र (herbarium sheet) से लंबे पौधों के नमूनों को N, U अथवा V की आकृति में मोड़ लें, तब उन्हें दबाये।
4. नमूनों में सिलवटें पड़ने से रोकने के लिये प्रैस को रस्सी या फीते से बाँधिये।
5. अब प्रैस को सुखाने के लिये रख दीजिये।
6. कुछ पत्तियों को उनकी निचली सतह को ऊपर की ओर रखते हुए व्यवस्थित कीजिये।

7. कुछ फूलों को भी नमूने के साथ दबाइये और कुछ पुष्पों को खोल कर लगाइये, जिससे कि उनके आवश्यक अंग और पुष्पासन (thalamus) की प्रकृति स्पष्ट हो जाये।

8. नमूनों को एकत्रित करते समय निम्नलिखित आवश्यक आँकड़ों को फील्ड-बुक में इस प्रकार से लिखिये:

i. पेड़-पौधे प्राप्त करने का स्थान : ....

ii. नमूना संख्या : ....

iii. संग्रहित करने की तारीख : ....

iv. स्थानीय नाम : ....

v. कुल (family) : ....

vi. संस्थिति (Locality) : ....

vii. प्रकृति (Habit) : ....

viii. आवास (Habitat) : ....

ix. पुष्प का रंग : ....

x. गंध : ....

xi. परागण की विधि : ....

xii. लैटेक्स (Latex) उपस्थित/अनुपस्थित : ....

xiii. संग्रहकर्ता : ....

9. पादपालयों के लिये लेबल (Label) बनाइये और रिकार्ड कीजिये

i. संग्रहण संख्या : ....

ii. संस्थिति : ....

iii. आवास : ....

iv. संग्रहित करने की तारीख : ....

v. संग्रहकर्ता का नाम : ....

vi. वानस्पतिक नाम : ....

A. कुल : ....

B. वंश (genus) : ....

C. जाति (species) : ....

31.3.3 नमूनों का आरोपण करना

सूखे हुऐ नमूनों का पादपालय पत्र पर आरोपण (**mounting**) कीजिए। अच्छी किस्म के पादपालय पत्र बाजार से खरीदिए, आप मोटे किस्म के चित्र बनाने वाले पत्रों को भी पादपालय पत्र की भांति प्रयोग कर सकते हैं। नमूने की निचली सतह पर, ब्रुश की सहायता से गोंद या चिपकाने वाला पदार्थ लगाइए और उसे भली प्रकार से आरोपण पत्र पर रख दीजिए। आप आरोपण पत्र पर नमूनों को चिपकाने के लिये, एडीहेसिव लगे हुए सेलोफिन टेप (adhesive-coated cellophane tape) का प्रयोग भी कर सकते है, लेकिन यह स्थायी (permanent) नहीं होगा। नमूनों पर, पतली नोंक वाली, दबाने वाली (squeeze) बोतल से प्लास्टिक पेस्ट को लगाना, सबसे अच्छा तरीका है। फलों और फूलों को पारदर्शी लिनन टेप से चिपकाइये। अगर आप कुछ नमूनों को पहचानने में असमर्थ हो तो उन्हें अलग रख दीजिए और कुंजी (key) की सहायता से उन्हें पहचाननें की कोशिश कीजिए। आगे वाले उपखण्ड में हम "पहचान के लिये कुंजी" (Key's for identification) के बारे में अधिक लिखेगें।

नमूने का आरोपण करने के पश्चात्, लेबल (पहले से तैयार किया हुआ) को उसके नीचे की ओर, दाहिने हाथ के कोने में चिपकाइये। आप पादपालय पत्र पर, लेबल छाप भी सकते हैं।

आपको सुझाव दिया जाता है, कि आप आँकड़ों को लेवल पर अंकित (type) करें। लेवल पर प्रविष्टियाँ (entries) सुवाच्य (legible) हाथ से जलसह (water proof) काली स्याही से होनी चाहिए।

31.3.4 पहचान के लिये कुजियाँ

किसी विशेष क्षेत्र के नमूनों को एकत्रित करने के पश्चात् दूसरा मुख्य कार्य उन्हें पहचानने का है। नमूनों की पहचान के लिये आप एक कृत्रिम कुंजी बना लें। हमने पहले ही (LSE-07) खण्ड-2, इकाई-6 में "पहचान के लिये कुंजी" के बारे में चर्चा की है (वर्गिकी और विकास के पाठ्यक्रम)

कुंजी नमूनों को जल्दी और आसानी से पहचानने का एक अच्छा तरीका है । इसलिये:

1. कुंजी जितनी संभव हो सके उतनी सरल होनी चाहिए जिससे कि आप क्षेत्र में ही पौधों को पहचान सके।
2. कुंजी छोटी होनी चाहिए और विरोधाभासी साध्यों (propositions) से तक सीमित होनी चाहिए।
3. कुंजी द्विभाजी (dichotomous) होनी चाहिए और जोड़े का प्रत्येक कथन, जो कि लीड (lead) कहलाता है, को या तो 1,2,3, आदि की तरह से सांख्यित (numbered) कीजिए अथवा सांख्यित लीड के स्थान पर अक्षर लिखी लीडस का उपयोग कीजिये।

हमने लिलिएसी (liliaceae) कुल की चार जातियों, जिनके नाम हैं अस्पेरेगस (Asparagus), एस्फोडिलस (Asphodelus), ऐलोय (Aloe) और ग्लोरिओसा (Gloriosa) के लिये "पहचान की कुंजी" निर्मित की है। यह एक मार्गदर्शक की तरह से कार्य करेगी और आप आसानी से अपने द्वारा एकत्रित किये गये कुलों के नमूनों की जातियों की "पहचान के लिये कुंजी" बना सकेंगे ।

I. पुष्प बहुत छोटे (minute) और सफेद:

   1. पर्णाभ (cladodes); उपस्थित, पत्तियाँ अनुपस्थित; तना काँटे युक्त...............................एस्पेरेगस

   2. पर्णाभ अनुपस्थित : पत्तियाँ लम्बी, मूसलाकार (terete) और खोखली तना बिना काँटे युक्त ....एस्फोडिलस

II. पुष्प ना तो बहुत छोटे और ना ही सफेद

   1. पत्तियाँ गूदेदार (succulent); किनारे काँटे युक्त; सिरा प्रतान युक्त (tendriller) नहीं .... ऐलोय

   2. पत्तियाँ बिना गूदेवाली, किनारे सपाट, सिरा प्रतान में घुमावदार .... ग्लोरियोसा

31.4 सावधानियाँ

1. पादपालय में नमूनों को देखते समय पादपपत्र सावधानी से उठाइये।
2. पादपालय पत्रों को हाथ से पलटिये, जिससे कि वो मुड़े नही।
3. पादपालय पत्र को किताब के पन्नों की तरह न मोडिये।
4. पादपालय पत्र पर भारी वस्तुओं को मत रखिये।
5. पादपालय पत्रों को लकड़ी अथवा लोहे की केबिनेट में संग्रहित कीजिए, और उन्हें कीड़ों से बचाने के लिये प्रतिकर्षियों (repellents) का प्रयोग कीजिए।

(चित्र 31.3)

चित्र के लिए पृष्ठ 159 देखिये।

32. कीड़ों का संग्रह, पहचान तथा प्रतिरक्षण

32.1 प्रस्तावना

यह परियोजना कार्य जीवविज्ञान (LSE-07) के वर्गिकी (taxonomy) पाठ्यक्रम से संबन्धित है। वर्गिकी व्यष्टिगत जीव के संग्रहण, वर्गीकरण, पहचान तथा समुचित प्रतिरक्षण से संबद्ध है। इस परियोजना कार्य में आप उस अध्ययन केन्द्र के कालेज परिसर के कीटों (insects) का संग्रह तथा पहचान करेंगे जहाँ आप प्रायोगिक कार्य करेंगे। कीट वर्ग भूमण्डल पर पाये जाने वाले कुल जीवों की संख्या का लगभग 90% भाग हैं तथा वे प्राय: हर सम्भव निकेत (niche) अधिगृहीत (occupy) कर लेते हैं। अधिकतर कीड़े हानिरहित होते हैं । परन्तु आहार श्रृंखला (food chain) में वे एक महत्वपूर्ण कड़ी बनाते है। यह परियोजना कार्य आपको कीड़ों का:

* संग्रह
* पहचान तथा
* परिरक्षण करने में समर्थ बनाएगा।

अपना कार्य प्रारंभ करने से पहले आप वर्गिकी और विकास (Taxonomy & Evolution) पाठ्यक्रम के प्रथम दो खण्डों को, जीवों को वर्गीकृत करने तथा उनको भली-भांति नामांकन करने की आवश्यकता को समझने के लिये, पढ़ लें।

32.2 आवश्यक सामग्री:

कीड़े पकड़ने का जाल

इथाइल एसीटेट

मारक बोतल

कीडों के लिये डिब्बा

कीड़ों की पिनें

फैलाने का बोर्ड

स्टेप ब्लॉक

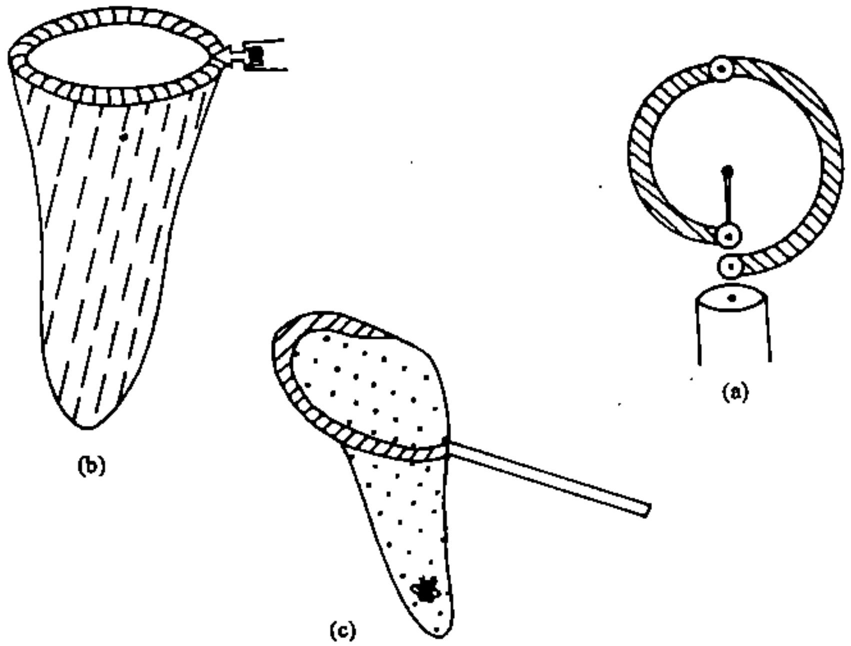
नेफथालीन पाउडर

32.3 प्रयोग विधि:

यह सुझाव दिया जाता है कि यह परियोजना कार्य समूहों में किया जाना चाहिये, प्रत्येक समूह में पाँच से अधिक छात्र/छात्राऐं नहीं होने चाहिये।

(क) कीड़े पकड़ने का जाल

कीड़े पकड़ने का जाल आपके काउन्सलर द्वारा आपके अध्ययन केन्द्र की प्रयोगशाला में उपलब्ध कराया जा सकता है। अन्यथा आप उसे ऊपर दिए गए वर्णन अनुसार (चित्र 32.1) बना लें। निम्नलिखित सामग्री को बाजार से ले आयें।



चित्र 32.1: कीड़े पकड़ने का जाल (a) छल्ले के अन्दर लोहे के तार का बंकन (bending) करना (b) मलमल के कपड़े को थैली के रूप में सिलना (c) हैण्डल को मोड़कर (fold) थैले को वलित करने के पश्चात छोटे कीड़े को पकड़ना

(i) लोहे का तार (3 मि. मी. व्यास का) -42 से 48 इन्च लंबा

(ii) मलमल अथवा बारीक नाइलोन कपड़ा - 1 मीटर लंबा

(iii) हल्की लकड़ी अथवा बाँस - 3/4 मीटर लंबा, जाल के हैण्डल के रूप में प्रयोग करने के लिये

(iv) कैन्वस अथवा लिनन का कपड़ा - 1/4 मीटर

(v) 18" लंबा बाँधने का तार

1) लोहे के तार को 12 से 15 इन्च व्यास के छल्ले में वलित (bend) कर दीजिये (चित्र 32.1)

2) तार के छोरों को सीधा कीजिये जिससे कि वे हैण्डल की खाँचों (grooves) मे फिट (fit) हो जाये।

3) सीधे किये गये छोरों के शीर्ष को मोड़ दीजिये जिससे कि वे हत्थे के छेदों (holes) में फिट हो जायें।

4) कैन्वास (canvas) अथवा लिनन की लगभग 3" की किनारी बनाइये जिससे कि लोहे का छल्ला उसमें से निकल जाये।

5) अब मलमल अथवा नाइलोन के कपड़े को थैले के रूप में (थैला उल्टे शंकु (cone) की आकृति ले लेगा, जैसा कि चित्र 32.1b में दिखाया गया है) कैन्वास अथवा लिनन से सिल दीजिए।

6) अब लोहे के तार की मुड़ी हुई नोकों (tips) को हैण्डल से जोड़ दीजिये और उसे मजबूती से बांधने वाले तार से बाँध दीजिए।

जाल को बनाते समय निम्नलिखित बातों को ध्यान में रखें।

(i) अलग हो जाने वाला छल्ला बहुत उपयोगी होता है, क्योंकि थैले को तब आसानी से बदला जा सकता है जब वह फट जाये, गीला हो, गन्दा हो अथवा अन्य सामग्रियों में से किसी एक के लिये बदला जाये।

(ii) कपड़े की जाली (mesh) जितनी संभव हो उतनी बड़ी होनी चाहिए लकिन इतनी छोटी हो कि पकड़े गये कीड़ों को रोके रह सके।

(iii) थैला लगभग दो ढाई गुना छल्ले के व्यास से गहरा होना चाहिये अथवा भुजा से कुछ छोटा होना चाहिये।

(iv) जाल इस प्रकार से बनाना चाहिए कि वह जितना संभव हो सके उतना हल्का हो जिसमें कम से कम संभव वायु प्रतिरोध (resistance) हो लेकिन पर्याप्त मजबूती तथा स्थिरता हो।

जाल का प्रयोग छोटे तथा बड़े दोनो प्रकार के कीड़ों को पकड़ने के लिये किया जा सकता है। यदि पकड़ा गया निदर्श (specimen) बड़ा हो तो उस स्थिति में हैण्डल को शीघ्रता से मोड़ दें, थैले को किनारे पर डालते हुए आप देखेंगे कि निदर्श थैले के तले में बन्द हो गया है (चित्र 32.1c) एक हाथ से थैले के उस भाग को पकड़िये जिसमें कीड़ा बन्द है तथा दूसरे हाथ से मारक/किलिंग बोतल (killing bottle) के खुले सिरे को जाल के अन्दर घुसाकर ऊपर की ओर इसको बढ़ाइए जब तक कि निदर्श इसके अन्दर ना घुस जाये। बोतल को जाल में से निकाल लीजिये और ढक्कन से बन्द कर दीजिए। छोटे कीड़े आसानी से जाल में से मारक बोतल अथवा चूषित्र (aspirator) का प्रयोग करते हुऐ निकाले जा सकते हैं। सक्रिय अथवा डंक मारने वाले कीड़ों जैसे मधुमक्खी (bees) अथवा बर्र (wasp) को पकड़ते समय, कीड़े को लिये हुऐ जाल के फोल्ड (fold) को मारक की बोतल में डाल दीजिए जब तक निदर्श निष्क्रिय न हो जाये।

ख. चूषित्र

चूषित्र एक साधारण चूषक युक्ति (suction device) है जो छोटे कीड़ों को पकड़ने में प्रयोग किया जाता है। सबसे ज्यादा प्रयोग होने वाले चूषित्र को यहाँ वर्णित किया गया है। (चित्र 32.2)

आवश्यक सामग्री:

कॉच अथवा पारदर्शी प्लास्टिक का कूपिक (vial)

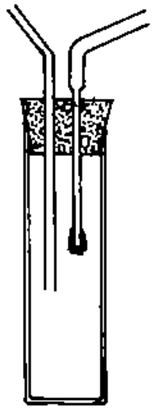
दो छेदयुक्त रबड़ के स्टॉपर

दो कांच की नलियाँ

रबड़ की ट्यूब

मलमल के कपड़े का छोटा टुकड़ा

1. चूषित्र एक कॉच अथवा पारदर्शी प्लास्टिक का कूपिक है। कूपिक के खुले सिरे पर कस के बन्द होने वाले रबड़ स्टॉपर को छोटे कीड़ों को दबने (crushing) से बचाने के लिये लगाइये, अन्यथा वे स्टॉपर तथा कूपिक की दीवार के बीच में रेंगते रहेंगे।



चित्र 32.2:एक चूषित्र

2. स्टॉपर में से दोनों कॉच की नलियों को अन्दर डालिये।

3. रबड़ की नली को चूषक नली के बाहरी सिरे से मुख द्वारा चूसने के लिये जोड़िये। इस नली के दूसरे सिरे को जो कूपिक के अन्दर रहता है, मलमल के कपड़े से ढक दीजिये जिससे कीड़ों को नली

में प्रवेश करने से रोका जा सके। छोटे कीड़ों को पकड़ने के लिये, अन्दर लेने वाली नली के बाहरी सिरे को कीड़े के पास रखिये और रबड़ की नली के बाहरी ओर रबड़ की नली के द्वारा चूसिये। यह चूषण कूपिक में आंशिक निर्वात (partial vacuum) पैदा कर देगा, और कीड़ा अन्दर जाने वाली नली द्वारा अन्दर चला जायेगा। जब चूषित्र का उपयोग ना हो रहा हो, तब अन्दर ले लाने वाली नली के ऊपरी सिरे को रूई से बन्द कर दीजिये जिससे कूपिक में पकड़े गये कीड़े बाहर ना निकल सके। आप कूपिक के कीड़ों को मारक बोतल में खाली कर सकते हैं जिससे वे निष्क्रिय हो जायें।

ग. मारक बोतल/किलिंग बोतल

मारक बोतलें, मारने वाले पदार्थों द्वारा बनाई जाती है, जो कीड़े को बिना उनके रंग को प्रभावित किये अथवा उन्हें सख्त किये, उसी समय मार देती है। यद्यपि पौटेशियम सायनाइड सबसे अधिक उपयोग किया जाने वाला मारक तत्व है, लेकिन इसके अत्यंत जहरीले स्वभाव के कारण हम यहाँ ऐसी मारक बोतल का वर्णन करेंगे जिसमें मारक तत्व के रूप में इथाइल एसीटेट होता है। (चित्र 32.3)

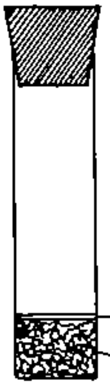
आवश्यक सामग्री:

एक खाली काँच की बोतल जिसमें ढक्कन हो , हार्लिक्स की बोतल हो तो बेहतर है।

रूई

सोख्ता कागज

इथाइल ऐसीटेट



चित्र 32.3:एथिल एसीटेट मारक बोतल

इथाइल एसीटेट कीड़ों के लिये एक प्रभावी मारक कर्मक (agent) है। आप इथाइल एसीटेट की मारक बोतल तैयार करने के लिये खाली हार्लिक्स की बोतल का उपयोग कर सकते हैं। इथाइल एसीटेट में भीगे हुऐ रूई के टुकड़े को तले में रखिए और रसायन को सीधे नमूनों के संपर्क में आने से रोकने के लिये सोख्ता कागज के एक टुकड़े से ढक दीजिये। बोतल को अधिक प्रभावशाली बनाने के लिये मारक कर्मक की कुछ और बूँदे सोख्ता कागज के ऊपर डालिये। प्रत्येक दिन के अन्त में बोतल में जमा किये गये कीड़ों को संरक्षण के लिये बाहर निकालिये। यदि आप उन्हें दिन के समाप्त होने पर नहीं निकाल रहें हों, तो मारक कर्मक की कुछ बूंदों में भीगी हुई अवशोषक रूई (absorbent cotton) को एकत्रित सामग्री के ऊपर रख दीजिए और बोतल को कसकर बन्द कर दीजिए। यदि निदर्श को इस भांति रखा जायेगा तो वह कुछ दिनों तक विश्राम की अवस्था में रहेगा। बोतल को प्रत्येक संग्रह के दिन के पश्चात इथाइल एसीटेट की कुछ बूँदो से आवेशित (charged) किया जा सकता है। अपनी मारक बोतल को 'जहर' लिखकर चिन्हित करें और उसे दूसरों की, विशेष रूप से बच्चों की पहुँच से दूर रखें।

कीड़ों को बहुत अधिक समय तक मारक बोतल में ना छोड़े। इससे पहले कि वे गंदे अथवा क्षतिग्रस्त हों उन्हें बोतल में से निकाल दीजिए। बोतल को बहुत अधिक कीड़ो से भी न भरें। आप अलग अलग छोटी मारक बोतलों का उपयोग, प्रत्येक में कुछ नमूनों को संग्रहित करने के लिये कर सकते हैं। बोतलों को कठोर अथवा भंगुर (fragile) और छोटे अथवा बड़े कीड़ों से बहुत अधिक नहीं भरना चाहिए अन्यथा सभी कीड़े क्षतिग्रस्त हो सकते हैं।

घ. कीड़ों को विश्रांत करना:

समुचित आरोपण (mounting) के लिये, कठोर काया वाले कीड़ों को विश्रांत अवस्था में लाना आवश्यक है। यह उनके शरीर के वर्गिकी महत्व के (taxonomic importance) अंगों के समुचित प्रदर्शन में सहायक है। यदि कीड़ों को उनके मारे जाने के तुरन्त बाद ही आरोपित कर दिया जाये, तब नमूनों को विश्रांत करने की कोई आवश्यकता नहीं होती है। परन्तु कीड़े को यदि लम्बी अवधि तक

मारक बोतल में रखा जाये तो वह सूखा और कठोर हो जाता है। इन परिस्थितियों में कीड़ों को पहले विश्रांति बक्स अथवा वैसे ही किसी उपकरण में विश्रांत करना आवश्यक है। प्लास्टिक के डिब्बे (2' X 1') को विश्रांति बक्स के रूप में प्रयोग किया जा सकता है। डिब्बे की तली में 2 से 4 से.मी. चौड़ाई की कृत्रिम स्पंज (synthetic sponge) अथवा किसी अन्य छिद्रित (porous) सामग्री को रखिए। स्पंज को पानी से अलग कर लीजिए। डिब्बे के एक कोने में 10-15 मि.ली. इथाइल एसीटेट में डूबी हुई रूई के फाहे को रखिए, जिससे साँचे (mold) को बनने से रोका जा सके। आप डिब्बे के ढक्कन के अन्दर सोख्ता कागज की एक परत लगा सकते हैं ताकि निदर्श के ऊपर पानी की बूँदें न गिर सके।

कीड़ों को विश्रांति बक्से में पेट्रीडिश अथा लिफाफों में रखिए। विश्रांत के लिये लिया गया समय, नमूने के आकार तथा प्रकार पर निर्भर करता है। अधिकांश कीड़े एक रात के लिये डिब्बे में छोड़े जाने पर ही संतोष जनक रूप से विश्रांत हो जाते हैं। नमूनों को क्षतिग्रस्त होने से अथवा उनका रंग उड़ जाने से बचाने के लिये उन्हे बहुत लम्बे समय तक विश्रांति बक्स में नहीं छोड़ना चाहिये।

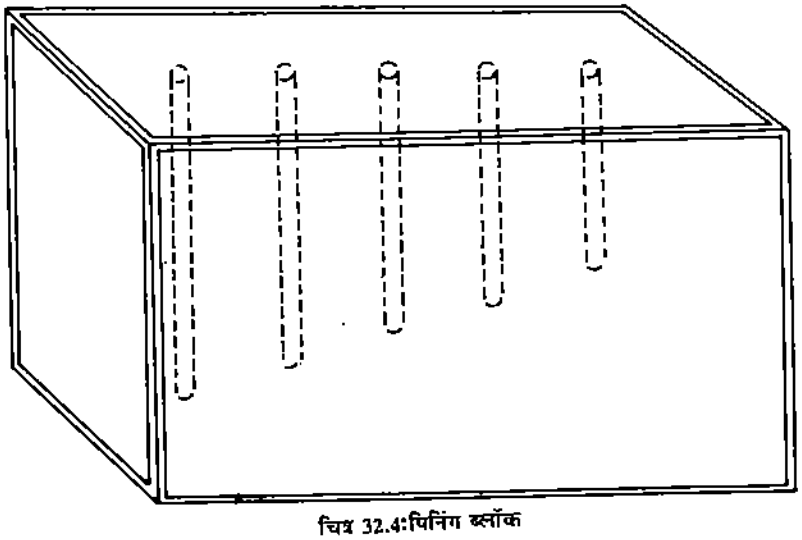
च. आरोपण:

कठोर काया वाले कीड़े, कीट विज्ञानी पिनों (entomological pins) पर आरोपित किए जाते हैं। ये मानक पिनें हैं, जो लोहे (steel) की बनी होती हैं तथा इनमें जंग नहीं लगती। ये विभिन्न प्रकार के नापों तथा मोटाइयों में उपलब्ध हैं। लेकिन ये पिनें बहुत महंगी हैं तथा छात्रों की पहुँच से बाहर हैं। छात्र/छात्राऐं इस प्रकार की पिनों को घर में ही सिलाई वाली सुई तथा रंगीन मनकों (bead) से बना सकते हैं। आप बारीक सिलाई वाली सुईयाँ खरीद सकते हैं , सुई के छेद वाले सिरे को स्प्रिट लैम्प की लौ पर गर्म कीजिए तथा गर्म सिरे को रंगीन मनके में घुसा दीजिए। लैड सुई का सिर (head) बना देगी। आप इस प्रकार 50 कीटविज्ञानी पिनों को बना सकते हैं।

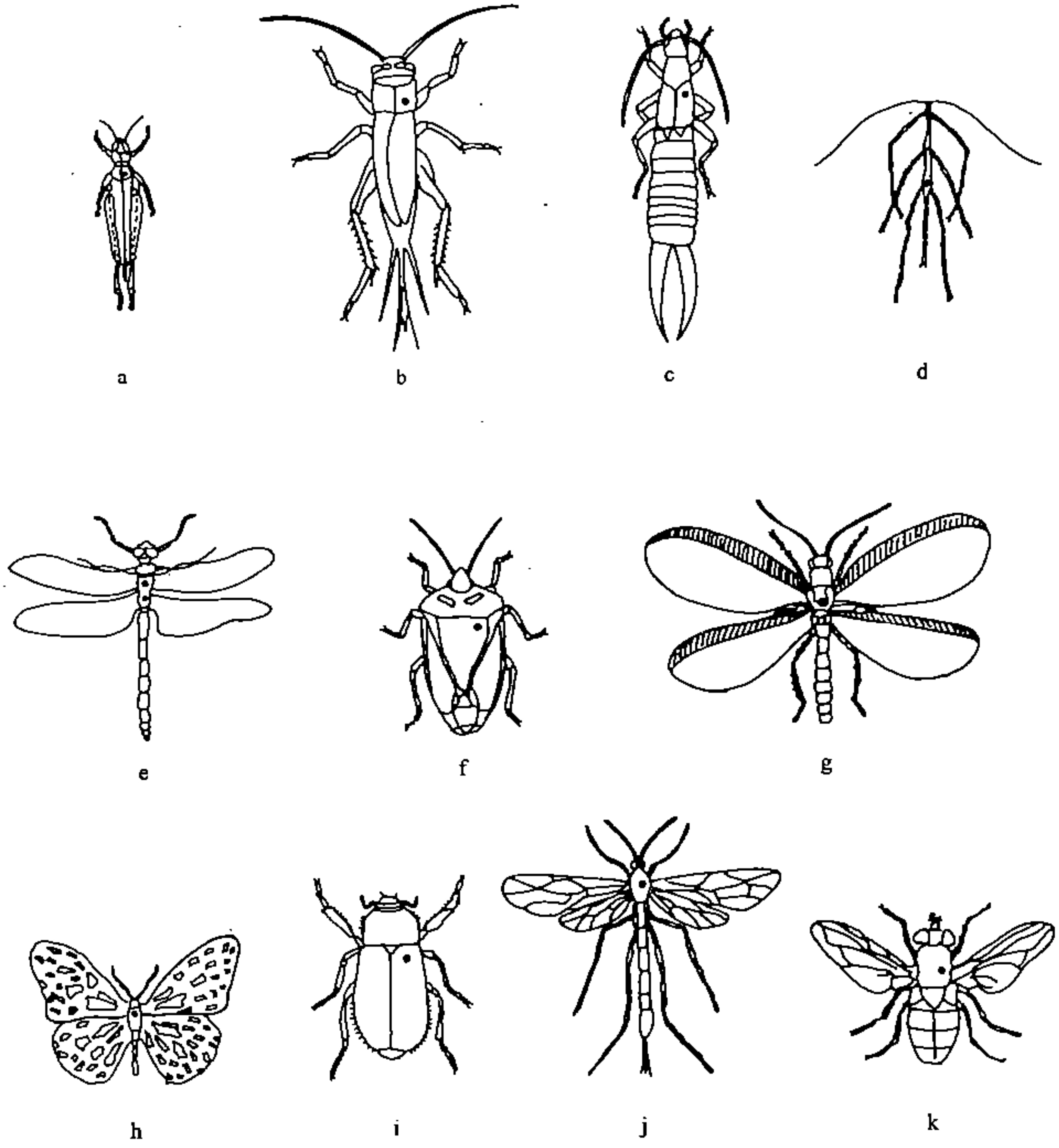
कीड़े के आकार, संरचना तथा समूह (group) पर निर्भर करते हुऐ निम्नलिखित में से किसी भी विधि द्वारा आरोपण किया जा सकता है।

i) प्रत्यक्ष आरोपण करना (Direct mounting)

ताजे मारे हुए निदर्श सबसे अच्छी तरह पिन किया जा सकता हैं। पिन कीड़े के शरीर में से बिना उसे कोई हानि पहुँचाये निकल जानी चाहिये। चूंकि पिनों को कीड़ो की काया में घुसाने की अनेक विधियां हैं, इस पर निर्भर करते हुऐ कि कीड़ा किस समूह का है, पिनों को कीड़े के शरीर में सही बिन्दुओं से घुसाना चाहिये(तालिका 32.1 तथा चित्र 32.5) । पिन शरीर में, हमेशा ऊर्ध्वाधर (vertically) घुसानी चाहिए अथवा इस प्रकार से थोड़ा सा ढ़लकी हुई (sloping) हो कि शरीर का अगला भाग थोड़ा सा ऊपर उठ जाये। नमूने को अब पिन से उठाइये। जब तक कि उसकी पीठ, शीर्ष से 1 1/2" उठ जाये, जिससे कि पिन उंगलियों से अथवा चिमटी से आसानी से पकड़ी जा सके। पिन लगाते समय आपको पिन को मुक्त रूप से बिना उंगलियों को कीड़े से सीधा संपर्क हुए लगाने में भी समर्थ होना चाहिए। आगे, सभी कीड़ों को समान रूप से आरोपित करना चाहिए, जिससे नमूनों की तुलना तथा परीक्षण करना आसान हो जाये, साथ ही यह बक्से में कीड़ों के प्रगटन (appearance) को भी बढ़ाता है । कीड़ों का समरूप आरोपण पिनिंग लूप्स (pinning loops) अथवा स्टेप ब्लॉक्स (step blocks) जैसा कि वे कहलाते हैं, की सहायता से किया जाता है। (चित्र 32.4) पिनिंग ब्लॉक, कठोर काष्ठ (hard wood) अथवा प्लास्टिक का बना होता है जिसमें आवश्यकतानुसार मनचाही गहराई के छेद कर दिये जाते हैं।



चित्र 32.4:पिनिंग ब्लॉक



चित्र 32.5 : कीड़ों में पिन लगाने का सही तरीका

(a) and (b) ऑर्थोप्टेरा (c)डर्मोप्टेरा (d) फेस्मिडा (e) ऑडोनेटा (f) हेमीप्टेरा (g)न्यूरोप्टेरा (h) लेपीडोप्टेरा

(i) कोलिओप्टेरा (j) हाइमीनोप्टेरा (k) डिप्टेरा

तालिका 32.1: विभिन्न गणों के (orders) कीटों को पिन करने के तरीके:

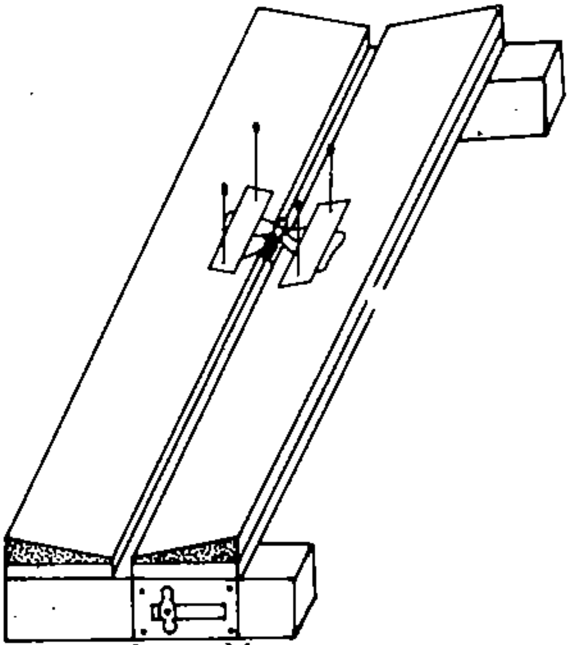
कीट वर्ग	पिन करने का विन्दु
1. ऑर्थोप्टेरा (Orthoptera) (टिड्डे)	पिन को पृवक्षपृष्ठक (pronotum)के दाईं तरफ उसकी पृष्ठ किनारे के पास घुसाइए (चित्र 6.7), शरीर की लंब अक्ष पिन की लगभग समकोण पर होनी चाहिए लेकिन कीड़े का सिर नीचे की ओर होना चाहिए, उदर (abdomen) को पंखों के नीचे नमित/झुका (drooping) हुआ व्यवस्थित करिए। (चित्र 32.5 a तथा b)
2. डर्मेप्टेरा (Dermaptera) (कर्णकीट)	पिन को दाँए पक्षवर्म (elytron) के अग्र-भाग से होकर लगाइए (चित्र 32.5 c)
3. फेस्मिडा (Phasmida) (पर्णाभक)	पिन को पश्चवक्षपृष्ठक (metanotum) के सबसे पिछले भाग में मध्यरेखा में से होकर लगाइये। (चित्र 32.5 d)
4. ऑडोनेटा (Odonata) (व्याध पतंगे)	पिन को वक्ष की मध्यरेखा में, पृष्ठपंखों के आधारों के बीच में से होकर लगाइए। (चित्र 32.5e)
5. हेमीप्टेरा (Hemiptera) (बग)	उन नमूनों के लिये जिनमें लंवा प्रशल्क (scutellum) होता है, पिन को प्रशल्क में होकर उसके आगे के किनारे के पास से ठीक मध्यरेखा के दाँईं ओर घुसाइए। (चित्र 32.5f), लेकिन उनमें जिनका प्रशल्क छोटा हो अथवा सुदीर्घित (enlarged) पृवक्षपृष्ठक से ढ़का हुआ हो (उदाहरण: नोटोनेक्टिडी), पिन पृवक्षपृष्ठक से होकर उसके आगे के किनारे के पास, ठीक मध्यरेखा के दाईं ओर लगाई जाती है। (चित्र 32.5f)
6. न्यूरोप्टेरा (Neuroptera) (एन्टलॉयन्स)	पिन को उर्ध्वाधर रूप में वक्ष के मध्य में से घुसाइये। ० मीकोप्टेरा (Mecoptera) तथा ट्राइकोप्टेरा (Trichoptera) में भी इसी प्रकार से पिन लगाई जाती हैं। (चित्र 32.5g)
7. लेपीडोप्टेरा (Lepidoptera) [तितलियाँ व शलम (moth)]	पिन को उर्ध्वाधर रूप से वक्ष के मध्य में होकर घुसाइये (चित्र 32.5h)
8. कोलिओप्टेरा (Coleop tera) [भृंग (beetles)]	पिन को आधार के पास, दाँये पक्षवर्म (elytron) के भीतरी किनारे की ओर से होकर घुसाइए। (चित्र 32.5i)
9. हाइमीनोप्टेरा (Hymeno ptera) (चींटी, मधुमक्खी, बर्र)	पिन को सीधे वक्ष से होकर मध्यरेखा के दाँई ओर घुसाइए। (चित्र 32.5j)
10. डिप्टेरा (Diptera)	पिन को वक्ष की मध्य रेखा के दांई ओर पंखों के आधार के पास, उसकी नोंक को दांई मध्य श्रेणी (coxa) के सामने निकलते हुए घुसाइए (चित्र 32.5k)

ii) बिन्दु आरोपण (Point mounts)

आप छोटे सूखे हुऐ कीड़े को बिन्दु आरोपण विधि द्वारा दर्शा सकते है। आप नमूने को एक पतले कार्ड के बने हुऐ छोटे त्रिकोण के शीर्ष पर थोड़ा सा चिपकाने वाला पदार्थ लगाकर तथा चौड़े सिरे को कीटविज्ञानी कार्यों में प्रयोग होने वाली पिनों के द्वारा सहारा देकर, चिपकाइए। पतले दृढ़ कार्ड को, छोटे त्रिकोण के आकार में काटकर तैयार कीजिए (6 मि.मी. लम्बा, 2 मि.मी. चौड़ा आधार तथा 0.5 मि.मी. चौड़ा शीर्ष पर) लेकिन, माप (size) कीड़े के आकार के अनुसार बदल सकता है। क्विक फिक्स (quick fix) एक जल्दी सूखने वाला चिपकाने का पदार्थ है जो छोटे और मध्यम आकार के कीड़ों के आरोपण के लिये प्रयोग किया जा सकता है। कीड़े सबसे अच्छी तरह से बिन्दु पर, वक्ष के किनारे पंखों के नीचे अथवा पृष्ठक (tergum) के किनारों पर तथा पैरों के आधार के ऊपर अथवा मध्य में जोड़े अथवा चिपकाये जा सकते हैं। इस प्रकार से चिपकाये जाने पर सभी महत्तवपूर्ण वर्गिकीय लक्षणों का अध्ययन किया जा सकता है।

iii) विस्तारण (Spreading)

कीड़ों के सबसे अच्छे आरोपण वे होते हैं जो कि सभी महत्वपूर्ण शरीर के अंगों के वर्गिकीय अध्ययन को शीघ्र और सरल बना देते हैं। इस कार्य के लिये, आपको कीड़े के सिर, पंखों, पैरों तथा उदर को उचित विधि से दिखाना पड़ेगा। जब तक कि नमूना सूख कर इच्छित अवस्था में ना आ जाये तब तक आपको शरीर के कुछ भागों को उचित अवस्था में रखने के लिये उन्हें सहारा देना पड़ सकता है। यह कार्य सबसे अच्छी तरह से ताजे मारे हुए नमूनों में किया जा सकता है, जब उनके आंतरिक भाग पिन घुसाने के लिये मुलायम होते हैं तथा उपांग आनम्य होते हैं। कीड़े के पंख, विस्तारण बोर्ड (spreading board) की सहायता से इच्छित अवस्था में फैलाये जाते हैं। (चित्र 32.6) विस्तारण बोर्ड का अन्य कीड़ों को सेट करने के लिये भी प्रयोग कर लिया जाता है। आप उनकी



चित्र 32.6: विस्तारण बोर्ड

कागज की पत्तियों का विस्तारण बोर्ड पर पंखों को दबाने/प्रैस करने के लिये प्रयोग कर सकते हैं तथा नमूनों को इस अवस्था में तब तक रखते हैं जब तक कि वे सूख ना जायें तथा इच्छित अवस्था प्राप्त कर लें। विस्तारित कीड़ो को खुले में मत छोड़िए। उन्हें अन्य कीड़ों जैसे चीटियों द्वारा क्षति पहुँचेगी। विस्तारण बोर्ड को खाली कीड़ों के डिब्बे अथवा अन्य किसी पात्र में रखिए। नमूनों को सुखाना उनके ऊपर फफूंद की उत्पत्ति को रोकने के लिए भी आवश्यक है।

छ) पहचानने की विधियाँ

जब आप कीड़ों को संग्रहित कर लें तथा उन्हें छाँट लें, तब तत्काल उन्हें गण (order)तक पहचानिए। आप कीड़ों को छांटने के लिए अपने काउन्सलर की सहायता लें। यदि सम्भव हुआ तो वह आपको उन्हें वंश (genera) स्तर तक पहचानने में सहायता करेगें। जीवों को पहचानने के लये विभिन्न तरीके अपनाये जाते हैं। प्रमुख तरीके हैं:

i) पुस्तकों से

ii) वर्गिकीय कुंजियों के प्रयोग से

iii) चित्रों से

iv) सीधे तुलना द्वारा

v) विभिन्न तरीको के संयोजन द्वारा

i) पुस्तकों से:

पहचान करने वालें का मूल कार्य निदर्शों की उनकी जाति (species) के दिये गये वर्णन से तुलना करना है। यह बहुत ही कठिन कार्य है जिसमें सैंकड़ों व हजारों तुलनाऐं होती हैं। ऐसी बहुत सारी जातियाँ जो कि पहचाने जाने वाले नमूने से मेल ना खाती हों, उन्हें छोड़ देना चाहिये। यह और सुविधाजनक हो जाता है यदि समूह में कुजियाँ उपलब्ध हों।

ii) कुजियाँ :

यह पहचानने के लिये प्रयोग किये जाने वाले तरीकों में सबसे अधिक प्रयोग किया जाने वाला तरीका है। कुंजी आवश्यक रूप से एक छपी हुई जानकारी रिट्रीवल तंत्र (retrival system) है जिसमें कोई अपने हाथ के नमूने की जानकारी देता है तथा जिससे कोई निदर्शों की उस स्तर तक पहचान कर लेता है जहां तक पहचानने के लिये वह कुंजी बनी होती है। तुलना के लिये प्रयोग में लाये जाने वाले जाति के मूलरूप से पहचाने गये नमूनों की अनुपस्थिति में, छपा हुआ वर्णन ही एक मात्र माध्यम रह जाता है। बहुत सी जातियों वाले अपेक्षाकृत बड़े वर्गों में नमूनों की सैकड़ों अथवा हजारों छपे हुऐ वर्णनों से तुलना करना बहुत ही कठिन कार्य है । यह कार्य हल हो सकता है यदि मुख्य वर्गों की कुजियाँ उपलब्ध हों। कुंजी का मुख्य कार्य पहचानने को सरल बनाना है। यह तालिका रूपी विधि है जो शीघ्र पहचाने के लिये बनी होती है तथा सबसे आसान लक्षणों/गुणों पर आधारित होती है जो द्विभाजी (dichotomous) रूप से व्यवस्थित होते हैं। आप LSE--07 (वर्गिकी और विकास पाठ्यक्रम) को वर्गिकी कुजियों पर व्याख्या के लिये देख सकते हैं।

पहचाने गये कीड़ों का संरक्षण :

कुछ महत्वपूर्ण सूत्र नीचे दिये गये हैं जिनको यदि प्रयोग किया जाये तो निश्चित रूप से क्षति की संभावना कम हो जाती है।

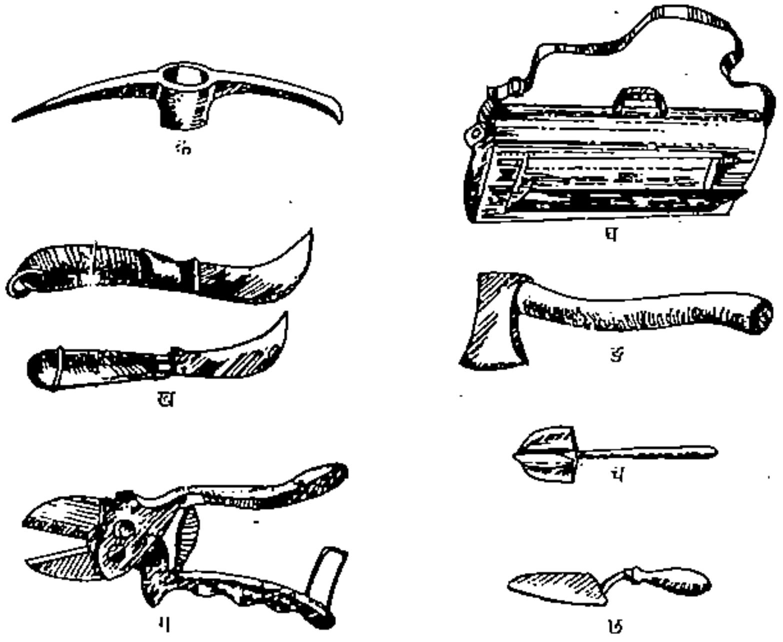
i) कीड़े सही प्रकार से व्यवस्थित तथा चिन्हित होने चाहिये। ये लकड़ी के बक्सों में रखे जाने चाहिए (नाप जरूरत के अनुसार हो)। सावधानी रखनी चाहिये कि कोर्क शीट (cork sheet), जो कि कीड़ों को बक्से के साथ पिन करने के लिये प्रयोग की जाये वह पिनों को गहराई तक तथा मजबूती से बक्से की तली तक जोड़ने के लिये पर्याप्त मोटी हो। अपेक्षाकृत बड़े नमूने दोनो तरफ से साधारण पिनों द्वारा सधे होने चाहिऐ, जिससे झूलने से उनकी सम्भावित क्षति को रोका जा सके। दोहरे आरोपण वाले नमूनों में एक अतिरिक्त पिन मज्जा से गुजरती हुई, नमूने के कुछ पीछे होनी चाहिए तथा बिन्दु दो पिनों द्वारा सधे होने चाहिए, त्रिकोण के दोनों तरफ एक-एक, जिससे गोलाकार/वर्तुल गति के कारण उनकी क्षति को रोका जा सके। बक्से में नमूनों को बहुत अधिक संख्या में ना रखें क्योंकि इससे हमेशा उनकी क्षति की संभावना बढ़ जाती है।

ii) कार्ड बोर्ड की बक्से के नाप की एक शीट काट कर बक्से के अन्दर पिन किये गये नमूनों के ऊपर रख देनी चाहिये तथा उसके और बक्से के ढक्कन के नीचे की जगह को रुई से भर देना चाहिए।

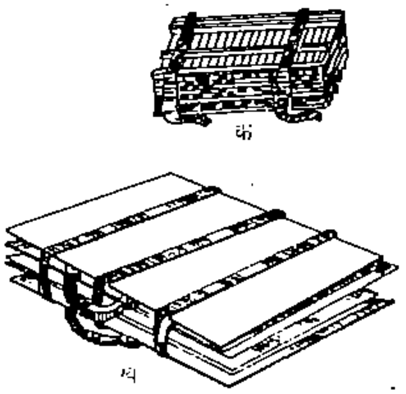
iii) पिन लगे हुऐ कीड़ों वाला बक्सा धूमित (fumigated) कर देना चाहिए। सबसे प्रभावशाली धूमक 10 ग्राम नेपथेलीन पाउडर को 50 मि.ली. पेट्रौल में घोलकर तथा उसमें 0.1 मि.ली. फीनोल मिलाकर तैयार किया जाता है, जिससे फंफूद (mould) की वृद्धि को रोका जा सके। इस धूमक की थोड़ी सी मात्रा में भीगा हुआ एक रुई का फाहा कीड़ों के डिब्बे के कोने में मजबूती से फिक्स कर दिया जाता है। खुली हुई नेपथेलीन की गोलियाँ बक्से में नहीं रखी जानी चाहिए क्योंकि ये इधर उधर लगने पर नमूनों को क्षति पहुँचा सकती हैं।

इस प्रायोजित कार्य के लिए

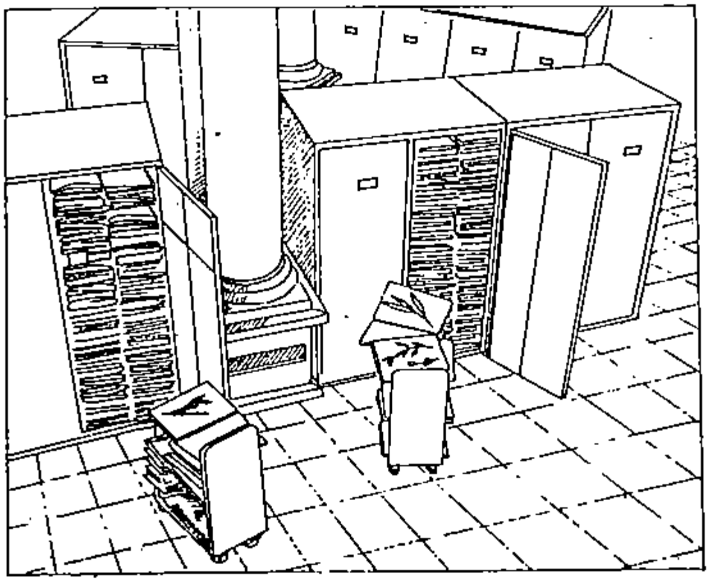
नोट: विभिन्न गणों के कम से कम बीस कीड़ों को एकत्रित कीजिए तथा उन्हें सही तरीके से पहचानिए।



चित्र 31.1 : संग्रहण में काम आने वाले उपकरण, क) संग्रहण गैती, ख) चाकू, ग) कैंची, घ) बैग, ङ) कुल्हाड़ी, च) फावड़ा, छ) करनी।



चित्र 31.2 : पादप प्रेस (क) छिद्रिल पादप प्रेस, (ख) तार को जाली वाला पादप प्रेस।



चित्र 31.3 : हर्बेरियम, उपयोग किए जाते हुए।

Utter Pradesh
Rajarshi Tandon Open University

UGZY/BY-L2
Laboratory Course-II

List of Experiments

1.	Test for the Viability of Seeds	05
2.	Measurement of Rate of Oxygen Uptake in Plants	07
3.	Separation of Leaf Pigments by Chromatography	12
4.	Photoreduction of Dyes by Isolated Chloroplasts	16
5.	Effect of Light Quality and Intensity on Photosynthesis	18
6.	Induction of Nitrate Reductase by Nitrate Ion and Light	22
7.	Microscopic Observations on the Opening and Closing of Stomata	24
8.	Measurement of Water Potential of a Plant Tissue	26
9.	Induction of α-Amylase Synthesis in Barley Grains By Gibberellic Acid	29
10.	To Observe Elongation of Coleoptile by Treatment With 2,4-D	32
11.	To Trace the path of Pollen Tube	35
12.	To Observe the Germination of Pollen Grains Using a Hanging Drop Preparation	38
13.	To Make Preparation of Stages in the Development of Embryo *Raphanus sativus*	43
14.	To Dissect Out Endosperm Haustoria from *Cucumis sativus*	46
15.	Studies on Male and Female Gametophyte of Angiosperms	48
16.	To Study Some Important Dicot and Monocot Families	57
17.	Survey of Digestive Enzymes in Cockroach	82
18.	Determination of Rate of Oxygen Consumption in Cockroach Using a Respirometer	87
19.	Observations on the Microcirculation in the Web of Frog	89
20.	Estimation of Haemoglobin, Total RBC and WBC in Human Blood	93
21.	Tests for Excretory Products of Animals of Different Habitats	100
22.	Recording a Muscle Twitch in Frog	103
23.	Study of Reproductive and Endocrine Organs in Rat/Mouse	108
24.	Preparation of Vaginal Smears in Rat/Mouse	116
25.	Study of Prepared Slides of the Developmental Stages of Frog	119
26.	Staining and Mounting of Blastoderm of Chick Embryo	127
27.	Studies on Chick Embryo Using Prepared Slides	131
28.	An Exercise to Demonstrate the Role of Natural Selection in Evolving Adaptations	137
29.	An Exercise to Demonstrate the Role of Natural Selection in Fixing Favoured Adaptations and Eliminating Maladaptations	139
30.	An Exercise to Illustrate the Concept of Genetic Drift	142
31.	Project Work of Herbarium	145
32.	Collection, Identification and Preservation of Insects	149

LABORATORY COURSE-II

In this 4 credit laboratory course you will be performing experiments relating to Physiology, Developmental Biology, and Taxonomy and Evolution. The subjectwise distribution of the experiments is as follows.

	Experiment No.
Plant Physiology	1 to 10
Plant Developmental Biology	11 to 15
Taxonomy	16
Animal Physiology	17 to 24
Developmental Biology	25 to 27
Evolution	28 to 30
Projects	31 & 32

The experiments on Plant Physiology relate to respiration, photosynthesis, induction of enzyme, effect of hormones and concept of water potential in plants. You will also be familiarised with the technique of paper chromatography.

In Plant Developmental Biology, the experiments included are formation of gametes, fertilization, studies on endosperm and development of embryo.

Experiment 16, the study of the characteristics of representative members of dicot and monocot families would provide you an idea of classification of plants.

The experiments on Animal Physiology relate to the study of digestive enzymes, rate of respiration, blood circulation in capillaries, quantitative studies on haemoglobin, RBC and WBC, studies on excretory products, muscle contraction, reproductive and endocrine organs.

In Animal Developmental Biology you will study the developmental stages of frog and chick embryos with the help of prepared slides.

Three simple exercises are included for understanding the basic concepts of Darwin's theory of natural selection.

Two projects are also included in this laboratory course; you will prepare a herbarium of plants and collect insects, both from the campus of your study centre. We believe you would enjoy working on these projects.

Like all the other IGNOU laboratory courses, this course is also an intensive residential programme and would require two weeks for completion. Since it is a 4 credit course it should be completed in 120 hours. Every day there will be two laboratory session of 4 hours each. In each session you will do practical work for three hours and in the remaining 1 hour you can write the report and discuss any difficulty that you have with the counsellor or spend time in video viewing of the experiments. A schedule for practicals will be given to you on the first day so that you come prepared for the experiments to be performed each day.

You are aware that because of time constraints we can provide you only limited access to laboratory work; therefore we strongly advise you not to miss any laboratory session.

You will be assessed for your performance each day and on the last day of this programme an examination of 4 hours duration will be held. The examination is compulsory to pass and carries 30% marks.

1 TEST FOR THE VIABILITY OF SEEDS

1.1 INTRODUCTION

It is important to know before sowing whether a sample of seeds is sufficiently viable for germination. The viability of seeds can be examined by performing a simple test. The living embryos respire actively, the dead ones do not. You may recall that dehydrogenases are one of the important groups of respiratory enzymes. So by testing for the activity of dehydrogenases in embryos the viability of seeds can be determined.

In cells dehydrogenases transfer electrons from respiratory intermediates such as malic acid and succinic acid to NAD^+ or FAD (reducing them to $NADH_2$ and $FADH_2$) which finally transfer the electrons to oxygen forming water. It is well known that *in vitro*, dehydrogenases can also transfer electrons to artificial electron acceptors such as dyes which change in colour when reduced.

In this exercise you will use 2, 3, 5 -triphenyl tetrazolium chloride which is reduced by the action of dehydrogenases to a water-insoluble red triphenylformazon pigment.

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- separate viable seeds from the non-viable ones by testing the dehydrogenase activity and
- detect dehydrogenase activity in a given tissue.

1.2 MATERIALS REQUIRED

chick peas seeds soaked over night

0.1% 2, 3, 5 -triphenyl tetrazolium chloride

petridishes

forceps

1.3 PROCEDURE

1. Soak about 50 to 100 seeds in water overnight. Split 25 of them in two halves and immerse them in 0.1% 2, 3, 5 -triphenyl tetrazolium chloride (TTC). Note the embryo region. Count the seeds showing pink colour.
2. Place another 25 split seeds in boiling water for 10 minutes and perform TTC test. Record your results.

1.4 RESULTS

No. of seeds showing + ve test =

No. of seed showing – ve test =

Calculate the percentage of viable seeds

$$\% \text{ of viable seeds} = \frac{\text{No. of seeds showing + ve test} \times 100}{25}$$

Test on boiled seeds = +ve/–ve

1.5 PRECAUTIONS

The solution of tetrazolium salt should be freshly made and kept only for a few days. It must be stored in the dark bottles, because it decomposes on exposure to light.

SAQ

1. Explain the results obtained on boiled seeds.

   ....

   ....

2. Where is the enzyme NADH -dehydrogenase located in cells?

   ....

   ....

3. Name the four types of dehydrogenases involved in TCA cycle.

   ....

   ....

4. Which of them reduces FAD instead of NAD^+?

   ....

   ....

2 MEASUREMENT OF RATE OF OXYGEN UPTAKE IN PLANTS

2.1 INTRODUCTION

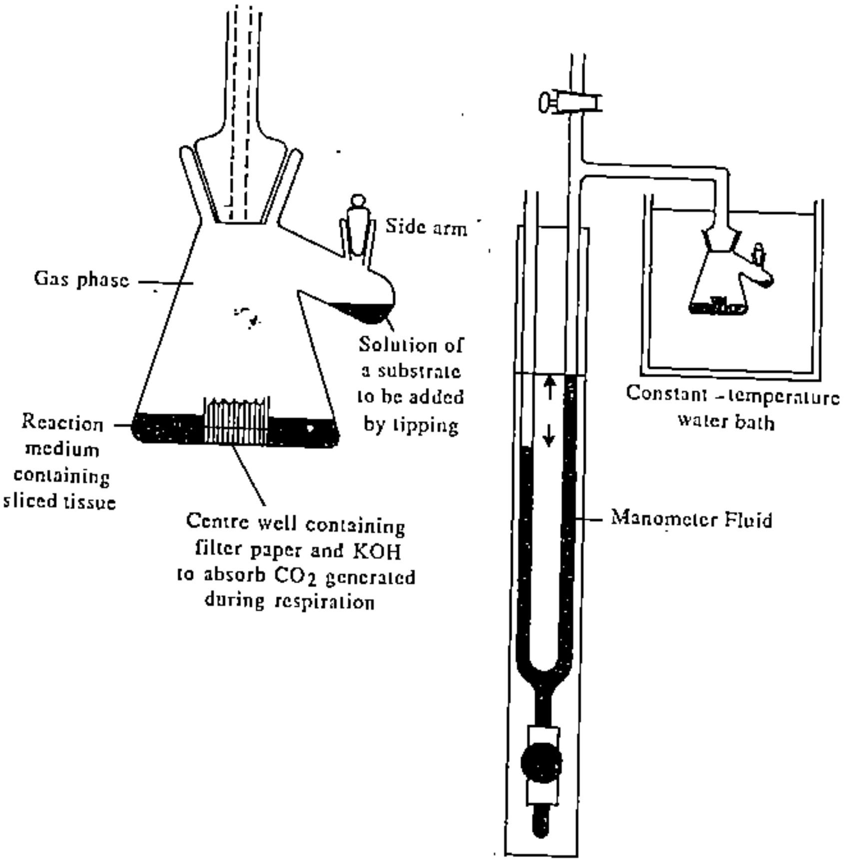
The process of photosynthesis and respiration involves evolution and uptake of gases. During aerobic respiration an organism utilises oxygen and releases carbon dioxide. The oxygen is used for the oxidation of respiratory substrates like carbohydrates and fats. For instance glucose is oxidised according to the following equation:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O$$

The rate of respiration can be measured by determining the amount of O_2 taken in or CO_2 released in unit time.

Generally a Warburg's manometer (Fig. 2.1) is used for measuring the gas exchange. The instrument is designed to show pressure changes (at constant temperature and volume) resulting from oxygen absorption by the respirating plant or animal. In case the

(a)
Warburg's manometer
(Constant - Volume)



(b)
A simple pipette manometer

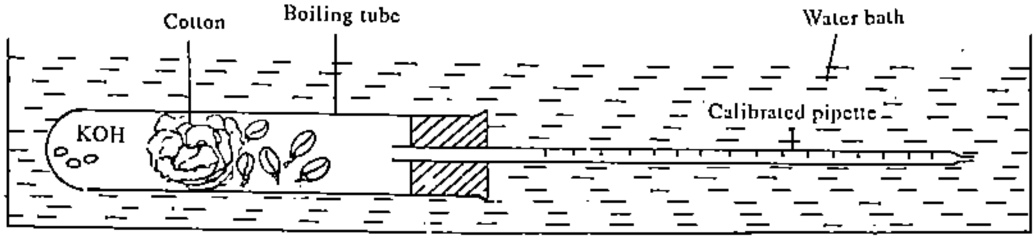
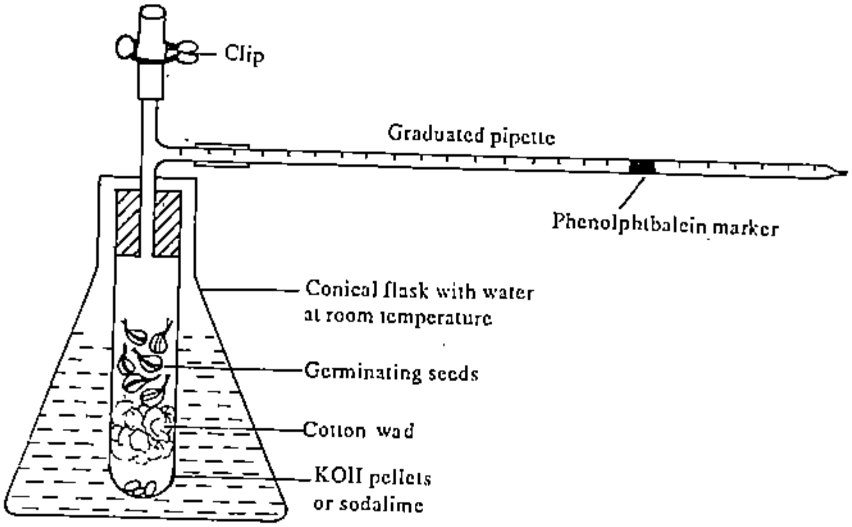
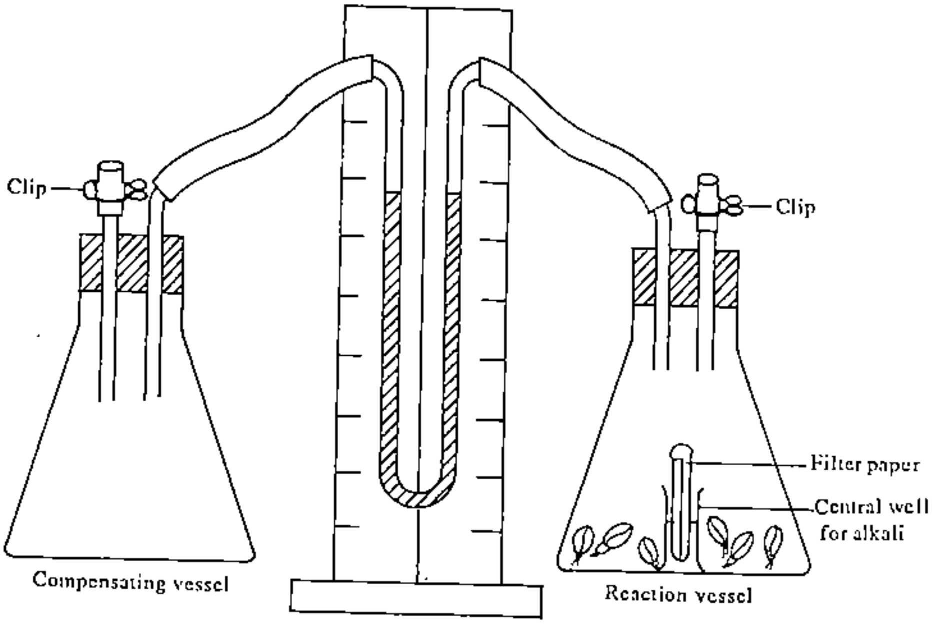


Fig. 2.1: The construction of various types of manometer (a to c).

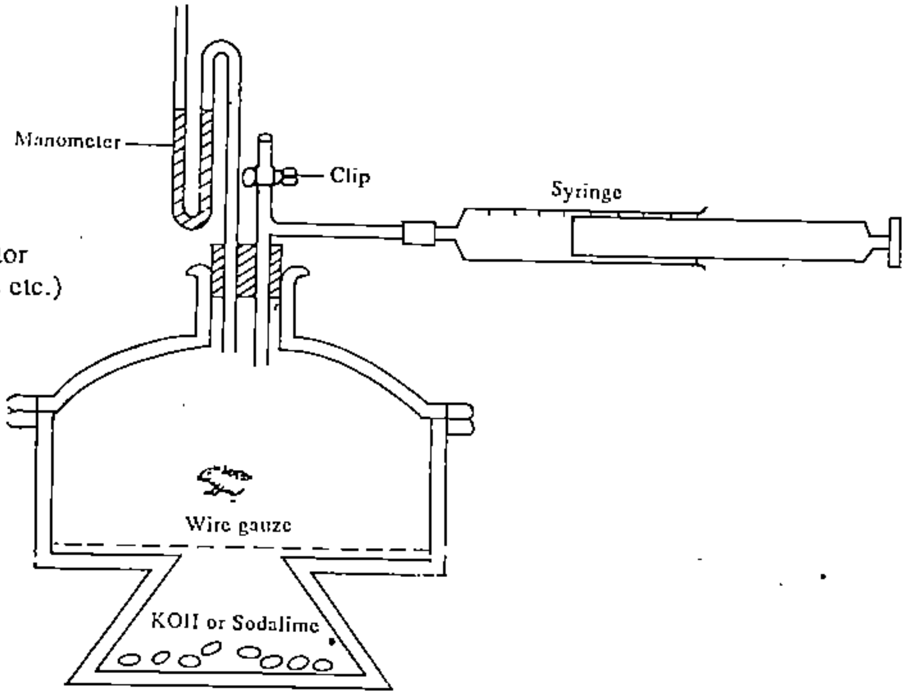
(c)
A simple
pipette manometer



(d)
A double chambered
manometer (Barcroft)



(e)
Vaccum desiccator
manometer (for rats etc.)



Warburg's manometer is not available a simple pipette manometer or a double chamber manometer can be assembled in the laboratory. It indicates a decrease or increase in the volume of gas during the reaction at constant temperature and atmospheric pressure. The respiring tissue or organism is enclosed in a small air-tight flask. The released CO_2 is eliminated by keeping concentrated KOH solution or pellet in a small tube or by some other device in the flask. For green plant tissue it is necessary to work in dim light to avoid photosynthesis.

You should know that for research purposes very sophisticated instruments such as infra red gas analyser or oxygen electrode are used for the measurement of gas exchange.

The construction of various types of manometers is shown in Fig. 2.1

In this exercise we advise you to use a simple manometer (Fig. 2.1c). It is likely that your counsellor may provide you a manometer with some variations, however, they all work on the same principle.

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- demonstrate that living roots respire actively
- construct a simple manometer and
- measure the rate of respiration in a given plant tissue.

2.2 MATERIALS REQUIRED

boiling tube or a hard glass wide mouth test tube

germinating mung bean or rose flower buds or roots of a herb

T-tube

rubber bung

rubber tubing

pinch clip

graduated pipette (100 μl/digit)

conical flask — 500 ml

thermometer

stop watch

KOH pellets

phenolphthalein

2.3 PROCEDURE

A. Demonstration of Respiration in Roots

(work in groups of four)

1. Take out two small plants alongwith their roots (from the lawns of the college). Clean the roots thoroughly in running water.
2. Place roots of one of the plants in boiling water for 5 minutes.
3. Fill two small beakers with tap water and add two drops of phenolphthalein indicator in both.
4. Place untreated roots in one beaker and boiled roots in the other.
5. Observe changes in the colour of phenolphthalein in both the beakers after 5 minutes.

3 SEPARATION OF LEAF PIGMENTS BY CHROMATOGRAPHY

3.1 INTRODUCTION

Living things contain thousands of different molecules in a single cell. If we want to study a single molecule it is necessary to separate it from the rest of them. Chromatography is one of the most effective and widely used technique for separation and identification of biomolecules. Different kinds of chromatography have been evolved and improved during the last fifty years. The technique can also be used for large scale separation of compounds after making some technical modifications.

Chloroplasts of higher plants contain photosynthetic pigments, predominently chlorophylls *a* and *b* and the two carotenoids β-carotene and xanthophyll. These are located in the thylakoid membranes in the form of pigment—protein complexes in the lipid bilayer. Carotenoids are also present in chromoplasts which are present in colourful petals of flowers and in fruits. The pigments can be extracted with organic solvents.

In this exercise you will learn to extract the pigments from leaves, separate them by chromatographic technique and identify certain pigments by their chromatographic behaviour and colour.

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- extract pigments from leaves
- separate leaf pigments by paper chromatography and
- use the technique of paper chromatography for the separation of other organic compounds such as amino acids and sugars.

3.2 MATERIALS REQUIRED

fresh lawn grass (*Cyanodon*)

separating funnel (25 ml)

water bath

filter paper (Whatman 5 MM or Whatman 1)

petroleum ether,

solid sodium sulphate

distilled water

capillary tube (used for finding M.P.) or fine painting brush

specimen jars with lid or gas collecting jars with a cover

3.3 PROCEDURE

A. Extraction of Pigments

(Your counsellor will demonstrate this part of the experiment)

1. Take 10 grams of fresh or 0.5 gram of dry leaves (10 leaves about 1 inch long) in a small flask and add 5 ml. of 90% acetone to it. Add less than a pinch of $CaCO_3$. Keep it in a boiling water bath for extraction. Strain the liquid to get a

clear extract. Take the extract in a small separating funnel and add 10 ml. of petroleum ether. Mix by gentle rotation for 30 seconds. Wash it with 10 ml. of distilled water. Place the funnel on a stand to let it settle. Remove the aqueous acetone layer and discard it. Take petroleum ether layer in a test tube and add 1 gm of solid sodium sulphate and let it settle for a few minutes. Drain the liquid in a small beaker and use it for chromatography.

Save the pigment extract for the observation of fluorescence and determination of absorption spectra of the pigments.

B. Running the Chromatogram

1. Fill the specimen jar up to a height of 1 cm with a mixture of petroleum ether : acetone (9:1). Close it with the lid and let it saturate with vapours of the solvent.
2. Cut 20 cm long 2.5 cm wide (or according to the length of the specimen jar) strip of Whatman 1 filter paper. Draw a line at about 2.5 cm with a pencil. Apply the sample on this line carefully using a fine painting brush or by a capillary. Once it is dry apply again at the same line. Repeat the procedure until a fairly good concentration of the sample (a dark green line) is built up. Take care not to spread the sample. It should be a fine green line.
3. To place the strip in the centre of the jar, take a thick square size paper, a few inches bigger in size than the mouth of the jar. Fold it and place the Wharman paper strip between the folds perpendicular to the line of fold. Pin them together with a paper clip. Open the folded side. Now the strip can be hanged in the jar keeping the thicker paper above the mouth. You may use some other device to hang the paper or stick it with gum paper.
4. Open the jar and hang the strip carefully. Make sure that its lower edge is dipped in the solvent layer but the pigment spot remains well above it. The paper should not touch the walls of the jar. Leave the jar undisturbed. Note the solvent front from time to time and allow it to run until the solvant front reaches almost to the top edge of the paper or till the individual components are separated as four sharp bands.
5. Take out the chromatogram carefully and dry it. Mark the solvent front and circle the pigments immediately, because they tend to fade rapidly when dry.

C. Observation of Fluorescence

1. Take the acetone extract in a test tube and observe it against transmitted light. What is the colour of the solution?

   ....

2. Now see this solution with light behind you, that is, in reflected light. What colour do you observe?

   ....

D. Determination of absorption spectra of pigments

(This will be demonstrated by your counsellor)

3.4 RESULTS

Identify the pigments by their colours. Make the diagram of the chromatogram and show the pigments using appropriate colours. (Use pencil or crayons).

Measure the distance from base line to the centre of each spot. Calculate Rf value for each spot.

$$Rf = \frac{\text{distance travelled by the pigment from the start}}{\text{distance travelled by the solvent}}$$

Pigment	Colour	Rf value
Chlorophyll *a*	blue green	
Chlorophyll *b*	green	
β-carotene	Yellow	
Xanthophyll	Yellow brown	

If you obtain any extra bands they could be due to chlorophyllide (green) and phaeophytin (yellow grey) the breakdown products of chlorophyll formed during isolation procedure. Discuss below the problems faced if any in performing the experiment. Make a tracing of the chromatogram in the space provided below.

3.5 PRECAUTIONS

1. Hold the chromatogram from an edge only so as to avoid finger marks.
2. Try to get a very small but concentrated line of the pigment.
3. Choose a dim corner for working. Keep pigment solution and the chromatogram away from light because the pigments break down on exposure to light.
4. The jar must be saturated with solvent. Therefore, do not leave it without lid except while you hang the chromatogram. Moreover petroleum ether evaporates very fast, so it would disappear in no time.
5. Do not let solvent mixture run beyond the end of paper.

SAQ

1. Why do we add $CaCO_3$ during extraction of pigments.

   ....

2. Why do we add Na_2SO_4 in pigment extract?

   ....

3. Predict from the colour of pigments in which region of light they would show absorption peak?

....

....

....

4. What is the role of carotenes in photosynthesis?

....

....

5. What is the chemical difference in chlorophyll *a* and chlorophyll *b*?

....

....

6. Why are the pigments not soluble in water?

....

....

7. When the aqueous methanol is added to the petroleum ether extract chlorophyll *b* and xanthophyll dissolve in this layer but chlorophyll *a* and carotenes remain in the petroleum ether. What does it show?

....

....

8. Which of the following colours of light works best for photosynthesis?

   i) Green

   ii) Blue and red

   iii) Yellow

   iv) Violet and yellow.

9. The red, orange and yellow brown colours of autumn leaves are due to the presence of:

   i) Chlorophyll *a*

   ii) Chlorophyll *b*

   iii) Carotenoids

10. Why do you observe red colour of the extract with light behind you?

....

....

4 PHOTOREDUCTION OF DYES BY ISOLATED CHLOROPLASTS

4.1 INTRODUCTION

In the process of photosynthesis, photolysis (splitting in the presence of light) of water releases oxygen and electrons. The electrons travel through a series of carriers— cytochromes, plastoquinone and ferridoxin and finally reduce $NADP^+$ to NADPH. In 1937 Robin Hill and his colleagues first showed evolution of O_2 by illuminated suspension of isolated chloroplasts when provided with artificial electron acceptors such as ferricyanide. Ferricyanide is reduced to ferrocyanide by photolysis of water. This experiment demonstrated that artificial electron acceptor can substitute naturally occurring acceptors. The photoreduction of dyes by chloroplasts is commonly referred to as Hill reaction. In this exercise you will observe photoreduction of 2, 6 -Dichlorophenol indophenol an artificial electron acceptor by isolated chloroplasts. It is blue in oxidised state (quinone form) but becomes a colourless compound when reduced (phenol form).

$$\text{DCPIP (blue)} + H_2 \xrightarrow[\text{chlorophyll}]{\text{light}} \text{DCPIP–}H_2 \text{ (colourless)} + \frac{1}{2} O_2$$

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- isolate chloroplasts from leaves and
- show photoreduction of dye by illuminated suspension of chloroplasts.

4.2 MATERIALS REQUIRED

30 g leaves of any of the following plants: amaranthus, mursa, green cabbage, cauliflower leave or spinach

0.5 M sucrose

0.4 M phosphate buffer (pH 6.5)

0.1%, 2, 6 -dichlorophenol indophenol (DCPIP)

cheese cloth, nylon or fine muslin

mortar and pestle

ice bucket

centrifuge

4.3 PROCEDURE

A. Isolation of Chloroplasts

(work in a team of four students)

1. Keep leaves in the dark overnight before use. Keep solutions, leaves, motar and pestle and glassware handy under refrigeration at 0°C for maintaining the activity of chloroplasts.
2. Take 30 g of washed prechilled leaves and grind them with 40 ml of ice cold 0.5 M sucrose in a precooled mortar and pestle kept in the ice bucket.
3. Filter the homogenate through four layers of cheese cloth, or muslin. Centrifuge the

filtrate at 500 × g in a laboratory centrifuge for 5 minutes. (maximum speed of laboratory centrifuge is about 3000 rpm).

4. Discard the supernatant and suspend the pellet in 3 ml of sucrose solution and centrifuge again at 2000 × g. Resuspend the pellet. Keep it in the dark in refrigerator or in an ice bucket.

B. Photoreduction of the Dye

1. Take 3 test tubes and label them 1 to 3. Add 8 ml of 0.4 M phosphate buffer (pH 6.5) to each.

2. Now add 1 ml of chloroplast suspension and 1 ml of 0.1% dye solution in test tube 1 and 2. Leave tube 1 in light and 2 in the dark.

3. Inactivate 1 ml of chloroplast suspension by keeping it in boiling water for 5 minutes. Mix it with the buffer in test tube 3 and add 1 ml of dye solution. After 10 minutes observe change in the colour in three test tubes.

   If centrifuge is not available the filtrate can directly be used for the reduction of DCPIP.

4.4 RESULTS

Record your results as follows:

Test Tube No.	Chloroplast Suspension	Treatment	Change in the colour of dye
1.	Untreated	Light	Yes/No
2.	Untreated	Dark	Yes/No
3.	Boiled	Light	Yes/No

4.5 PRECAUTIONS

1. Leaves must be left in the dark overnight before use.
2. All the solutions, materials and equipment used for the isolation of chloroplast must be chilled before and during the isolation.
3. The various operations should be performed as quickly as possible.
4. It is necessary to grind leaves gently.

SAQ

1. Why is it necessary to chill apparatus and solution for the isolation of chloroplasts?

   ....

   ....

   ....

2. Why is the dye not reduced by chloroplasts in the dark?

   ....

   ....

3. Why is sucrose added to the isolation mixture?

   ....

   ....

4. Why is it necessary to minimise grinding?

   ....

   ....

5.4 RESULTS

Make the following plots:

1. µl of O_2 evolved/min/cm^2 of leaf against time with fixed light source.

2. µl of O_2 evolved/min/cm^2 of leaf against varying light intesity ($\frac{1}{d^2}$)

Calculate the rate of photosynthesis

$$\text{rate} = \frac{\mu l \text{ of } O_2 \text{ evolved} + O_2 \text{ taken up in the dark}}{\text{wt in g of leaf} \times \text{time in hours}}$$

Indicate the rate of photosynthesis in increasing order below when different colours of light are used.

....

5.5 PRECAUTIONS

1. Make sure that pipette is kept in horizontal position.
2. The whole system must be air-tight. Perform a check before use (see exp. 2).
3. Do not grease the rubber bung.
4. Loosen pinch clip while you equilibrate the assembly.
5. The equilibration of the apparatus should be done before taking the readings.
6. Keep a beaker filled with water between the light source and specimen for experiment c.

SAQ

1. What would be the pattern of gas exchange between plant and environment during night, early morning, noon and evening?

   ....

   ....

   ....

2. Why is sodium bicarbonate solution taken in the test tube?

   ....

   ....

3. Why is marker positioned at the right extreme of pipette during respiration and at the left extreme during photosynthesis?

   ....

   ....

7 MICROSCOPIC OBSERVATIONS ON THE OPENING AND CLOSING OF STOMATA

7.1 INTRODUCTION

The exchange of carbon dioxide and oxygen gases and loss of water in a plant occur via stomata present in the epidermal layer of the leaf. The stomatal pore is surrounded by a pair of guard cells which control its opening. When the turgor pressure in guard cells increases stomata opens and when it decreases the guard cells collapse together and close the stomata. The change in turgor pressure occurs due to entry and exit of K^+ ions in the guard cells from the surrounding epidermal cells. The uptake of K^+ ions requires ATP. Negatively charged ions like malate may also move along with K^+ ions maintaining electrical balance and contributing to the change in osmotic potential of the guard cells.

In this exercise you will observe stomatal movement under the light microscope induced by 0.5 M KCl solution.

Objectives

After doing this experiment you will be able to:

- demonstrate opening and closing of stomata by inducing changes in turgor pressure.

7.2 MATERIALS REQUIRED

leaves of *Rhoeo discolor*

distilled water

light microscope

petridishes (two)

dropper

slides

cover slips

0.5 M KCl solution

7.3 PROCEDURE

Peel off lower epidermal layer of leaf (lower side) with the help of a forceps. Cut 1 mm square piece and mount it in a drop of water. Observe it under the microscope and study stomata. Draw a rough diagram and record your observations. Now add from one side of the cover slip solution of 0.5 M KCl and remove water from the other side

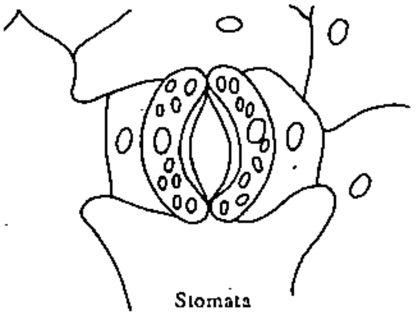


Fig. 7.1 : Structure of Stomata

with the help of filter paper. Observe changes in stomatal aperture. Now you may remove KCl solution and add distilled water. Observe it again after 5 or 10 minutes.

7.4 RESULTS

1. Structure of stomatal apparatus of the leaf before any treatment.
2. Changes in the stoma cells after the addition of:
   i) KCl solution and
   ii) distilled water.

Draw the structure of stomata as observed in the space provided below.

7.5 PRECAUTIONS

1. Wash your hands thoroughly before working with slide and microscope.
2. Spread neatly a clean white paper on the working bench to keep slides, coverslips, dropper, forceps etc.
3. Keep underside of the leaf up while preparing mount.
4. Do not mess up the slide with KCl Solution. Try to be very clean.
5. Hold the coverslip only by edges.

SAQ

1. Suppose a student uses NaCl solution instead of KCl. Will he observe the same results? Justify your answer.

   ....

   ....

   ....

2. What changes would occur in the water potential of guard cells on entry of K^+ and malate ions?

   ....

   ....

   ....

8 MEASUREMENT OF WATER POTENTIAL OF A PLANT TISSUE

8.1 INTRODUCTION

One of the important conditions for maintenance of the physiological active state of a plant is the favourable water balance. Water is an important constituent of a plant cell. It is the solvent for entry and transport of substances and for metabolic reactions, often a reactant itself. When the supply of water to the plant is inadequate, the development is reduced because all its vital functions proceed at reduced rate. Prolonged desiccation is lethal to an actively growing plant.

In Unit 11 (LSE-05) you have learnt about the physical principles that govern the net water fluxes from one cell to the next cell and the bulk movement of water in soil-plant atmospheric system. Water potential is the driving force which causes water to move in plant system.

The aim of this experiment is to determine the water potential of a plant tissue. This could be found out by placing uniform pieces of tissue of known weight and volume in a series of concentrations of sucrose solution and then determining in which of the solutions there will be no net movement of water in the tissue. This would happen if water potential of the external solution ψ_{we} is equal to the water potential of the tissue ψ_{wt}. In other words, the tissue will either gain or lose weight and volume due to differences in $\Delta\psi_w$ of external solution and the tissue.

It is also possible to know the water potential of a tissue by measuring only the decrease or increase in the length of the tissue instead of weight and volume. In this exercise you will determine water potential of potato tuber by placing the pieces in various concentrations of sucrose solution and then finding changes in length after a period of time.

8.2 MATERIALS REQUIRED

large firm potatoes

1 M sucrose solution

4 or 5 mm cork borer

12 wide mouth test tubes (15-20 ml) or 12 small beakers (50 ml)

glass rod

razor blade

graph paper

8.3 PROCEDURE

Take 12 test tubes and label them 1 to 6 and 1a to 6a. Arrange these two sets in a test tube rack. Obtain 100 ml of 1 M sucrose solution from your counsellor and dilute proper aliquots of this to make 0.15 M, 0.2 M, 0.25 M, 0.3 M, 0.35 M and 0.4 M sucrose as shown in the table on the next page.

1. Using a cork borer of approximately 0.5 mm diameter take out 12 cylinders from a single potato. Trim all to a uniform length of 4 cm with a razor blade. Wrap them in a moist paper towel or filter paper.
2. Lay each piece one by one on a graph paper and measure their length. As soon as you measure the length of a piece record it in the given table.

Test Tube No.	Amount of 1 M Sucrose in each tube	Distilled Water in each tube	Molarity
1 and 1a	3 ml	17	0.15 M
2 and 2a	4 ml	16	0.20 M
3 and 3a	5 ml	15	0.25 M
4 and 4a	6 ml	14	0.30 M
5 and 5a	7 ml	13	0.35 M
6 and 6a	8 ml	12	0.40 M

3. Cut it into 8 pieces of equal size and place them in test tube 1 containing sucrose solution. Repeat the procedure for the rest of the pieces (1 to 6 and 1a to 6a) and then leave them for 2 hours, occasionally shaking in between with a glass rod.
4. After two hours take out slices beginning with tube 1. Blot gently on filter paper, arrange them together lengthwise and measure the length on graph paper. Similarly measure the length of the pieces in other tubes in the same order in which you had initially placed them in the tubes.

8.4 RESULTS

Record your results in the table below:

No. of Tubes.	Molarity of Sucrose	Initial length X Xa	Change in length X Xa	Average of X and Xa	% of change in length.
1 and 1a	0.15				
and					
2 and 2a	0.20				
and					
3 and 3a	0.25				
and					
4 and 4a	0.30				
and					
5 and 5a	0.35				
and					
6 and 6a	0.40				

Calculate the percentage of change in length:

$$\% \text{ of change in length} = \frac{\text{Final length} - \text{Initial length}}{\text{Initial length}} \times 100$$

Plot percentage of change in length versus molarity of sucrose.

3. Place 50 barley seeds in a beaker and add 5% solution of sodium hypochlorite (NaOCl). Leave for 10 to 20 minutes. Swirl the beaker occasionally. After decanting the solution, wash the seeds 5 times by shaking them vigorously with sterilised water. Use 10 ml of water each time.

4. Tap the seeds into a petridish containing 10 ml of sterile water. Sterilise your scalpel and cut the seeds transversely across the middle of each. Keep grouping separately seed-half containing the embryo and seed-half that are embryoless.

Now add 1 ml of sterilised water in each petridish and prepare them as follows:

Use forceps for keeping the seed halves in the petridish.

Petridish No.	Component
1	Evenly place 6 halves having embryos
2	Place 6 embryoless halves.
3	Add 10 µl of 1.0 µM GA_3 and place 6 embryoless halves.
4	Add 100 µl of 1.0 µM GA_3 and place 6 embryoless halves.
5	Place only drop of GA_3 on the agar plates instead of seed halves.

Keep the dishes at convenient place at 20° C. After 24 hours add iodine reagent (0.1 g I_2 and 0.2 g KI in 100 ml water) on agar and note the petridishes that have stained halos around the seed-half.

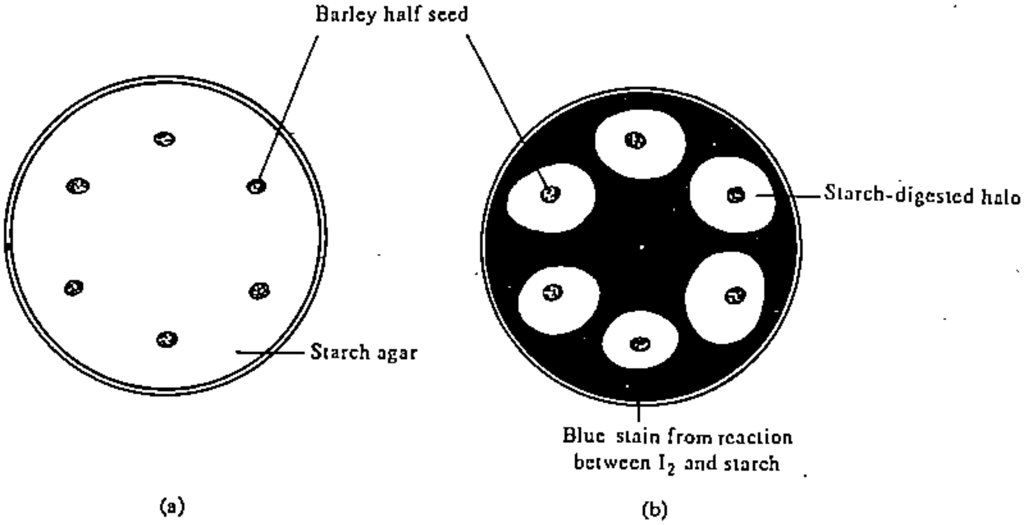


Fig. 9.1 : Barley half-seeds placed in starch-agar. a) Before incubation, b) after incubation and staining with I_2/KI solution. Note the starch digested holes.

9.4 RESULTS

Indicate stained halos by + sign and absence of halos by – sign.

Petridish No.	Treatment	Halos observed
1	Half seeds with embryos	+ / –
2	Embryoless half seeds in water	+ / –
3	Embryoless half seeds in 10 µl of 1.0 µM GA_3	+ / –
4	Embryoless half seeds in 100 µl of 1.0 µM GA_3	+ / –
5	Only GA_3 drops.	+ / –

SAQ

1. Compare the halos of non-treated half seeds having embryos with embryoless half seeds and explain your results.

   ....

   ....

2. Why do you require asceptic conditions for performing this experiment?

   ....

   ....

3. Why embryoless half seeds were used in this experiment?

   ....

   ....

Calculate average increase in length.

$$\frac{\text{Total increase in length}}{10} =$$

Record the results of Part B in table provided below:

Sequence of Segment from tip to base	**Increase in the length after 24 hours**	**Average increase in Length**
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

SAQ

Which of the coleoptile segments responds most to 2,4-D?

....

....

11 TO TRACE THE PATH OF POLLEN TUBE

11.1 INTRODUCTION

Pollen grains are formed in pollen sacs and after dehiscence the pollen grains are released. Pollen grains are shed at 2 or 3 nucleate stage. They reach their destination, the stigmatic surface of the pistil through various agencies. The transfer of pollens from anther of one flower to the stigma of another flower is pollination. Once they are at the stigma, the pollens need to find a way for the male gemetes to the egg located inside the female gemetophyte for fertilization. For this purpose, the pollen grains germinate on stigma and put forth tubes known as pollen tubes which grow through the style and find their way into the ovules. Here male gametes are released and fertilization occurs. Here you will study the path of pollen tube in pollinated *Portulaca* plant.

Objectives

- To trace the path of pollen tube through stigma and style to the pistil of *Portulaca.*

11.2 MATERIALS REQUIRED

Portulaca flowers
Lactophenol
Cotton blue
Forceps
Needles
Slides
Coverslips
Microscope

11.3 PROCEDURE

Take a *Portulaca* pistil and place it on a clean slide. With the help of forceps dissect out stigma and style carefully. Place two or three drops of cotton blue solution on them, followed by two drops of lactophenol. Warm the slides gently for two or three minutes. Tease the stigmatic and stylar tissue gently. Place a coverslip and tap to spread the mounted material. Now the slide is ready for observation (Fig. 11.1).

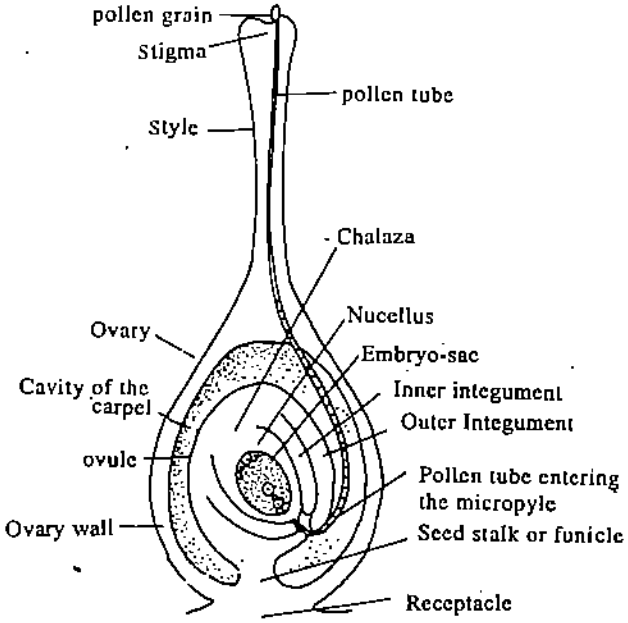


Fig. 11.1: Path of pollen tube.

12 TO OBSERVE THE GERMINATION OF POLLEN GRAINS USING A HANGING DROP PREPARATION

12.1 INTRODUCTION

Flowering plants are diploid and specialised organs for reproduction are present in flower. The stamens are the male organs. In most angiosperms each stamen is composed of an anther and a filament. The anther mostly contain four microsporangia which are joined to the connective. The anther wall consists of four layers: (i) The epidermis (exothecium) (ii) endothecium (iii) middle layer(s) and (iv) tapetum. In each microsporangium the central region contains microspore mother cell or Pollen mother cell, which eventually form the pollen grains.

Microspore mother cell undergoes meosis which results in the formation of tetrads. Each cell has one haploid nucleus. The microspore start to differentiate while associated in tetrad and gives rise to four pollen grains.

The second phase is microgametogenesis, when pollen grain undergoes mitotic division and forms a large vegetative cell and a small generative cell. The generative cell in most of the species divides to form two sperm cells, before the germination of pollen tube. Pollen grains are carried to the stigma by various agents. Pollen germinates by producing pollen tube through germination aperture (germ pore). Pollen tube travels through stigma and style and reaches the embryo sac and finally enters the ovule where fertilization occurs.

Objectives

After doing this experiment you will be able to:

- recognise various surface type structure of pollen grains,
- define pollination,
- observe the pollen germination through spore aperture or germ pore,
- describe the temporal growth of pollen tube.

12.2 MATERIAL REQUIRED

Pollen grains from *Tradescantia* and *Impatiens*

Slides

Cavity slides

Cover slips

4-10% sucrose solution, 1% Boric acid solution

Dissecting instruments

Microscope

12.3 PROCEDURE

For studying the germination of pollen grains you will use hanging drop technique. You may first practice the technique of making hanging drops as described below and then use the technique for the study of germination of pollens.

i) Study of Pollen grains

It will be beneficial to you if you get aquainted with the pollen grains Fig. 12.1. First of all examine the pollen grains under lower power and then under high power of the

microscope. Draw the structure of pollen grains and then observe the difference in size, surface appearance and shape.

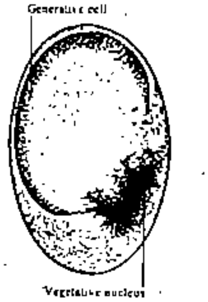


Fig. 12.1: Pollen of *Tradescantia*

ii) Preparation of Hanging Drop

1) Apply a thin film of petroleum jelly or any sealing substance around the rim of the cavity slide.

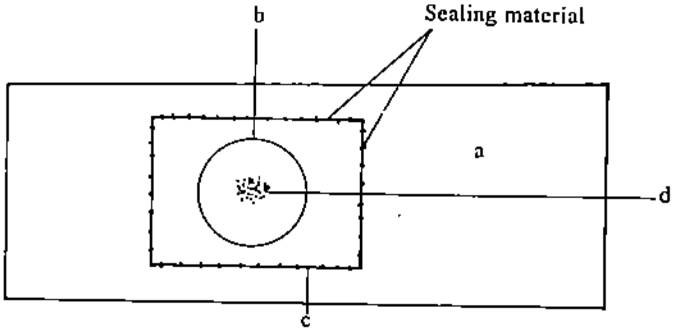
2) Place carefully 50 µl drop of culture medium on a clean dry coverglass or coverslip. The volume of the culture medium drop should be such that it does not spread and come in contact with the rim or the bottom of the cavity, or with the sealing substances.

3) Medium that can be used for *Tradescantia* is 6-10% sucrose and 100 mg/1 Boric acid.

4) Add a suitable amount of pollen grains to the medium drop and mix throughly with a needle to obtain a homogeneous pollen suspension.

5) Carefully invert the coverglass with the pollen suspension over the cavity such that the pollen culture drop is suspended in the center of the cavity. Pollen grains move to the lower miniscus of the hanging drop and are exposed to the atmosphere of the cavity.

6) Apply gentle pressure around the edges of the coverslip, to seal the cavity (with the coverslip and the sealing material applied earlier around the rim of the cavity or edge of the coverslip (Fig. 12.2, 12.3).



A having drop culture from top view.
a - cavity slide, b - Cavity,
c - Coverslip, d - Pollen grain culture in the drop

Fig. 12.2: A hanging drop culture from top view, a-cavity slide, b-cavity, c-coverslip, d-pollen grains in the culture drop.

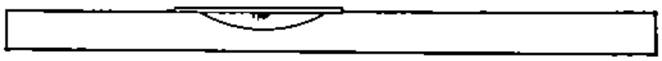


Fig. 12.3: Side view of the cavity slide with pollen culture.

9) Now label the culture slide. The slide is ready for observation. Record the time taken for germination.

12.5 PRECAUTIONS

1. The density of the pollen grains should be optimum. Smaller number of pollen might not show satisfactory germination due to insufficient concentration. Similarly too large number of pollen grains will not show satisfactory germination as nutrients in the culture medium may become limiting factor.
2. The optimum number of the pollen grains must be 15-20 per microscopic field.
3. Pollen grains should be equally distributed in the suspension to get good results.
4. Adequate number of replicates should be taken to minimize experimental errors.
5. Wash your hands thoroughly before leaving the laboratory.

13 TO MAKE PREPARATION OF STAGES IN THE DEVELOPMENT OF EMBRYO *RAPHANUS SATIVUS*

13.1 INTRODUCTION

In angiosperm a perfect specialised reproductive structure as a flower is present. Its major function is the production of egg and sperms. The egg is formed in female gametophyte within ovule which has integuments and nucellus. Sperms are generated in pollen grains while pollen grains develop in anther. After fertilization the seed is formed. The zygote undergoes divisions and differentiates to form embryo. In this experiment, you will observe various stages in the development of embryo.

Before doing this experiment you should go through unit 5 of LSE-06.

Objectives

After doing this experiment you will be able to

- identify various stage of embryo development
- recognise dicot embryo

13.2 MATERIALS REQUIRED

Plants of *Raphanus* or *Brassica* or *Heliant'*
Needles
Microscope
Iodine solution

13.3 PROCEDURE

Fruits in various stage of development will be provided to you. Here we are giving the example of *Raphanus sativus*. You have to select fruits of different sizes or ages. Collect the fruits in watch glass and mark them differently. Tease out gently one or two ovules from each fruit on a slide in a drop of iodine solution. Cover the ovule with a coverslip and press gently with the handle of a mounting needle. This should squeeze out the embryo unharmed. Put a coverslip on embryo and tap gently. The slide is ready for observation.

13.4 OBSERVATION AND RESULTS

You should observe major phases of embryo genesis by working out the gross morphology of the embryo at different stages of development.

i) linear stage of embryo

ii) globular stage of embryo which usually appears spherical

iii) heart shape embryo with 2 primordia

iv) mature embryo with two cotyledons

Draw each stage and compare it with the various stages drawn in your book. Also, tabulate the differences at every stage. Try to see each stage which is given in your book but if you don't find them, you can see them in P.M. provided by your councellor.

14 TO DISSECT OUT ENDOSPERM HAUSTORIA FROM *CUCUMIS SATIVUS*

14.1 INTRODUCTION

Endosperm is the nutritive tissue for the developing embryos in angiosperms. The endosperm is the product of double fertilisation and is usually triploid. Some times it is consumed by the developing embryo or it may persist in mature seed to support the growth of embryo during germination. Endosperm of some species develops a special structure called haustorium which modifies variously and tremendously to get the metabolites for developing embryo. Haustoria which develops at chalazal end are known as chalazal haustoria and the ones that develop at micropylar end are micropylar haustoria. In some plants haustoria develops at both the ends. In *Cucumis sativus* haustoria develops at the chalazal end. The endosperm is of nuclear type. The chalazal region extends into a long tubular haustorium with flattered spoon shaped tip.

Before doing this experiment you should go through unit 4 of LSE-06.

Objectives

After doing this experiment you should be able to:

- recognise endosperm haustoria and describe its structure and possible functions.

14.2 MATERIALS REQUIRED

Dissecting microscope

Needles

Cucumis sativus seed at various stages of development

1.5% saffranin

Spirit lamp

Slides

Cover slips

14.3 PROCEDURE

You will be provided the seeds of *Cucumis sativus* at various stages of ripening.

1. Split open the seed in two parts with the help of a blade or scalpel and you will be able to see the gelatin-like endosperm haustorium attached at the chalazal end.
2. With the help of forceps and needle gently take out the haustorium and place it on a clean slide. Take out the endospermic haustoria carefully so that globular embryo at the micropylar end remains intact. Coenocytic tail like structure should be observed at the chalazal end.
3. Add few drops of saffrinin/acetocarmine and heat a little. Then place a coverslip carefully and observe the morphology of the structure.

14.4 OBSERVATIONS

You should be able to observe a haustorium with a distinct globular end followed by long tubular region. The tubular region is coenocytic region. This region contains dense cytoplasm and numerous nuclei. The globular end is formed of cells. Draw a labelled diagram of the haustoria in your notebook. And try out these SAQs.

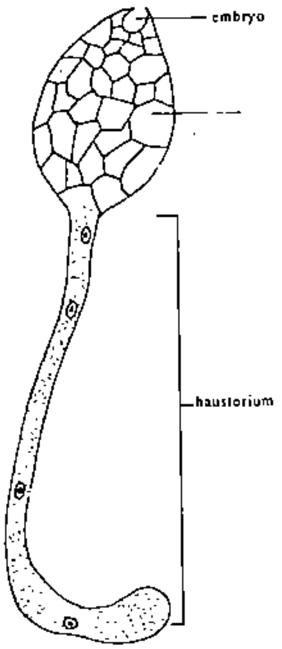


Fig. 14.1: Endosperm haustoria.

SAQ

1. What is the most common ploidy nature of the endosperm?

....

....

....

....

2. What is the role of endospermic haustoria?

....

....

....

....

3. Cite few examples of endospermic haustoria.

....

....

....

....

14.5 PRECAUTIONS

1. Dissect out endosperm alongwith the embryo and haustorium carefully so that the entire structure is transferred to the slide.
2. Take care not to overheat the slide.

15 STUDIES ON MALE AND FEMALE GAMETOPHYTE OF ANGIOSPERMS

15.1 INTRODUCTION

Sexual reproduction in flowering plants requires the coordinated development of two reproductive organs of the flower, the anther and the pistil. In sexual reproduction basic processes are meiosis and fusion of gametes. By meiosis there is rearrangement of genes and then reduction of the number of chromosomes and subsequently fertilization restores original diploid chromosome number.

Both anther and pistil show characteristic structures and developmental phases which can be observed through microscopical techniques. The microscopical technique plays a dominant role in the study of sexual reproduction of angiospermic plants. It is very difficult to observe directly all the structure involved as they are very minute. Besides, the gametophytic tissues are deeply embedded in the surrounding tissues of the sporophyte. Thus, prepared slides of male gametophyte and female gametophyte can help you understand better the development of these structures as described in Unit 1, 2 and 3 of LSE-06. When you are observing the slides, you will see how the structures resemble. Draw these structures, exactly as you observe them in the given slide and not as you see them in the book.

Objectives

After going through these prepared slides of male and female gametophyte you will be able to:

- describe the structure of a male gametophyte—anther and a female gametophyte—ovule
- give structural details in the development of male gametophyte.
- describe the structural details of single pollen grain
- distinguish various types of ovules.
- identify the different stages of development of the embryo sac and describe a mature embryo sac.

15.2 MATERIALS REQUIRED

A For Studies on Male Gametophyte

T.S. young (developing) anther

T.S. anther showing tetrad

T.S. mature anther showing pollens.

B For Studies on female gametophyte

L.S. ovaries showing various types of ovules.

Early stage in ovule development.

Two celled stage of megaspore mother cell.

Linear tetrad of a megaspore.

Ovule with binucleate embryo sac.

Ovule with 4-nucleate embryo sac.

L.S. of ovule through mature embryo sac.

Globular stage of embryo.

Heart-shaped stage of embryo.

Horse-shoe shape stage of embryo.

Mature embryo showing two dicotyledons.

15.3 PROCEDURE

Observe all the given slides carefully, make neat labelled sketches of them and write comments. (Draw the figures as you observe them under microscope. (Do not copy from the book).

15.4 OBSERVATION

A Studies on Male Gametophyte

T.S. Young (developing) Anther

1. It is a multicellular—four cornered structure.
2. It has four microsporangia and an intervening connective tissue which is linked with the filament.
3. The central region of each microsporangium contains the sporogenous tissue — microspore mother cells. They eventually form the pollen grains.

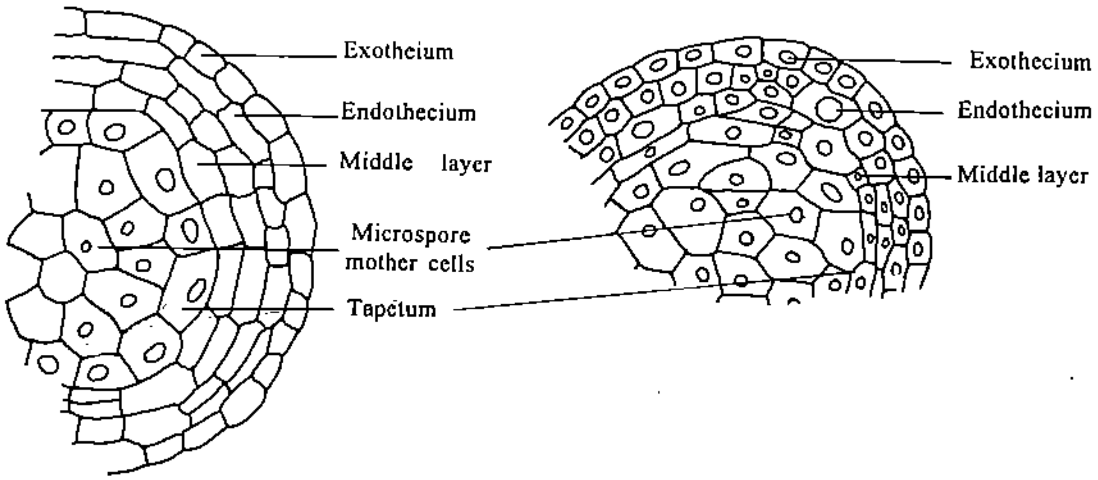


Fig. 15.1: T.S. of young developing anther.

4. All the microspore mother cells or pollen mother cells are interconnected by plasmodesmata.

T.S. of Anther Showing Tetrads

1. During microsporogenesis distinct changes occur in the anther wall.
2. The middle layer(s) usually get crushed gradually and ultimately degenerate.
3. The cells of the tapetum, in contrast enlarge and develop a complex ultrastructure, which indicates that they have become metabolically very active.
4. The cells of exothecium get stretched and endothecium develops fibrous thickening, the cells can also enlarge and become more vacuolate.
5. After microsporogenesis tetrads are formed.
6. The microspores start to differentiate whilst still associated in tetrads and encapsulated by callosic wall.

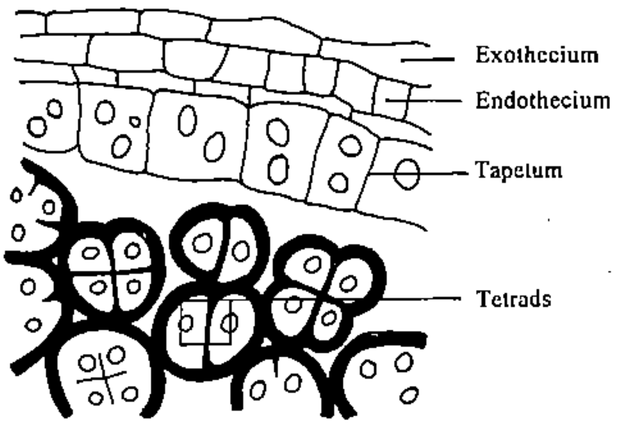


Fig. 15.2: T.S. anther showing tetrads.

T.S. of Mature Anther Showing Pollens

1. A typical anther is tetra sporangiate. It has a column of sterile tissue called the connective on either side of which is an anther lobe.
2. The mature anther wall comprises an exothecium and on inner side a layer of endothecium, 2 or 3 middle layers and a single layer tapetum.
3. Tapetum is the innermost layer of anther wall and attains its maximum development at the tetrad stage of microsporogenesis. Typically tapetum is composed of single layer of cells characterised by the presence of dense cytoplasm and prominent nuclei.
4. The sporogenous cells directly function as microspore mother cell or undergoes few mitoses to add up their number and then enter meiosis.
5. Each pollen mother cell by a meiotic division give rise to a group of four haploid microspores.

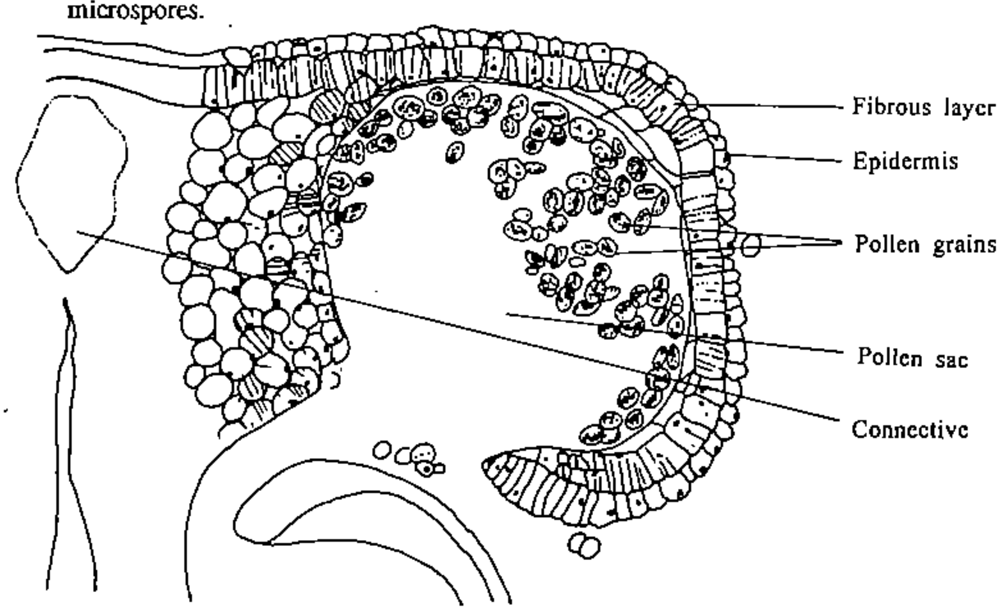


Fig. 15.3: T.S. mature anther showing dehiscence.

6. These aggregated four microspores are referred to as microspore tetrads.
7. Microspores, after release from the tetrads are known as pollen grains.
8. The pollen grain divides into two unequal cells. The bigger vegetative cell gives rise to pollen tube, and the small generative cell gives rise to two sperms by another mitosis.

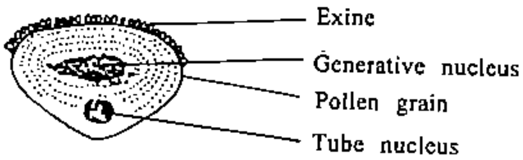


Fig. 15.4: Pollen grain.

9. Pollen grains have two layers, inner one is intine and the outer one is exine.

B. Studies on Female Gametophyte

L.S. of Ovaries Showing Various Types of Ovules

i) **Orthotropous:** When micropyle, chalaza and funicle lie in one straight line, eg., Polygonaceae, Urticaceae.

ii) **Anatropous:** When the funicle is sharply curved below the chalaza, so that the ovule is bent back along its stalk (or when the micropyle comes near to the placenta) eg. Sympetalae.

iii) **Amphitropous:** When longitudinal axis of the ovule is at right angle to the funicle/ or when the chalaza and micropyle are in a line at right angles to the funicle eg. Crossosomataceae.

iv) **Campylotropous:** When the ovule is bent upon itself and not upon the stalk so that the micropyle, chalaza and funicle and close together eg. Chenopodiaceae.

v) **Hemianatropous:** Here the body of the ovule is placed transversely or somewhat at right angle to funicle. Chalaza and microphyle are present in one straight line eg. Primulaceae.

vi) **Circinotropous:** Here the funicle is very long and the ovule rotates by 360° in such a way that it is completely circled around by the funicle and microphyle faces upward eg. Cactaceae.

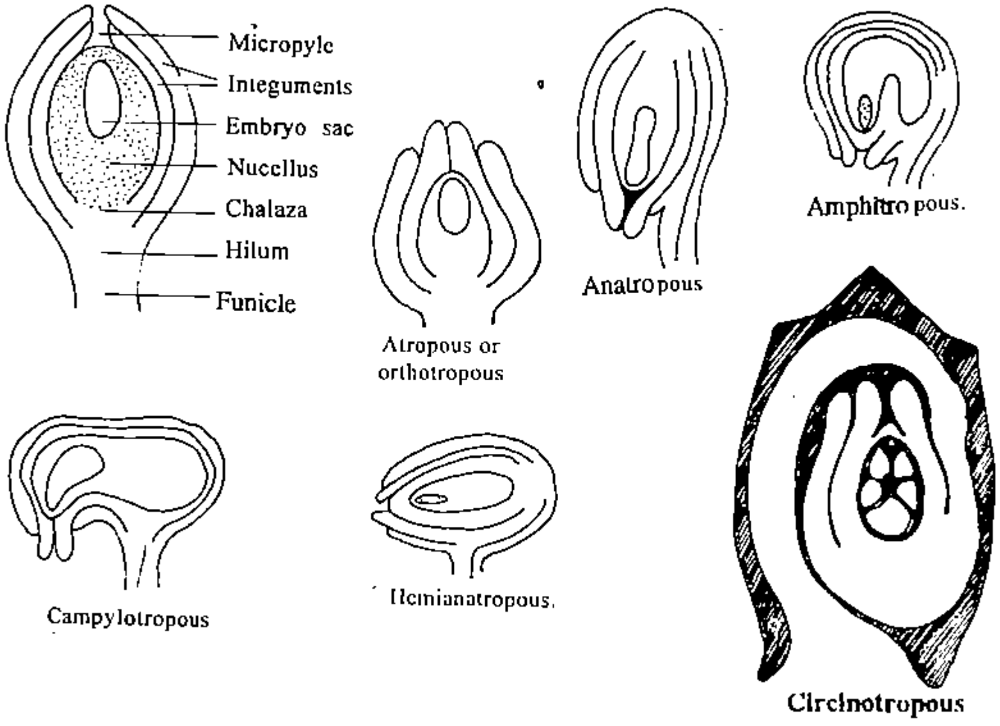


Fig. 15.5: Various types of ovules.

Early Stage in Ovule Development

1. In early stage of development, one cell of the nucellus develops into the megaspore mother cell.

2. The megaspore mother cell is conspicuous because of its much larger size, denser cytoplasmic content and more prominent nucleus.
3. Megaspore or Archesporial cell may directly behave as megaspore mother cell or it may cut off some parietal tissue.

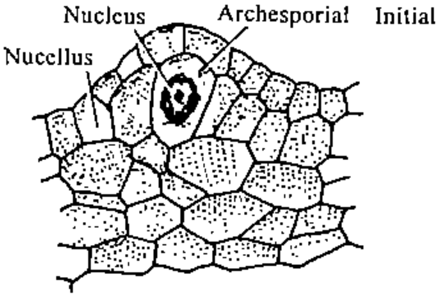


Fig. 15.6: An archesporial initial.

Two Celled Stage of Megaspore Mother Cell

1. Two cells are present one above the other.
2. These are formed after reduction division and thus each cell contains haploid set of chromosome.
3. From these two cells, tetrad is formed.

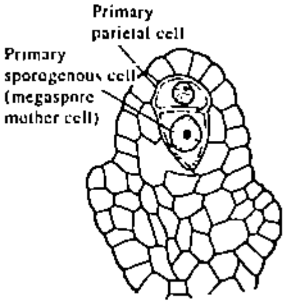


Fig. 15.7: Megaspore mother cell (2-celled stage).

Linear Tetrad of Megaspores

1. Four megaspore are arranged in linear fashion.
2. As a rule, one of the four resulting megaspores persists, while the other three degenerate.
3. The persisting, functional megaspore, which can be mono, bi-or tetranucleate develops into the embryo sac, the female gemetophyte.

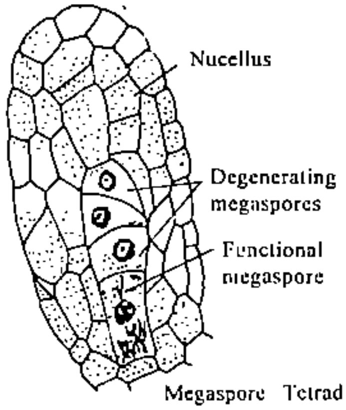


Fig. 15.8: Linear tetrad of megaspores.

Ovule with Bi-Nucleate Embryo Sac

1. Two nuclei are present in the embryo sac.
2. These two nuclei are formed by the division of the nucleus of the functional megaspore.

3. Next, the two nuclei get separated and because of a large vacoule migrate to the periphery.

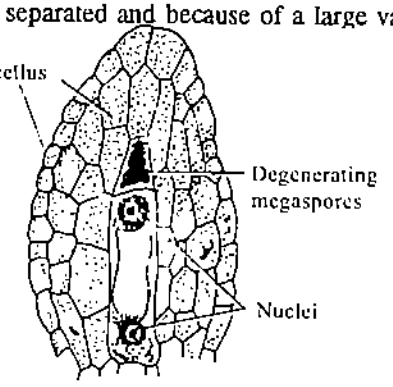


Fig. 15.9: Binucleate embryo sac.

Ovule with 4-Nucleate Embryo Sac

1. Embryo sac contains four nuclei.
2. Two nuclei are present near chalazal and other two near the micropylar end.
3. A large central vacuole is present.
4. At micropylar end traces of degenerated megaspores can be seen.

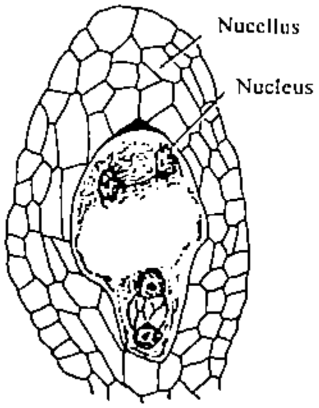


Fig. 15.10: Four-nucleate embryo sac.

L.S. of Mature Embryo Sac

1. The mature embryo sac is enclosed usually in a thin layer of nucellus, which is enclosed in the integuments.
2. The integuments are absent only at the micropylar end where nucellus is exposed.
3. The embryo sac has 3 antipodal cell at the chalazal end.
4. The two nuclei known as polar nuclei come together and fuse just before fertilization and form secondary nucleus.
5. The three nuclei which move toward micropylar end form egg-apparatus with one egg cell and two synergids.

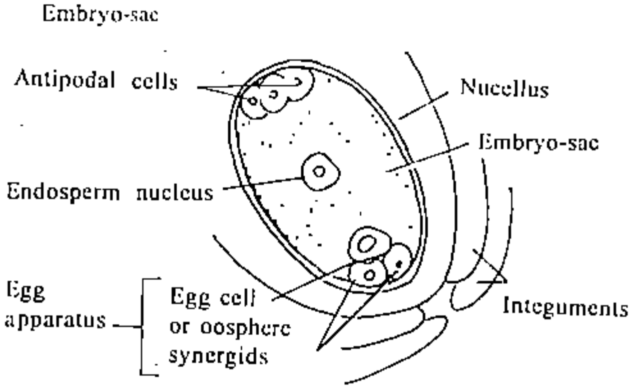


Fig. 15.11: Embryo sac.

Globular Stage of Embryo

1. This is an early stage of embryo.
2. The globular parts is early embryo which is connected by suspensor.
3. The last cell of suspensor enlarges enormously and forms a bulbous base cell.
4. This enlarged basal cell performs the function of absorbing nutrients from the ovule and then conducting them to the terminal globular part which forms the bulk of the embryo.
5. The basal cell has a large vacoule and can also act as basal haustorial cell.

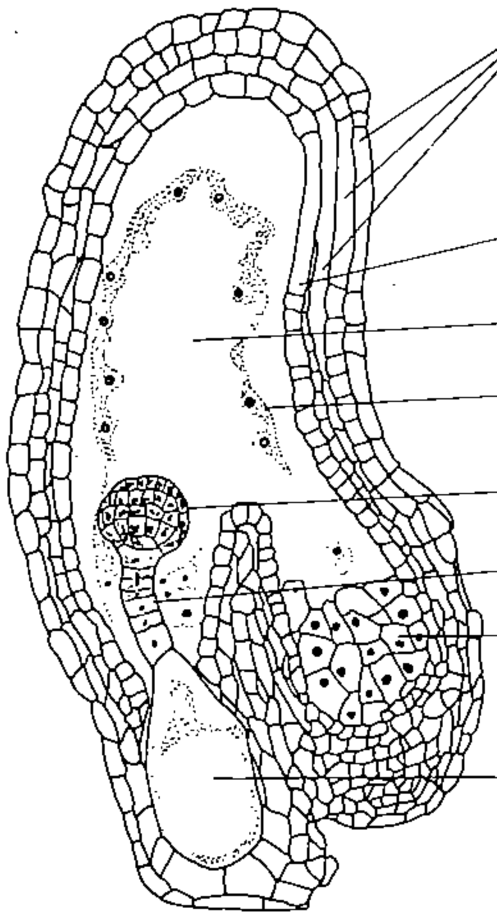


Fig. 15.12: Globular stage of embryo.

Heart Shape Stage of Embryo

1. The embryo has established three systems—the peripheral or dermal system, the middle or ground system the axial or vascular system.
2. The initiation of meristem or histogens takes place immediately.
3. The embryonic apex broadens out as two opposite elevations become visible.
4. The upward growth of primordia sharpens the outline and the embryo becomes heart-shaped.

Horse-shoe Shape Stage of Embryo

1. The mature embryo is a horse-shoe shaped structure which may remain lying embedded in the endosperm of which most of the part is utilized.
2. The cotyledons have grown longer than hypocotyl and lie adpressed to each other.
3. The hypocotyl is a short axis terminating in the root meristem.

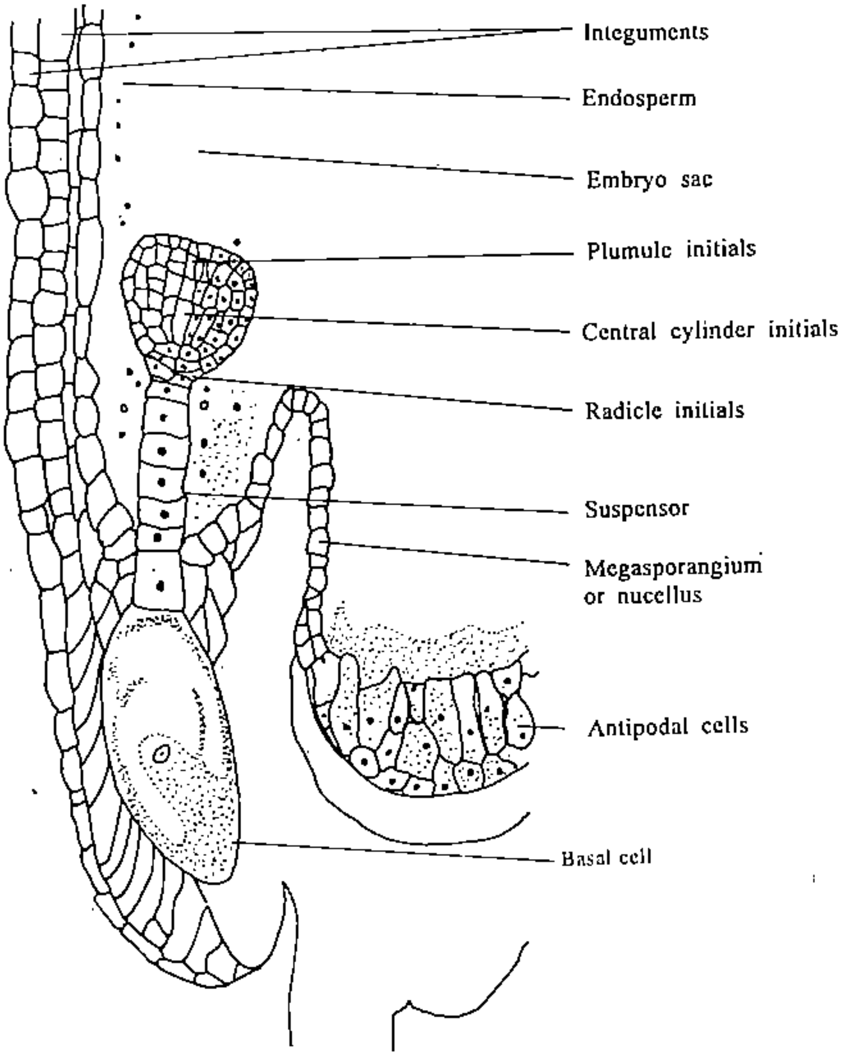


Fig. 15.13: Heart shape stage of embryo.

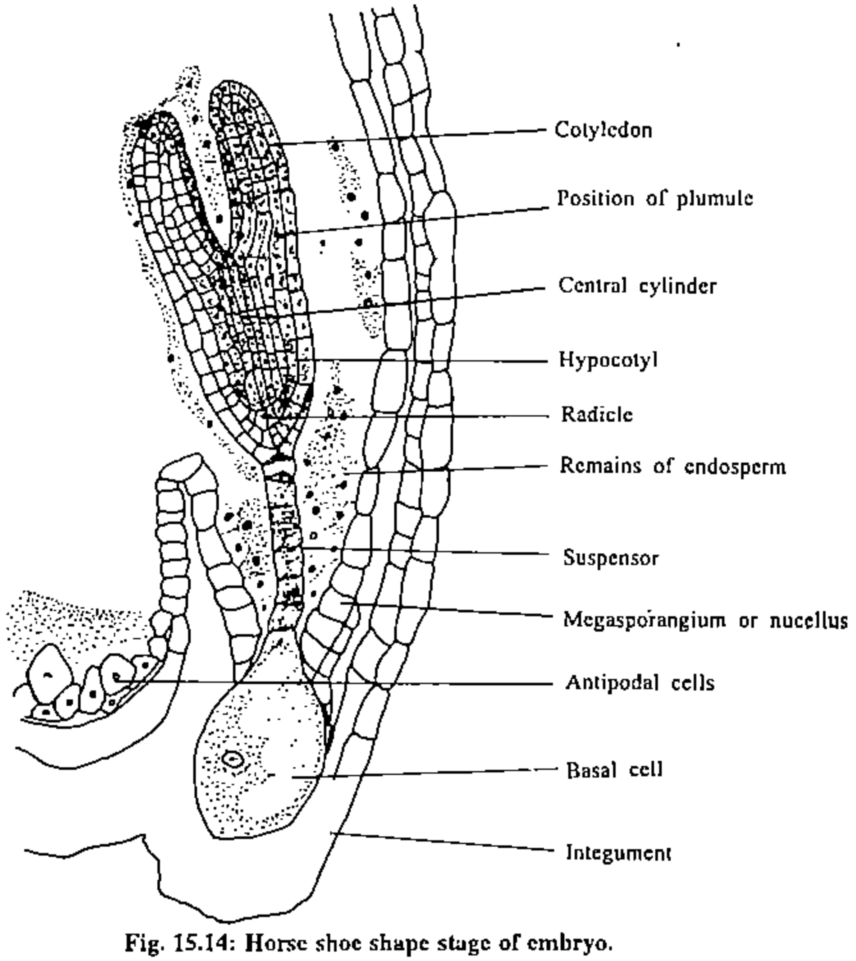


Fig. 15.14: Horse shoe shape stage of embryo.

Mature Embryo Showing Two Cotyledons.

1. This is fully mature embryo.
2. The cotyledons are fully developed, the plumule, central cylinder and root cap are also formed.
3. The cells of mature embryo acquire starch grains as reserve materials.
4. In this condition seed is shed and the embryo remain dormant until germination.

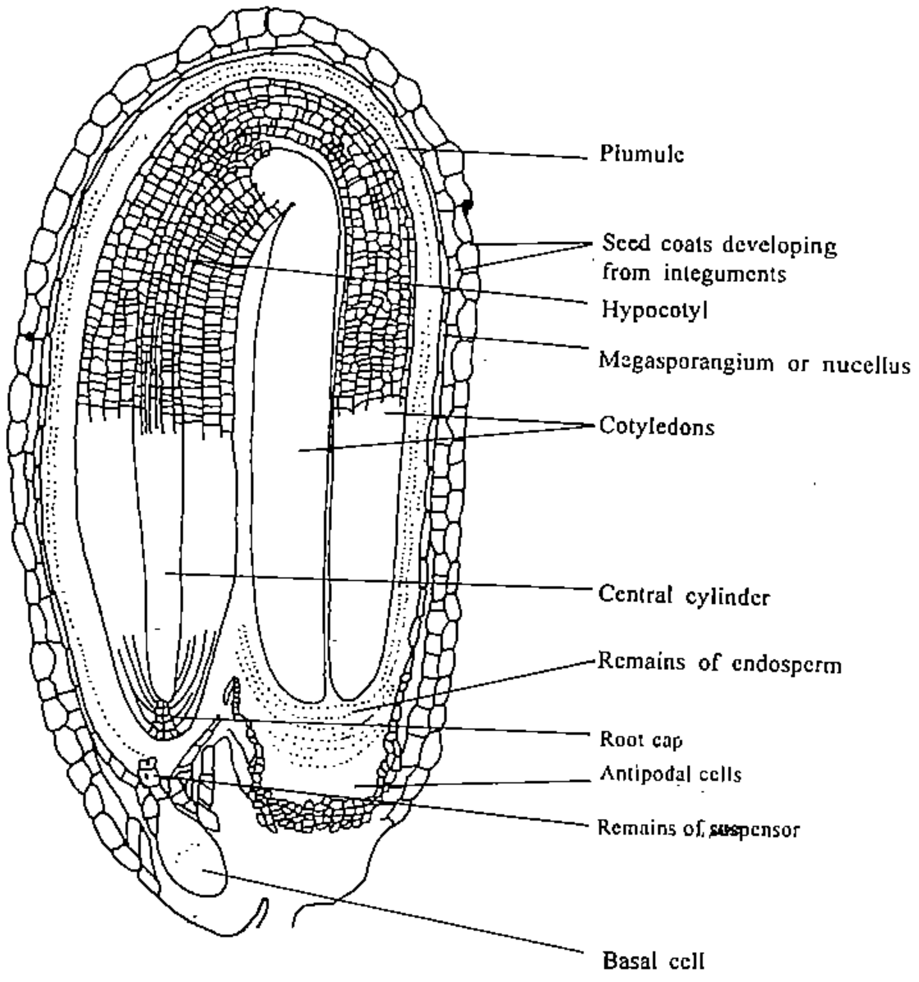


Fig. 15.15: Mature embryo showing two cotyledons.

16 TO STUDY SOME IMPORTANT DICOT AND MONOCOT FAMILIES

16.1 INTRODUCTION

Flowering plants are mainly classified on their floral structure. Because it is generally believed that reproductive structures change less quickly during evolution than other plant structures. A botanist must be able to identify plants with the aid of a flora and the use of a flora requires a very extensive technical vocabulary. Most of the terms you have studied in your earlier classes are used in this exercise. At the end of this exercise we have also given a glossary of terms that you may not have studied in your earlier classes. Here, we are going to study some important selected families. From each family one species is described in detail.

16.2 MATERIALS REQUIRED

A. *Ocimum basilicum* (Labiatae)

B. *Tridax procumbens* (Compositae)

C. *Pisum sativum* (Papilionaceae)

D. *Argemone mexicana* (Papaveraceae)

E. *Ranunculus sceleratus* (Ranunculaceae)

F. *Brassica campestris* (Cruciferae)

G. *Malva sylvestris* (Malvaceae)

H. *Allium cepa* (Liliaceae)

I. *Triticum vulgare* (Gramineae)

Hand lens

File book

Dissecting microscope

Objectives

After studying these families you will be able to:

- identity the members of these families,
- differentiate between dicot and monocot families,
- enumerate differences between families described here

16.3 PROCEDURE

Description of flora is based on the study of several of its characters, beginning with the habit of the plant and the morphology of different structures. The information includes—first information about the type of the plant (tree, shrub, climber or herb), the size of the plant, the habit of the plant (prostrate, erect, etc.), leaf shape and its arrangement, type of inflorescence, the structure of the flower and type of fruits. The structural details include information about aestivation of petals and sepals and the type of placentation.

While making floral structures, there are certain formal procedures to be followed. These include drawing of entire flower, making L.S. of flowers, drawing a floral diagram, and structuring the formula. Each and every drawing gives vital information about the plant.

i) Drawings

The whole flower is drawn in such a way that you depict in your diagram as much structural details as possible. (Fig. 16.1). The structure of flower is drawn after cutting flower into two halves. This is done with a sharp razor blade, starting at the pedicel, dividing through the centre of the abaxial side of the flower. Then lay the flower on the table or on the slide under a dissection microscope (if flower is small) and make a sketch of it. After drawing the half flower, you could observe details of the attachment of various parts to the receptacle (Fig. 16.1)

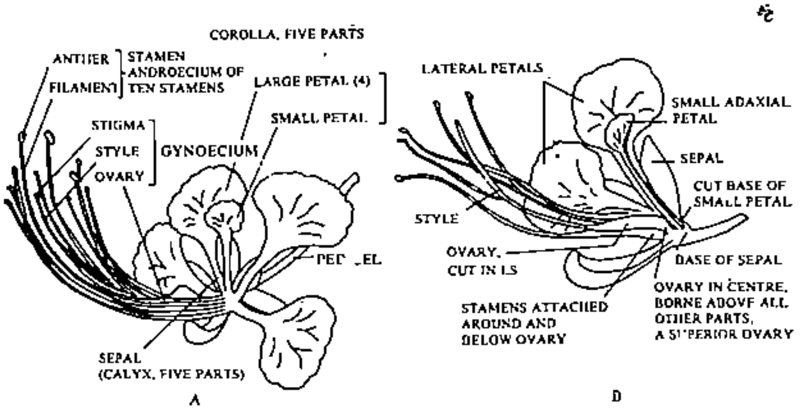


Fig. 16.1 : Drawings of complete and half flower showing attachment of parts to the receptacle and internal structure of ovary.

ii) The Floral Diagram

The floral diagram is drawn to show the numbers and relationships of the different parts of the flower in a very formal way.

The symbols used are shown in Table 16.1. These include a symbol for the axis of the inflorescence (drawn away from you) to which the flower is attached and for the bract (drawn nearer to you) which subtends the flower. Between these two are sketched four whorl of floral parts, viz. calyx, corolla, androecium and gynoecium, represented as four concentric circles. If there is more than one whorl of petals and stamens there will be more circles. When some of the floral parts are spirally arranged, a spiral is superimposed on the appropriate circle. The symbols for each part (Table 6.1) are then added (Fig. 16.2) depicting such characters as aestivation of calyx and corolla, the direction in which stamens open (introse or extrose), adnation or connation of stamens and the number and position of loculi as well as the placentation in the T.S. of the ovary. When the floral diagram is complete (Fig. 16.2), you can read of the most characteristics of the flower.

Table 16.1 : Symbols used in floral diagrams

Floral parts, etc.	Symbols
floral axis	
Subtending bract	
sepal	
petal	
perianth parts (when all petaloid)	as for petals
aestivation	Overlapping of edges in diagram
connation of petals, sepals	edges joined by loop or line
stamens	
introse	
extrose	
Connation of stamens	
anthers filaments (staminal tube)	
adnation of stamens (e.g epipetalous)	
carpels gynecium	drawn as TS, showing placentation

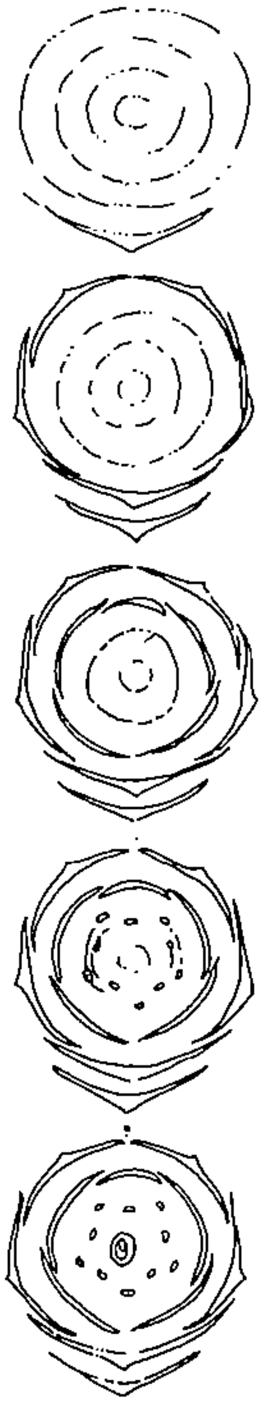


Fig. 16.2 : Construction of a floral diagram, using symbols shown in Table (*Caesalpinia pulcharrima*)

Table 16.2 : Symbols used floral formula

Floral part or characteristic	Symbol	Example
symmetry		
actinomorphic	⊕	—
zygomorphic	%	—
sex of flower		
staminate (male)	♂	—
pistillate (female)	♀	—
hermaphrodite	⚥	—
calyx	K	K5 — sepals free
corolla	C	C5 — sepals free
perianth parts (if all the same)	P	P5 — 5 perianth parts free
androecium	A	A5 — 5 stamens, free
gynoecium		
ovary superior	$\underline{G}$	$\underline{G}3$ — 3 carpels, free
ovary inferior	$\overline{G}$	$\overline{G}3$ — 3 carpels, inferior
connation	brackets	K(5) = 5 connate sepals
adnation	horizontal bracket	$\overset{\frown}{C_5 A_5}$ = 5 epipetalous stamens
indefinite number of parts stamens		$A\infty$ = indefinite number

iii) The Floral Formula

Floral formula is another way of representation of the structure of flower. The first symbol in the formula shows whether flower is actionomorphic or zygomorphic and whether it contains both stamens and pistil or only stamens or pistil. Calyx is represented by K and corolla by C and numbers of sepals or petals are added. If the sepals or the petals are united a bracket encloses the number. For perianth symbol P is used. The stamens are depicted as A and adnation of parts is indicated by adding a single bracket, above the letters representing the part involved. Gynoecium is represented by symbol G and after adding the number of carpels, a line is drawn under the number if ovary is superior and over the number if ovary is inferior.

The description given here is an attempt to summarise the characteristics of families and genera. The families described here have been selected to illustrate typical variations in the dicot and monocot pattern and to give a reasonable cross-section of some important families. Under each family general description and characters are given with a brief description of more common example.

16.4 OBSERVATIONS

A. Labiatae (Lamiaceae) — *Ocimum basilicum*

Habit : A cultivated perennial or wild herb of religious importance with a strong aromatic smell.

Root : Tap, branched

Stem : Erect, herbaceous, branched, green solid when older becomes woody, squarish and hairy.

Leaf : Simple, ex-stipulate, petiolate, petiole is hairy, opposite and decussate. The important feature is the leaf possesses oil glands when punctured emit strong aromatic smell, margin smooth, acute apex, unicostate reticulate venation.

Inflorescence : Verticillaster having mostly 6-10 flower whorls.

Flower : Purplish-pink, Pedicellate, bracteate, a green and hairy anterior bract, complete, bisexual, hypogynous, zygomorphic.

Calyx : Five bilabiate, gamosepalous, hairy, posterior sepal (odd) is larger than the rest, acute apex: aestivation imbricate.

Corolla : Five, gamopetalous, bi-lipped, hairy upper lip is formed by 4 petals and lower by a single large anterior petal, pinkish white in colour, inferior with imbricate aestivation.

Androecium : Four stamens, epipetalous, posterior stamen missing, didynamous (i.e. two long and two short), both anther-lobes fertile in larger stamens; in shorter one, the two anther lobes are separated by a long connective—the upper lobe being fertile and the lower one sterile, show lever mechanism for pollination; stamens are exerted; anthers basifixed and introse, filament base hairy.

Gynoecium : Bicarpellary, syncarpous; ovary superior, 4-, lobed and 4 locular, due to the formation of false septum, one ovule in each loculus, axile placentation; style long and gynobasic.

Fruit : Schizocarpic, carcerulus.

Floral Formula: %, ⚥ , $K_{(1+4)}$ $\overbrace{C_{(1+4)}, A_{2+2}}$, $G_{\underline{(2)}}$

Common Genera of the Family : *Leucas, Mentha, Salvia* and *Nepata.*

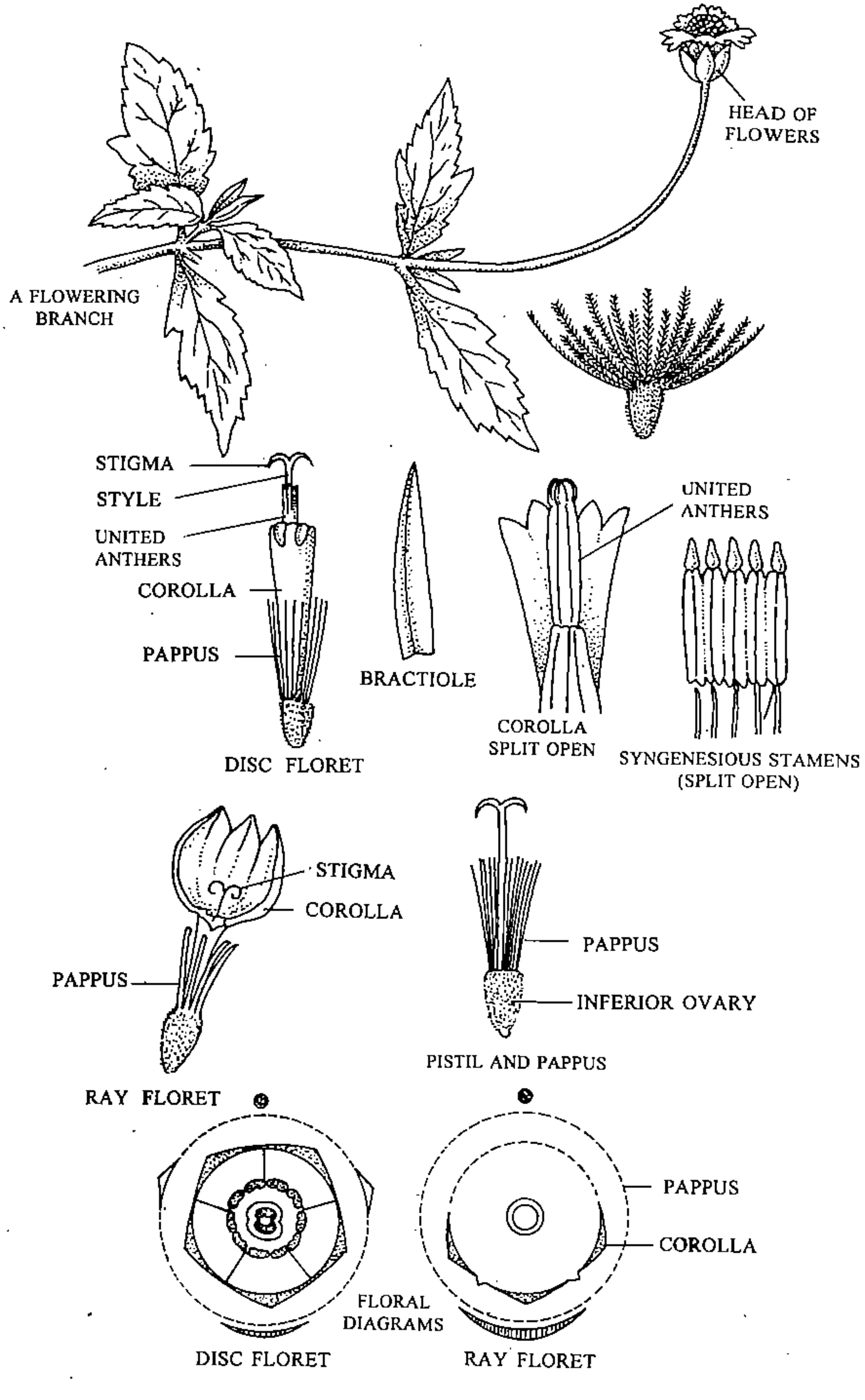


Fig. 16.4 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Tridax procumbens*.

B. Compositae: ***Tridax procumbens***

Habit: A perennial herb, found growing as weed in waste land.

Root: Tap-root system.

Stem: Herbaceous, weak decumbent, green, cylindrical, solid.

Leaves : Pedicellate, exstipulate, simple, opposite, toothed or lobed, unicostate, reticulate venation.

Inflorescense : Solitary capitulum on long peduncle, heterogamous with ligulate ray-florets and tubular disc-florets; biseriate bracts forming campanulate involucre, receptacle convex.

Flower : Two kinds of flowers — pale yellow, ray florets on the periphery of the capitulum and deep-yellow disc-florets towards the centre.

Disc-floret : Bracteolate — bracteoles thin, membranous and persistent, regular, tubular and hermaphrodite.

Calyx : Greatly reduced, represented by pappus only.

Corolla : 5 petals, gamopetalous, tubular, deep yellow.

Androecium : 5 stamens, syngenesious, filaments free, epipetalous, anthers 2-celled with short auricle.

Gynoecium : Bicarpellary, syncarpous, ovary inferior, unilocular with single basal ovule, style simple, long, passing through anther tube, stigma bifid and hairy.

Fruit : Cypsela with persistent hairy, bristly pappus.

Ray-floret : Bracteolate — bracteoles membranous, zygomorphic, unisexual, female and ligulate (3-lobed).

Calyx : represented by hairy pappus.

Corolla : Trifid, gamopetalous, ligulate, pale yellow.

Androeclum : Absent

Gynoeclum : Bicarpellary, syncarpous, ovary inferior, unilocular with single basal ovule, stigma bifid.

Fruit : Cypsela with persistent pappus

Floral Formula :

Disc-floret : ⊕, ⚥, Ko (pappus), $\overset{\frown}{C_{(5)}, A_{(5)}}$, $G_{\overline{(2)}}$

Ray-floret : %, ♀ Ko (pappus), $C_{(3)}$, A_{o}, $G_{\overline{(2)}}$

Some Comon Genera of the Family : *Launaea, Vernonia, Ageratum, Eclipta and Helianthus*

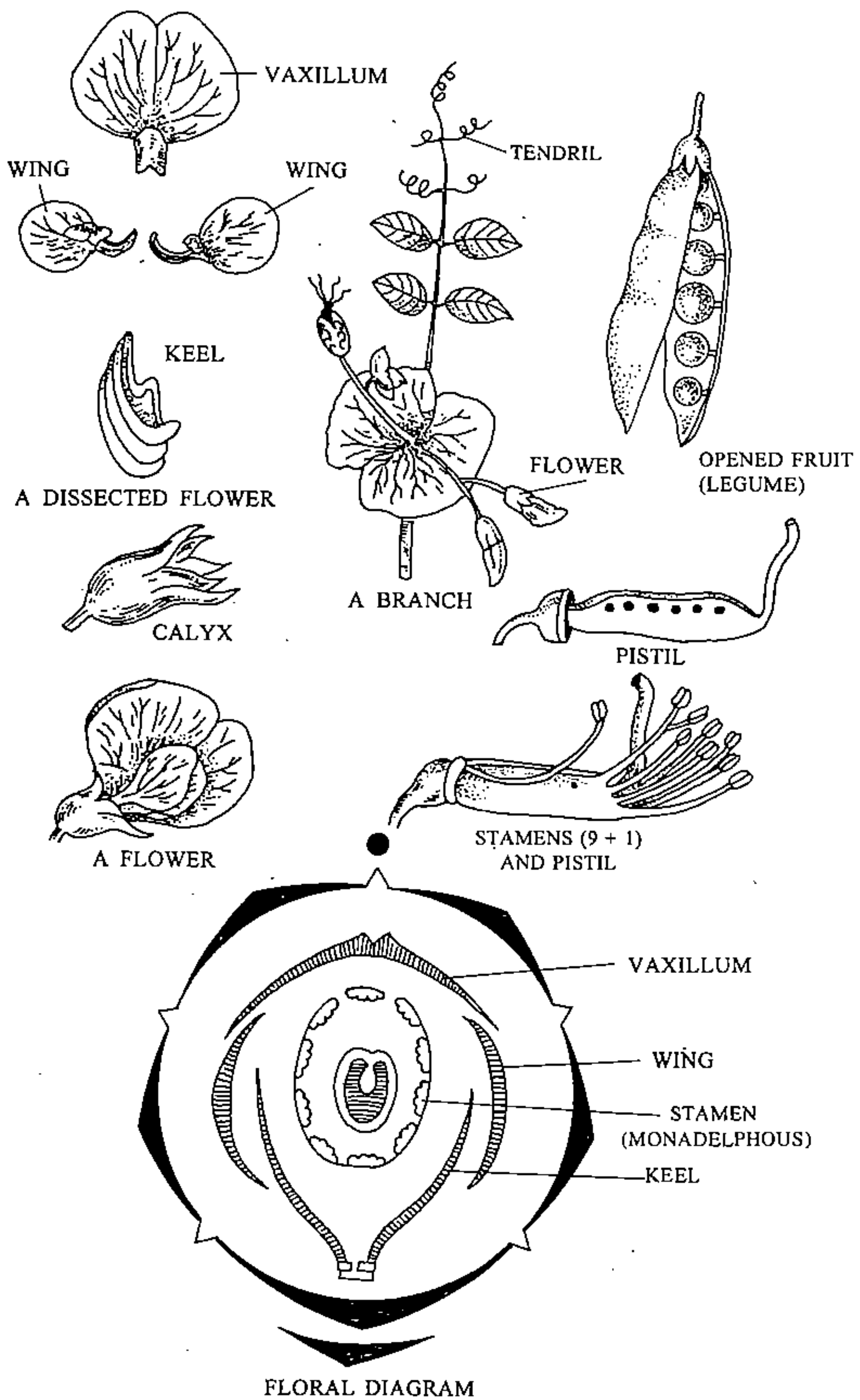


Fig. 16.5 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Pisum sativum*.

C. **Papilionaceae** : *Pisum sativum*

Habit : Climbing herb.

Root : Branched tap root, nodules containing nitrogen—fixing bacteria.

Stem : Herbaceous, climbing, winged, hallow and hairy.

Leaves : Alternate, petiolate, stipulate, stipules leafy, compound paripinnate: upper leaflets modified into tendrils, leaflets sessile, oval with acute apex, entire, glaucous, venation unicostate, reticulate.

Inflorescence : Recemose or solitary, axillary.

Flower : Bracteate, pedicellate, complete, hermaphrodite, irregular, zygomorphic, slightly perigynous, pentamerous.

Calyx : Five, gamosepalous, campanulate, green, hairy, odd sepal anterior, aestivation ascending imbricate.

Corolla : Five, polypetalous, papilionaceous, 1 standard, 2 wings, 2 keels united butterfly shaped). posterior petal forms a large standard (vexillum), the two lateral petals form alae or wings, two anterior petals are slightly fused and form a hood-shaped keel or carina, aestivation descending imbricate.

Androecium : Ten diadelphous (i.e. 9 + 1), enclosed in the keel, nine fused stamens forms a tube round the ovary and the tenth posterior one is free; anther introse and basifixed, dithecous, dehiscing by logitudinal slits.

Gynoecium : Monocarpellary, ovary superior, unilocular marginal placcentation, many ovules in the loculus, style long, stigma terminal, hairy and covered by the keel.

Fruit : A broad legume (pod).

Floral Formula : %, ⚥, $K_{(5)}$, $C_{1+2+(2)}$, $A_{(9)+1)}$, $G_{\underline{1}}$

Some Comon Genera of the Family : *Lathyrus, Crotalaria, Vicia, Cicer and Phaseolus.*

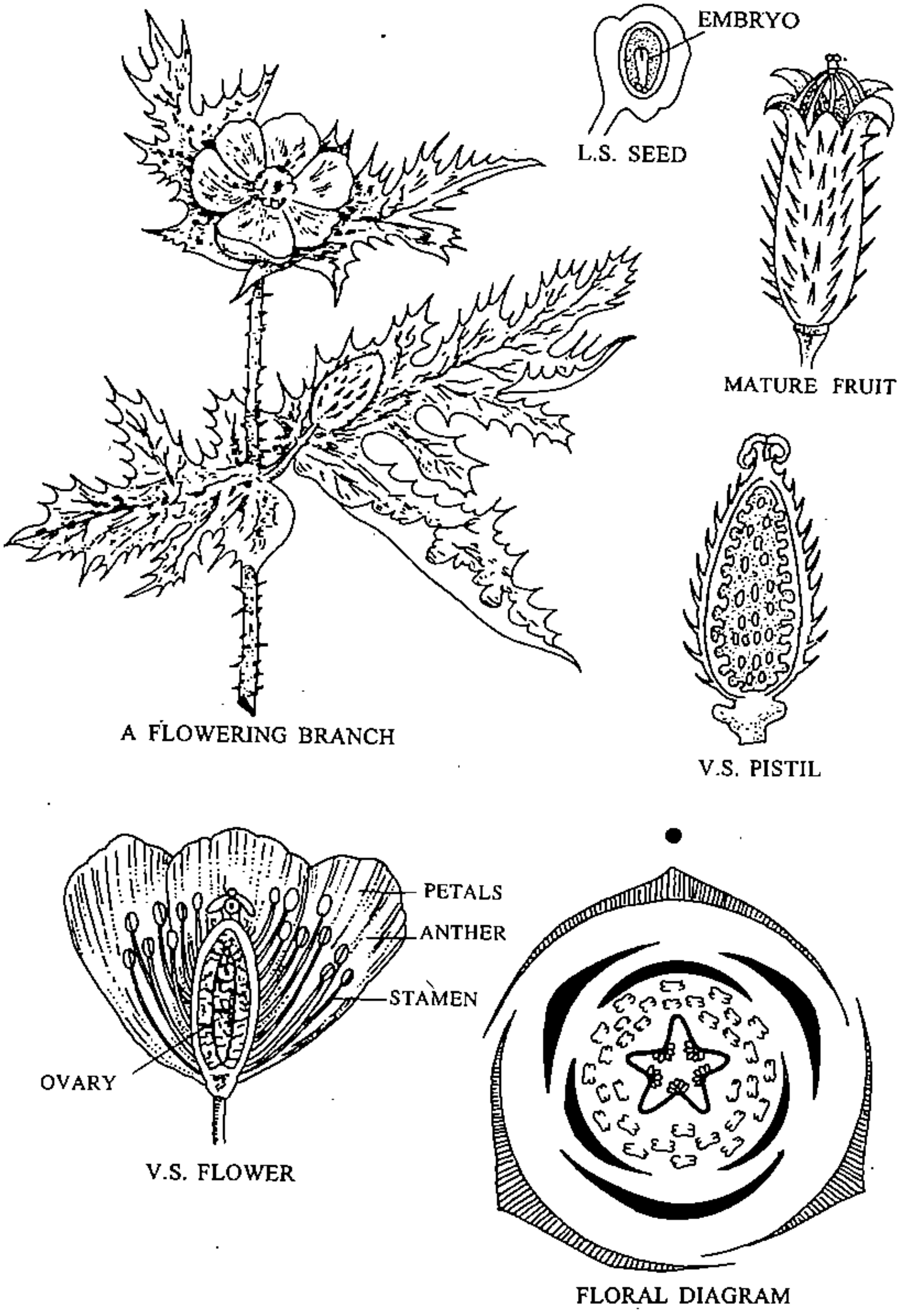


Fig. 16.6 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Argemone mexicana*.

D. Papaveraceae : *Argemone mexicana*

Habit : An erect, prickly, annual herb, found growing wild in waste lands during winter season.

Root : Tap root, branched.

Stem : Erect, cylindrical, woody below, sparingly branched, solid, glaucous, spiny with yellow latex.

Leaf : Cauline, alternate, exstipulate, sessile, semi-amplexicaul, simple, deeply cut, sinuate pinnatifid, spiny - toothed, glaucous, unicostate, reticulate ventation.

Inflorescence : Solitary, axillary

Flower : Bracteate, pedicellate or sub-sessile, large, showy, complete, regular, actinomorphic, hermaphrodite, hypogynous, yellow.

Calyx : Three sepals, polysepalous, caducous, green prickly, horned above, aestivation twisted.

Corolla : Yellow six petals, polypetalous arranged in two whorls of three each (3+3) caducous, inferior, imbricate aestivation.

Androecium : Several stamens, polyandrous, arranged in many alternating whorls, filaments long, anthers bi-celled and basifixed, yellow.

Gynoecium : 4-7 carpellary, syncarpous : ovary superior, single chambered, spiny, parietal placentation, several ovules on each placenta; style extremely short; stigma 4-7 lobed; depending on the number of carpels, redish-brown.

Fruit : A prickly capsule, dehiscing by valves.

Floral Formula : $\oplus$, ⚥ K_3, C_{3+3}, A_∞, $G_{\underline{(4-7)}}$

Some Common Genra of the Family : *Papaver, Eschcholzia*

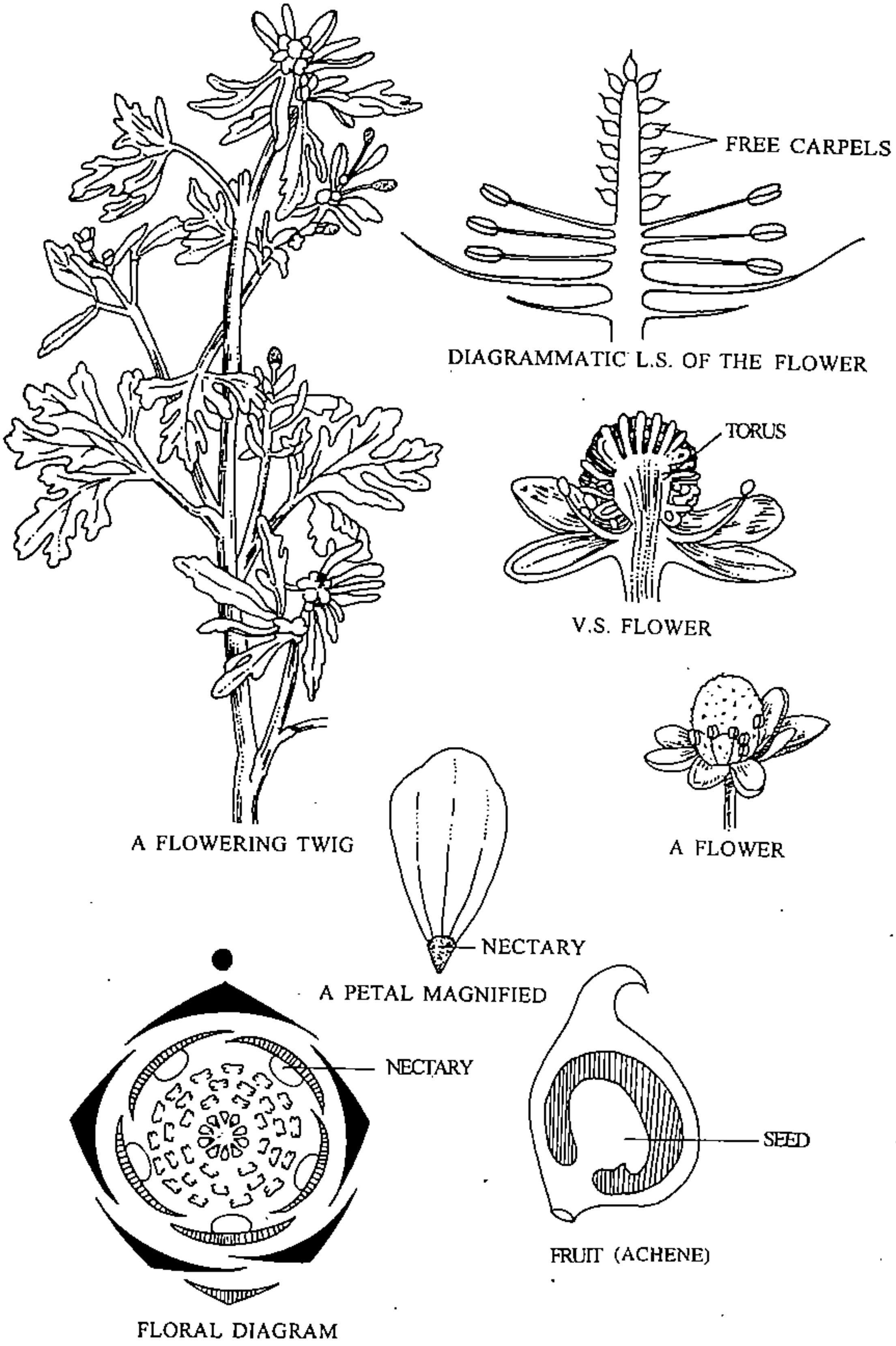


Fig. 16.7 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Ranunculus sceleratus*.

E. **Ranunculaceae** — *Ranunculus sceleratus*

Habit : An annual herb, occurring wild in shady and damp places, such as canal and river bank.

Root : Tap root which is soon replaced by branched and fibrous adventitious roots.

Stem : Erect, herbaceous, green, ribbed, hollow, branched and hairy.

Leaf : Simple, sessile with sheathing leaf base, tripartite, each lobe further divided into obovate, cuneate segments, venation multicostate, reticulate.

Inflorescence : Biparous cyme or cymose.

Flower : Pedicellate, bracteate, bracteolate, hermaphrodite, complete, actinomorphic, yellow, regular, hypongynous, pentamerous.

Calyx : Five in number, polysepalous, green, boat-shaped, hairy, imbricate.

Corolla : Petals five in number, polypetalous, yellow, each petal has a nectary at its base, veined, imbricate aestivation.

Androecium : Several stamens, arranged spirally on an elongated thalamus. each anther is basifixed (innate) and extrose, stout and yellow-green filaments.

Gynoecium : Polycarpellary, apocarpous, ovary superior, on an elongated thalamus, each carpel is unilocular with a single basal ovule; stigma pointed.

Fruit : An eterio of one-seeded achenes.

Floral Formula : ⊕, ⚥ K_5, C_5, A_∞, $G_{\underline{\infty}}$

Some Important Genera of the Family : *Paeonia, Delphinium, Nigella, Clematis and Anemone.*

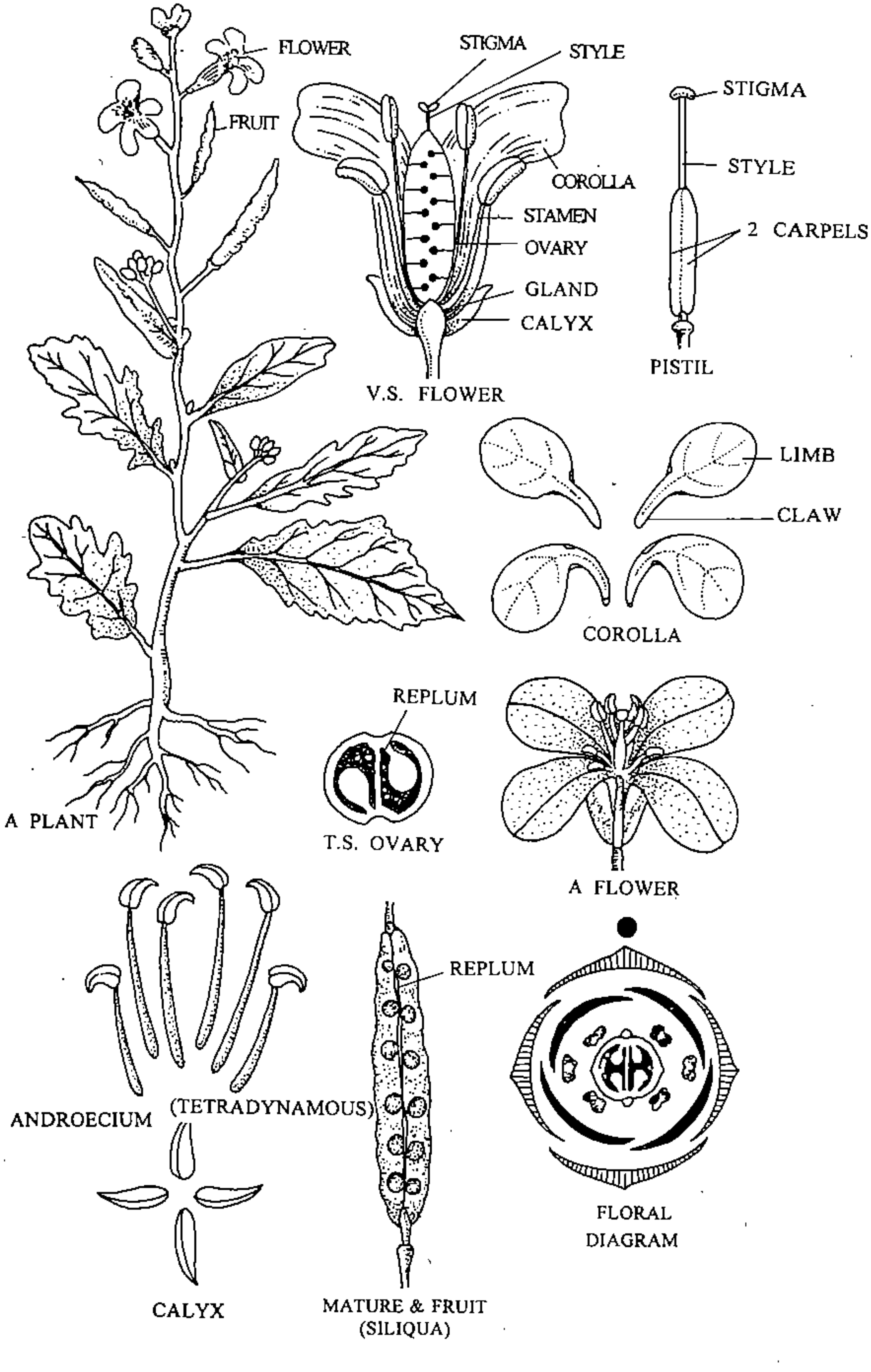


Fig. 16.8 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Brassica campestris*.

F. Cruciferae : *Brassica campestris*

Habit : An annual cultivated winter herb.

Root : Tap root, branched.

Stem : Herbaceous, erect, cylindrical, glabrous, branched, solid.

leaves : Simple, alternate, petiolate, exstipulate, radical and cauline, lyrate, unicostate reticulate venation.

Inflorescence : Corymbose raceme.

Flower : Pedicellate, ebracteate, actinomorphic, hermaphrodite, hypogynous, complete tetramerous, cruciform, bright yellow in colour.

Calyx : Sepals 4, polysepalous, 2 outer anterio-posterior, 2 inner lateral, imbricate aestivation.

Corolla : Petals 4, polypetalous, cruciform, distinct claw and limb present, imbricate aestivation.

Androecium : Stamen 6, polyandrous, 4 inner long and 2 outer short (i.e. tetradynamous conditions); anther basifixed.

Gynoecium : Bicarpellary, syncarpous, ovary superior, unilocular but divided into two chambers due to the formation of placental replum (fasle septum), parietal placentation; style short, stigma bilobed.

Fruit : A narrow, pod-like siliqua

Seed : Small, globose and exalbuminous.

Floral Formula : $\oplus$, ⚥ K_{2+2} C_4, $A_{(4+2)}$, $G_{\underline{(2)}}$

Some Important Genera of the Family : *Brassica, Iberis, Capsella, Raphanus.*

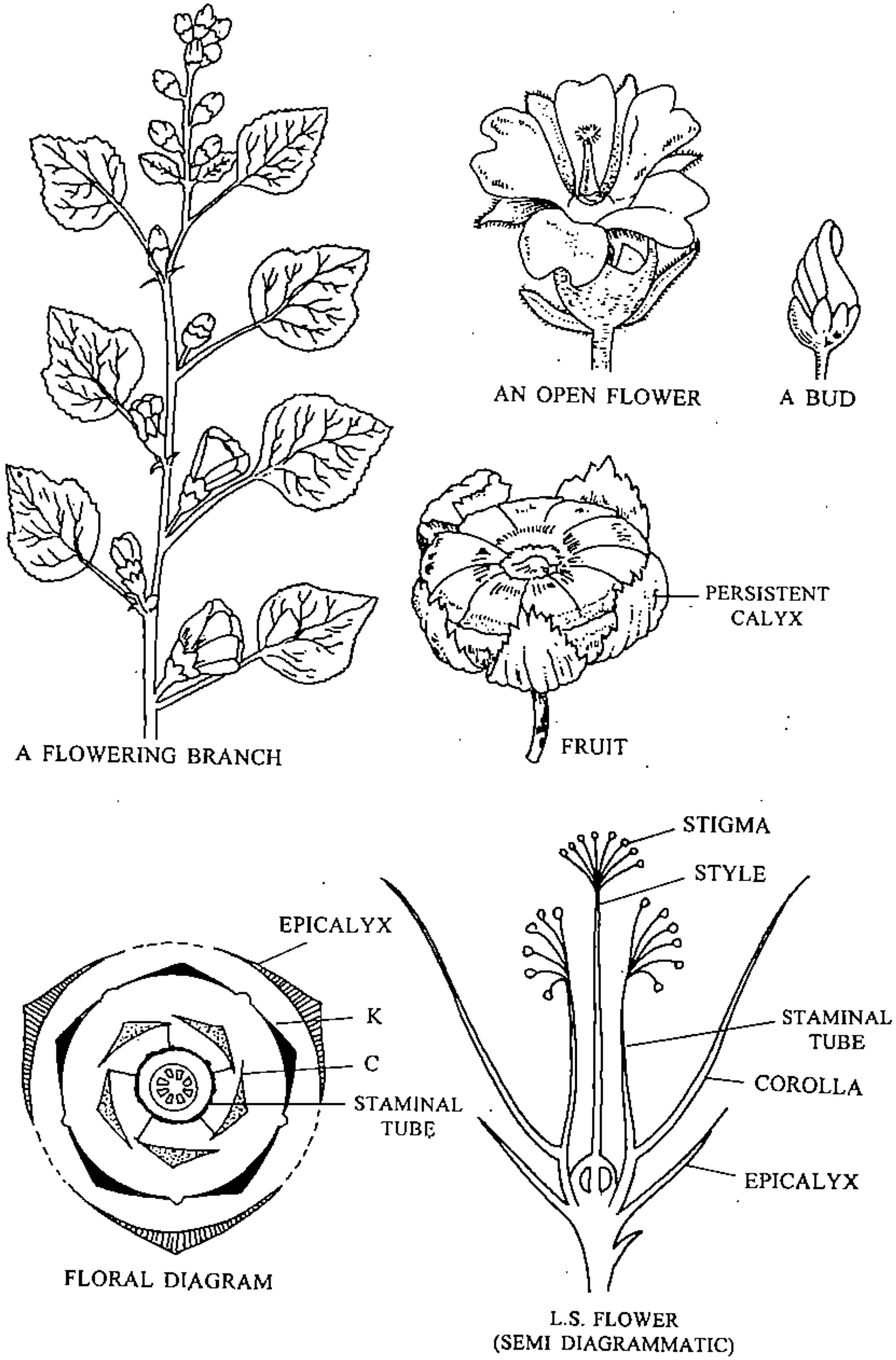


Fig. 16.9 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Malva sylvestris*.

G. **Malvaceae : *Malva sylvestris***

Habit : Annual herb,

Root : Fibrous, tap root.

Stem : Erect, cylindrical, hairy, partly herbaceous, woody in the lower region, green.

Leaf : Simple, alternate, cauline, petiolate, stipulate, stipule often caducous, upper surface glabrous, lower surface hairy, crenate margins, multicostate reticulate venation.

Inflorescence : Mostly solitary axillary.

Flower : pedicellate, pedicel hairy, bracteate, complete, hermaphrodite, actinomorphic, hypogynous.

Epicalyx : 3, fused at the base, represent a whorl of bracteoles just below the calyx.

Calyx : Five sepals, gamosepalous, campanulate, valvate aestivation, persistent.

Corolla : Five petals, polypetalous, united below at the base with staminal tube, twisted aestivation.

Androecium : Indefinite stamens, monadelphous, all of them united below into a tube, the upper parts of filament remaining distinct, staminal tube united below with the corolla, epipetalous, anthers monothecous, extrose basifixed.

Gynoecium : polycarpellary, syncarpous, overy superior, penta or multilocular, two or more ovules in each loculus axile placentation, style and stigma correspond to the number of carpels present, style pass through staminal tube.

Fruit : A carcerulus (mature carpels separate from each other and from the axis.)

Floral Formula : $\oplus$, ⚥ $Epi_{(3)}$, $K_{(5)}$, $\overbrace{C_{(5)}, A_{(\infty)}}$, $G_{(\underline{\infty})}$

Some Important Genera of the Family : *Hisbiscus, Abutilon, Sida, Althaea.*

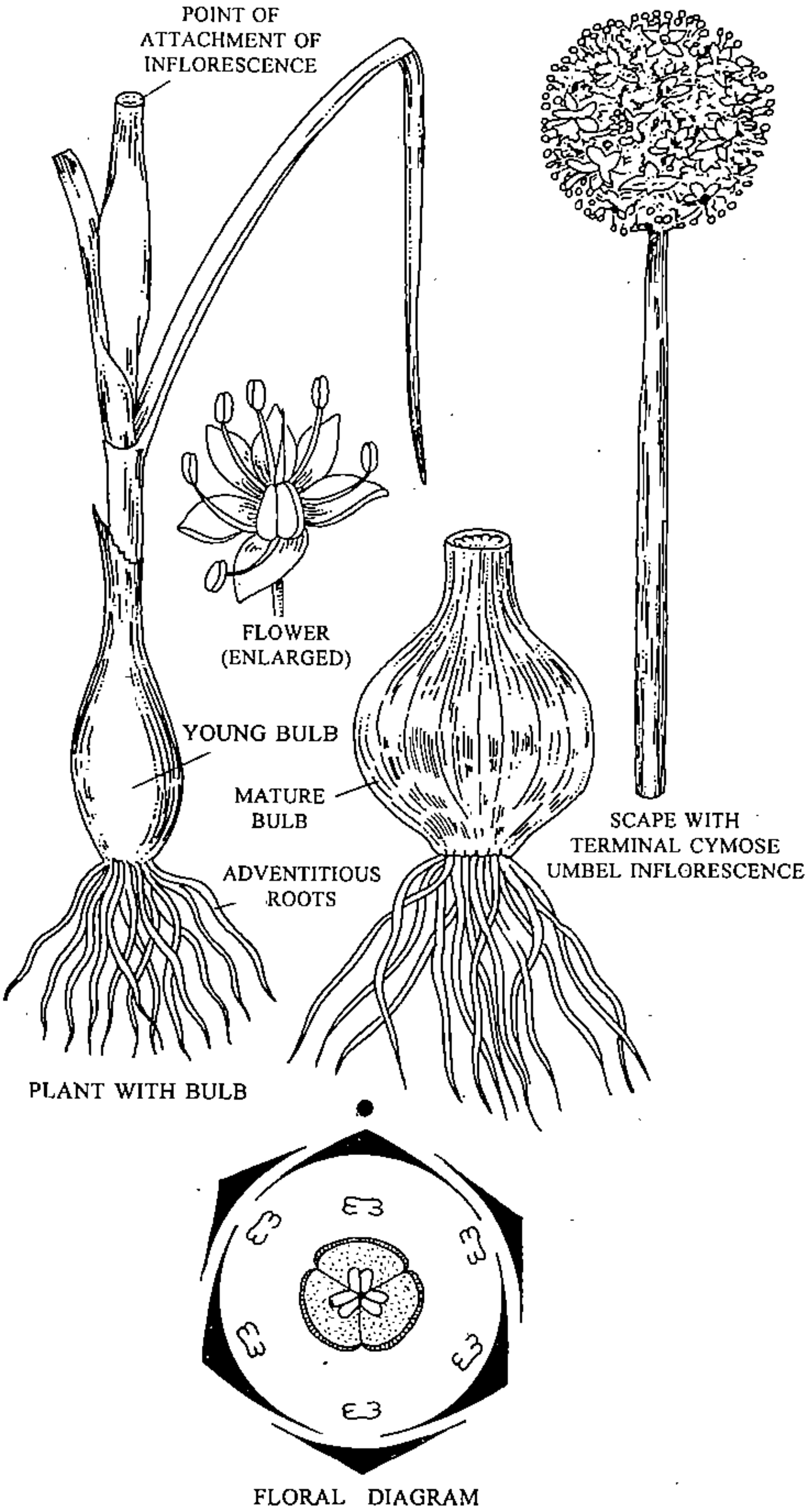


Fig. 16.10 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Allium cepa.*

H. Liliaceae: *Allium cepa*

Habit : A cultivated herb, aroma pungent, a typical flavour due to presence of volatile sulphur compounds.

Root : Fibrous, adventitious roots.

Stem : Underground tunicated bulb, outer scales membranous, brown and dry, inner scale fleshy.

Leaf : Radical, cylindrical, leaf base sheathing, hollow, acute, mucilaginous, fistular, parallel-veined.

Inflorescence : Aggregation of several monochasial cymes arranged in umbellate fashion and enclosed by 2-3 membranous spathe-like bract.

Flower : Pedicellate, bracteate, regular, complete, hermaphrodite, hypogynous, white, sometimes replaced by bulbils.

Perianth : Six lobes, arranged in two whorls of three each, fused towards the base, companulate, white.

Androecium : Six stamens, arranged in two whorls of 3 each, polyandrous, epiphyllous, filaments narrow and dilated at the base; anthers long, bi-celled, dorsifixed.

Gynoecium : Tricarpellary, syncarpous, ovary trilocular, two ovules in each loculus, superior, axile placentation, style short, stigma minute.

Floral Formula : $\oplus$, ⚥ $\overparen{P_{(3+3)}, A_{3+3}}$, $G_{\underline{(3)}}$

Some Important Genera of the Family : *Asparagus, Aloe, Fritillaria.*

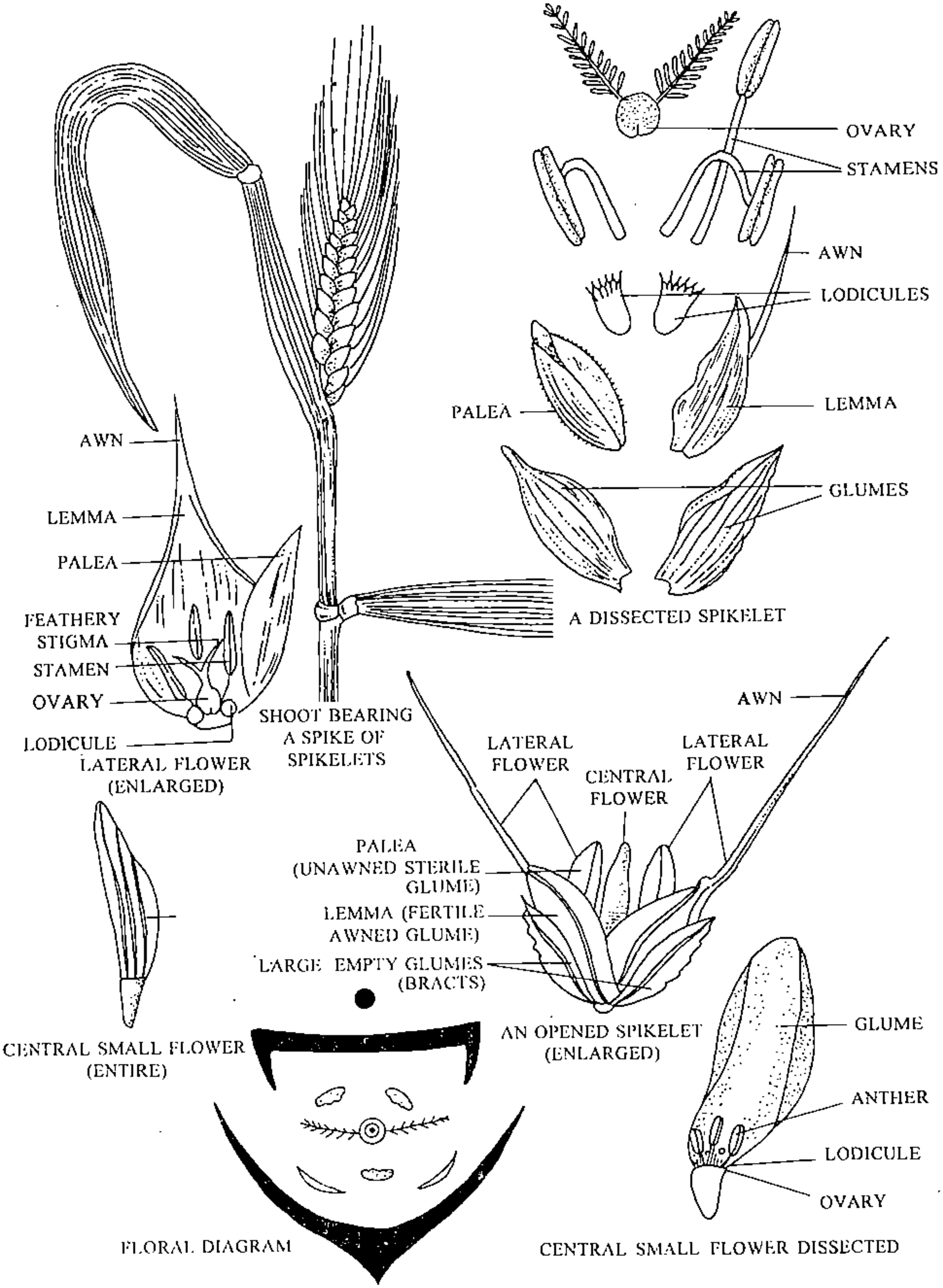


Fig. 16.11 : Diagrammatic representation of the systematic study of *Triticum vulgare*.

I. **Gramineae** : *Triticum vulgare*

Habit : Annual ultivated herb

Root : Adventitious, fibrous

Stem : Erect, herbaceous, cylindrical, hollow, green when young, unbranched, nodes and internodes well development, fistular, nodes swollen being composed of soft tissue.

Leaf : Simple, sessile alternate, well developed leaf sheath present, a membranous ligule present at the junction of leaf lamina and leaf sheath, entire linear or linear lanceolate, acute apex, unicostate, parallel venation.

Inflorescence : Spike of spikelets

Flower : Sessile, bracteate, bracts represented by palea, bracteolate, incomplete, hermaphrodite, zygomorphic, hypogynous. Each spikelet with flower arranged on a very short axis is enclosed by scaly leaves at the base of the axis called glumes fertile leafy structures which are bracts in nature are found. These fertile leafy structures are called lemmas or inferior palea. On the floral axis opposite to the inferior palea is situated the superior palea which is bracteole in nature.

Perianth : Extremly reduced and represented by two very small, scaly structure called lodicules lying opposite the superior palea.

Androecium : Three stamens, polyandrous, filaments long, slender with versatile dithecous anthers.

Gynoecium : Pseudomonocarpellary, the monocarpellary pistil with its single locule and single ovule, basal plancentation, the two feathery stigma are developments of the lateral parts of the carpel, the central part remaining undeveloped, overy superior, unilocular containing a single ovule.

Fruit : A caryopsis.

Floral Formula : %, ⚥ P_2, A_3, $G_{\underline{1}}$

Some Important Genera of the Family : *Avena, Zea, Oryza, Saccharum.*

After studying these familites try out these SAQs

SAQ

1) Distinguish between dorsifixed and basifixed anthers
2) Represent diagramatically gynobasic style and label it neatly.
3) What do you understand by word pentamerous?
4) Give a list of atleast five plants belonging to genus *Phaseolus*. Are these plants economically valuable if so why?
5) A medicinally important plant is found in family papaveraceae which is also used in narcotics. Give the botanical name of the plant. Collect the plant and describe it only by diagram, floral formula and floral diagram.
6) What is the characteristic of family cruciferae. Explain it properly with examples.
7) To which family does cotton belong? Write the botanical name of cotton.
8) Differenciate between monothecous and dithecous anther with examples and diagram.
9) Describe the typical liliaceous flower with a labeled diagram.

Glossary of Certain technical terms used in Exercise 16

1) **Achene:** Dry, one-seeded fruit formed from a single carpel, with no special method of opening to liberate the seed.
2) **Aestivation:** The arrangement of sepals and petals in the bud condition is called aestivation. It is of following types:
   1) **Valvate:** When the sepals or petal meet edge to edge without overlapping each other.
   2) **Twisted, Contorted or Convolute:** When margins or each part are overlapping regularly i.e. one edge of the sepals or petal are overlapped by the preceding petal.
3) **Amplexicaul:** When the lobes at the base enclose completely the stem.
4) **Basifixed:** Filaments attached to the base of another lobes.
5) **Biparous Cyme:** When peduncle bears a terminal flower.
6) **Caducous:** When sepals wither or drop off very soon.
7) **Campanulate:** Bell shaped corolla.
8) **Caryopsis:** It develops from monocarpellary ovary in which pericarp is united and fused with testa (seed coat).
9) **Cuneate:** Wedge shaped leaf with lower narrow end.
10) **Cypsela:** Dry, one-chambered, one-seeded fruit derived from bicarpellary or polycarpellary, syncarpous, inferior ovary having basal placentation. The testa and pericarp are free.
11) **Diadelphous:** When filaments are united in two groups with their anthers being free.
12) **Epipetalous:** When stamens are attached with the petals.
13) **Glabrous:** Smooth
14) **Glaucous:** Shining and smooth.
15) **Gynobasic:** Arising from base of ovary (due to infolding of ovary wall during developing, e.g. *Ocimum* sps.
16) **Heterochylamydeous:** Having two kinds of perianth segments (sepals and petals) in distinct whorls.
17) **Imbricate:** When one out of the five sepals or petals internal, one external, and rest three partly external.

18) **Involucre:** When bracts are arranged spirally in one or more whorls around the cluster of flower.

19) **Lyrate:** When the leaf blade is like lyre, i.e., contain a big terminal lobe with many smaller lateral lobe.

20) **Obovate:** It is inversely ovate, i.e., upper and broader narrowing towards the base.

21) **Opposite and decussate:** When two successive pairs of leaves occur at right angle to each other e.g. *Psidium*.

22) **Pappus:** Reduced and hairy.

23) **Polyandrous:** When stamens are many and free.

24) **Racemose:** In this branching is monopodial. The inflorescence consists of a main axis increasing in length by growth at tip and giving rise to lateral branches bearing flowers. The flowers open in succession from below upwards, or, if inflorescence axis is short and flattened from outside inwards. The racemose type is further divided into raceme — with main axis bearing stalked flowers in acropetal succession.

25) **Reticulate:** When the veins and veinlets are distributed irregularly in the lamina and form a sort of net e.g. most in dicotyledons. Again it is of two types.

    i) **Unicostate** or pinnate type: In this a central thick mid rib is present, from which arises many lateral and other irregular veins and veinlets forming a net.

    ii) **Multicostate** or palmate type: When equally strong ribs are present.

26) **Radicle :** Arising from root or crown of the plant.

27) **Siliqua:** It develops from bicarpellary syncarpous gynoecium with parietal placentation and a false septum. It is long narrow multiseeded fruit which dehisces from below upwards by both the sutures.

28) **Spikelet:** Small arranged in a spike, raceme or panicle manner. Each flower consists of an awned bract, three stamen and stamen and an ovary with two feathery stigma, e.g., *Triticum*.

29) **Syngenesious:** When all anthers are united in one group with their filament free.

30) **Unipinnate:** When the leaflets are present directly on the mid-ribs. It is again of two types:

    a) **Paripinnate:** When even number of paired leaflets are present.

    b) **Imparipinnate:** When an odd terminal leaflet is present.

31) **Verticillaster:** When flowers arise in the axils of bracts arranged opposite to each other. Each cluster of flowers in this type of inflorescence represents dichasial cyme e.g. members of Labiatae.

17 SURVEY OF DIGESTIVE ENZYMES IN COCKROACH

17.1 INTRODUCTION

In unit of Block 1 of LSE-05 course, you have learnt about the digestive enzymes of various animal groups. You are aware that the food of the organisms consists of carbohydrates, proteins and lipids. These large molecules are broken down by enzymes to simpler ones in the digestive system. The simpler molecules are then absorbed across the intestine to be carried to the different tissues and cells of the body. In this experiment you shall make a survey of the enzymes which digest carbohydrates, proteins and lipids in four different regions of the digestive system of cockroach. The digestive enzymes that you will be examining are **amylase** and **invertase** for carbohydrate digestion, **protease** for protein digestion and **lipase** for lipid digestion.

Objectives

At the end of this experiment you should be able to:

- perform simple tests for testing the presence of digestive enzymes in any organism.

17.2 MATERIALS REQUIRED

cockroaches,
insect Ringer solution
30% glycerine
1% starch solution
5% sucrose solution
iodine solution
Benedict's reagent
developed photographic film (several pieces)
fresh milk
bromothymol blue
0.1 N NaOH
mortar and pestle
test tubes
test tube holder
porcelain tile
Pasteur pipettes
graduated pipettes (5 ml.)

17.3 PROCEDURE

1. Obtain ten cockroaches and quickly dissect out the alimentary canal along with salivary glands in insect Ringer solution. Divide the parts of digestive system as follows (Fig. 17.1).

   (i) salivary glands

   (ii) foregut (consisting of oesophagus, crop and gizzard)

   (iii) midgut (consisting of caeca and mesenteron) and

   (iv) hindgut consisting of ileum, colon and rectum.

2. Pool each one of these regions from ten cockroaches. In a small mortar grind the pooled regions of alimentary canal separately with a pestle in 3 ml of 30% glycerine and transfer the contents to a test tube.

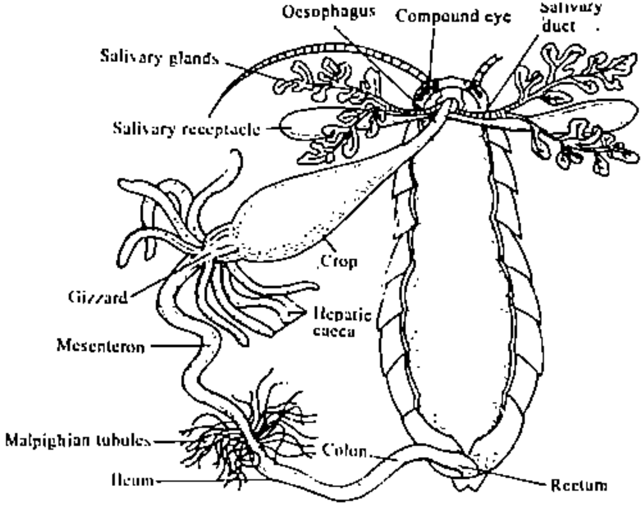


Fig. 17.1: Digestive system of cockroach.

Add another 2 ml of 30% glycerine to the mortar, rinse well and transfer this solution also to the test tube. In this way collect the extracts of four regions in test tubes and label them 1 to 4. Thus you will have following enzyme sources.

Tube 1	salivary gland extract
Tube 2	foregut extract
Tube 3	midgut extract
Tube 4	hindgut extract.

3. Divide the contents of each tube equally in two parts by transfering to another test tube. Label these test tubes as 1c, 2c, 3c and 4c respectively. Heat the contents of these tubes (1c to 4c) over a flame for a minute.

a) What does the heating do to the enzymes?

....

....

....

A. Test for amylase

Amylase is the starch digesting enzyme. Amylase acts on starch and releases glucose molecules. Starch gives a blue colour with iodine solution. When amylase acts on starch and all the starch is converted into glucose, addition of iodine solution does not result in the develpment of blue colour. This confirms the completion of starch digestion by amylase.

1. Take eight test tubes and add 1 ml of starch solution to each. Mark 4 test tubes 1E to 4E and the 4 others 1C to 4C.
2. To the first four test tubes add ten drops of enzyme source from the four regions of the gut and to the other 4 test tubes add 10 drops of heat inactivated enzyme from the four regions of the gut. Mix well and incubate at 37°C in a waterbath.
3. Every two minutes over the next 10 to 20 minutes remove a drop of the mixture from each tube to a porcelain tile and add a drop of iodine solution. Note the colour developed.

Colour developed initially indicates the presence of starch. Towards the end of the starch digestion, the blue colour does not appear any more. Record your results in the Table 17.1.

b) Does amylase require any cofactor for its activity?

....

c) Do you think that you have provided the cofactor in your test?

....

....

....

B. Test for invertase

Invertase is a sucrose digesting enzyme and forms fructose and glucose as products. The test for the presence of reducing sugars namely glucose and fructose would indicate the occurrence or otherwise of invertase in different regions of the gut of cockroach.

1. Take eight test tubes and pipette out into each one of them 1 ml of 5% sucrose solution.
2. Label the first 4 tubes from 1E to 4E and the rest from 1C to 4C. To each of the first 4 tubes add 10 drops of enzyme source from salivary glands, foregut, midgut and hind gut respectively. To the four control tubes add 10 drops of heat-inactivated enzyme from the four regions of gut.
3. Incubate the reaction mixture (enzyme and substrate mixture) for 20 minutes at 37°C in a water bath.
4. At the end of the incubation period add 1 ml of Benedict's reagent to each of the tubes and leave in a boiling water bath for 5 to 10 minutes. Record the colour changes that you have observed.

The development of red colour indicates the presence of reducing sugars, glucose and fructose. Identify the test tubes in which red colour is formed and record your results.

a) What is the basis for the above reaction?

....

....

....

b) In which regions of the gut do you observe invertase activity?

....

....

....

c) Does the red colour appear in reactions in which heat inactivated enzyme was used? Explain your results.

....

....

....

C. Test for protease

In this test the gelatin (a protein) coated as an emulsion on the film strip would be used as substrate to test the protease activity.

Proteases, as you are aware, are protein digesting enzymes. Perform the test for protease as follows.

1. Take several pieces of 1 inch square, blackend, exposed and developed (black and white) film and wash them well. You will require four such pieces.
2. Place a drop of salivary gland extract on the film (emulsion side) on one half of it and a drop of heat inactivated extract from the same source on the other half. Repeat this procedure for the other three pieces of film with extracts from foregut, midgut and hindgut as well as heat inactivated extracts from these regions.
3. Leave the film pieces in a moist chamber. You may use a petridish with water soaked cotton kept in it as a moist chamber.

4. At 30 minutes intervals, over a period of 2 hours, examine the film strips and note the degree of digestion of gelatin emulsion as an index of protease activity.

Record the results of all the eight observations in the Table 17.1.

1) What is the site of action of a protease in a protein molucule?

....

....

....

2) Where does the protein digestion occur in the gut of the cockroach?

....

....

D. Test for lipase

Lipase is a lipid digesting enzyme and the digestion products are fatty acids and glycerol. You will use milk fats as the substrate in this test and milk fats on hydrolysis yield free fatty acids. The formation of free fatty acids is identified by a change in the pH of the reaction mixture by using a suitable pH indicator solution.

1. Take eight test tubes and mark the first four as experimental (IE to 4E) and the rest as controls (1C to 4C).
2. To each of the test tubes add 1 ml of fresh milk and a few drops of bromothymol blue dye solution. The milk will now be in blue colour. If it is not sufficiently blue, add a drop of 0.1N NaOH solution.
3. To each of the four experimental tubes add 10 drops of enzyme source obtained from the respective regions of the gut. To the control test tubes add 10 drops of heat inactivated enzyme.
4. Incubate both the sets of test tubes at 37°C for two hours. Note the colour changes in experimental and control test tubes.

1) What colour changes do you observe in control and experimental test tubes?

....

....

....

2) How would you explain the colour changes in the test for lipase activity?

....

....

....

17.4 RESULTS

Prepare a table as shown below in your note book to record your results.

Table 17.1

	Regions of digestive system							
	Salivary glands		Foregut		Midgut		Hindgut	
Enzyme	C	E	C	E	C	E	C	E
Amylase								
Invertase								
Protease								
Lipase								

C : Control E : Experiment

Note: *Whenever you identify the presence of an enzyme in a specific region of the digestive system, you may indicate its presence in the table by a (+) sign; a (–) sign would indicate the absence of the particular enzyme in the given region.*

18 DETERMINATION OF RATE OF OXYGEN CONSUMPTION IN COCKROACH USING A RESPIROMETER

18.1 INTRODUCTION

Aerobic organisms require a continuous supply of oxygen for the conversion of nutrients into energy. Carbon dioxide and water are the end products of the respiratory matabolism. In effect the utilisation of oxygen and release of CO_2 are the two major components of respiration in living organisms. In this experiment you will attempt to quantify the rate of oxygen consumed by an insect using a simple respirometer. Aerial respiration is studied by manometric techniques. Warburg's manometer is the instrument of choice for such studies. But this instrument is quite expensive and you may construct a simple device of your own to make measurements of oxygen consumption in small organisms.

Objectives

At the end of this exercise, you should be able to:

- construct simple devices for measuring certain of biological activities
- measure the rate of respiration in small organisms using simple respirometers

18.2 MATERIALS REQUIRED

4 oz. bottles – 2

One holed rubber stopper – 2

2ml. graduated pipette – 2

Filter paper bits

Small pieces of wire gauze (about 1" square)

15% KOH solution

Cockroaches

18.3 PROCEDURE

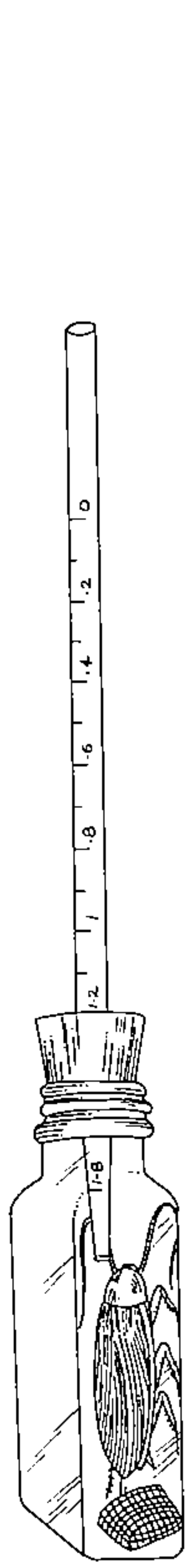


Fig. 18.1: A respirometer.

1. Fit the 4 oz. bottle with one holed rubber stopper (Fig. 18.1).
2. Insert a 2ml. graduated pipette through the hole in such a way that only 1/5th to 1/4th of the pipette is inside the bottle and rest is projecting out.
3. Place at the bottom of the bottle filter paper bits soaked in 15% KOH solution. A piece of wire gauze may be used to wrap around the filter paper bits so that when the insect is introduced in the bottle it does not come in contact with the alkali.
4. Weigh the cockroach in a balance. Introduce it into the respirometer and close tightly.
5. Prepare a control respirometer (a thermobarometer) without the insect. (This means you will prepare a respirometer similar to the experimental one except that you will not introduce the insect into it.)
6. Immerse both the experimental and control respirometers for equilibration in a tray

containing water. While doing so, let the open end of the pipette of each respirometer be outside the water. This procedure equilibrates the temperature between air and water, and takes about fifteen minutes. At the end of the equilibration period submerge the open tip of the respirometers into the water.

Precaution: When the respirometer is immersed, water should not enter rapidly into the graduated pipette. This would suggest leakage in the system. You should have an air-tight device for the success of the experiment. If necessary you may seal the mouth of the bottle with molten wax. Insufficient equilibration may also cause the rapid entry of water into the graduated pipette. In that case, equilibrate the respirometer for a longer period.

18.4 OBSERVATIONS AND RESULTS

Observe the slow entry of water into the graduated tube even as the insect consumed oxygen and the released carbon dioxide is absorbed by KOH. In this experimental set up water in the tray serves as the manometric fluid, and you would observe the water meniscus in the pipette moves continuously. Record the volume of water that has entered into the pipette after one hour. This volume represents the volume of oxygen consumed by the insect in millilitres or cubic centimeters in one hour.

The respirometer is very sensitive to changes in temperature and pressure. This is the reason why you have to set a control thermobarometer. Any volume changes occuring due to changes in temperature and pressure will be recorded by this control device. Note volume changes in the control respirometer and this would represent the correction factor. The correction factor has to be added to or subtracted from the experimental value.

Volume of O_2 consumed by the insect = volume recorded in the experimental respirometer ± volume recorded in the control respirometer

The rate of oxygen consumed per gram weight of the body of the insect per unit time = $\frac{\text{Weight of oxygen consumed in one hour}}{\text{Weight of the insect}}$

= ....ml of oxygen/gram weight of cockroach/hr at the given temperature

SAQ

1. List the problems if any that you encountered while performing this experiment. How did you solve them?

....

....

....

....

2. Assuming you want to study the effect temperature on oxygen consumption in the insect, what additional steps you would introduce in the procedure?

....

....

....

....

19 OBSERVATIONS ON THE MICROCIRCULATION IN THE WEB OF FROG

19.1 INTRODUCTION

In LSE-05 course you have learnt about the English physician, William Harvey who in the early 1860s discovered pattern of blood circulation. Further you are aware that blood carries nutrients, oxygen and various other materials to the body tissues and carbon dioxide and other waste products away from tissues. Harvey himself had never seen an important component of the circulatory system — the capillaries. These blood vessels are important as it is in the capillaries that materials are exchanged between the circulatory system and the cells. In the present exercise you will examine the circulation of blood through capillaries in the web of a frog's foot.

Objectives

After you have completed this laboratory exercise you should be able to:

- observe the circulation of blood in the web of the frog's foot,
- differentiate between arterioles, capillaries and venules,
- trace the path of a capillary from the other arterioles and venules,
- determine the effect of temperature and adrenaline on the circulation of frog.

19.2 MATERIALS REQUIRED

Live Frog

Compound microscope

Medicine droppers

Absorbent wet towel

Isotonic Ringer solution in dropper bottles

(1) chilled, (2) warm (room temperature) and (3) hot (40°)

Frog board made of balsa wood with a hole

Pins

String

Adrenalin solution

19.3 PROCEDURE

The skin between the toes of a frog is very thin. As a result you will be able to see the actual capillaries with the blood moving through them. Read the procedure carefully before you begin your laboratory exercise.

i) Carefully wrap a live frog in a wet towel, tightly enough to prevent it from moving much. Leave one foot exposed. You have to roll the frog in such a manner so that it cannot bend it legs, (Fig. 19.1). This procedure will not hurt the frog. It will be able to breathe through its skin as long as you keep the towel wet.

ii) Place the wrapped frog on the frog-board, and spread and pin the web of the foot

over the hole in the balsa wood frog board (Fig. 19.1). As there are no nerves in the frog webbing, you can put the pins through webbing without hurting the frog. Throughout the observation keep the frog and the skin of the web moist with tap water and Ringer solution (at room temperature) respectively.

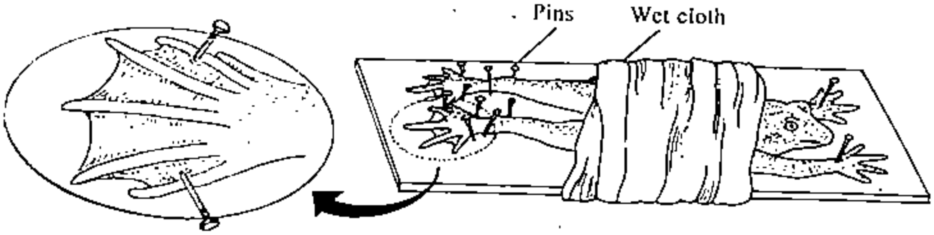


Fig. 19.1: Preparation of the frog for observation of web circulation under the microscope.

iii) Support the whole arrangement on the stage of your microscope, (Fig. 19.2) and move this set up under the low power of the microscope by moving the board until you see flowing blood in the frog web.

iv) Select a very small field of vision and observe carefully the size of the vessels, the thickness of their walls and the movement of blood flow.

v) Examine the web circulation carefully, keeping in mind the comparison you wish to make on relative size, comparative speed of blood flow and the amount of pulsation in arterioles, capillaries and venules.

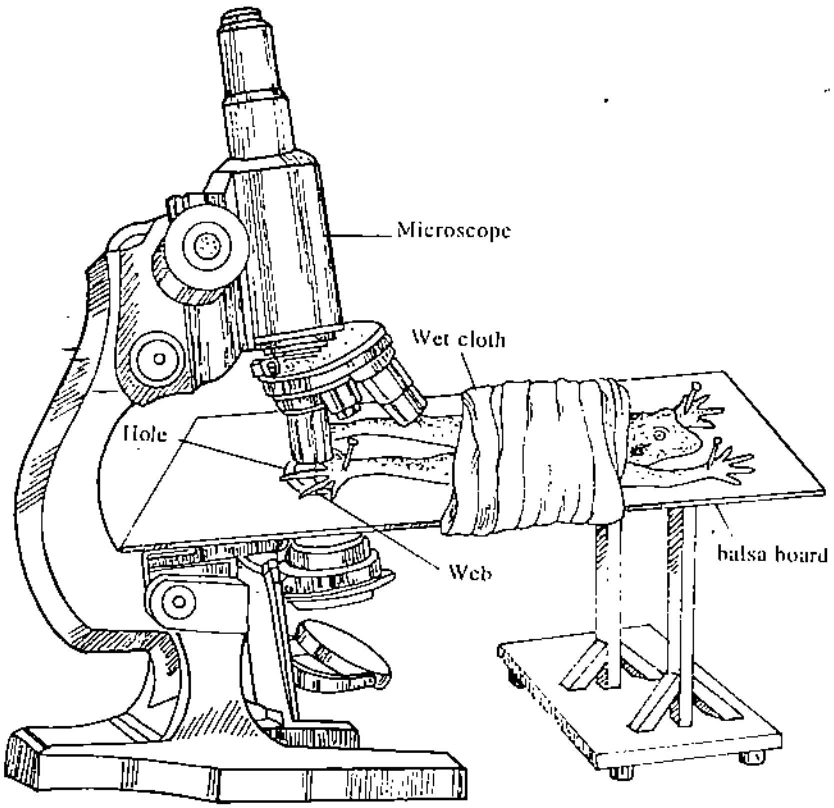


Fig. 19.2: Set up for microscopic observation of web circulation.

Activity 1

On the basis of the size of the blood vessels, distinguish them into arteries, veins and capillaries.

SAQ

1. Can you can observe the moving red blood cells?

2. Which of the blood vessels have thick walls? Thin walls?

Activity 2

In the space below, make a drawing of one of the blood vessels you have observed. Label the red cells, in your drawing.

vi) In a capillary you will see red blood cells moving through in a single file and in other blood vessels you will observe more than one red blood cell moving side by side at a time.

Activity 3

Blood enters the capillary from small arteries called arterioles. Try to trace a capillary back to an arteriole.

Activity 4

Focus on a capillary, then on a vein or artery.

SAQ 3. In which blood vessel does the blood move the fastest and in which the slowest?

vein —

artery —

capillary —

4. Does the red blood cell appear to be a flexible structure? How do the red blood cells move through very thin capillaries?

....

....

....

5. Does a capillary appear as a rigid glass tube? Do the vessels stretch to allow more blood to flow through?

....

....

....

Activity 5

Focus a particular region of the webbing. Draw all the blood vessels you see in this region and indicate the direction of flow of blood in these vessel by means of arrows.

Factors Affecting Capillary Circulation

Blood flow and its velocity are affected by a number of factors. Chemical substances such as ethyl alcohol constrict the blood vessels and decrease the rate of blood flow. Contrarily nicotine and lactic acid dilate the blood vessels and increase the rate of blood flow.

In the present laboratory exercise we will study the effect of temperature and adrenaline on the capillary circulation in frog.

Activity 6 — Effect of temperature on circulation

Carefully examine the capillary network at room temperature and become familiar with the normal blood flow. With the help of a Pasteur pipette, apply several drops of chilled frog Ringer solution (isotonic salt solution) to the surface of the capillary network in the webbing. Observe for five minutes. Is there an observable change in the blood flow? Does the speed of the blood flow increase or decrease?

Record your results in your note book.

a) Rinse the frog webbing using warm (room temperature) Ringer solution. Now apply Ringer solution heated to 40°C to the capillary net work in the webbing and observe the rate of circulation.

Record your result again in your note book.

b) Wash off the warm Ringer solution from the frog web tissue. Then place one drop of adrenalin solution on the capillary bed. Record your observations.

On the basis of the data you have recorded, answer the questions given below, regarding the effect of these factors on peripheral circulation.

6. It is known that the quantity of lactic acid in muscle tissue increases during exercise. Do you expect more oxygen to be delivered to the muscle tissue of a person who is running than to that of a person who is resting?

Adrenalin is released into the blood stream at times of stress. Why would a person who is frightened become pale rather than red and flushed?

Precautions

1) You should always keep the frog, including the web of frog moist.
2) Take care not to put the pins through the frog leg. Put the pins only through the web.

20 ESTIMATION OF HAEMOGLOBIN, TOTAL RBC AND WBC IN HUMAN BLOOD

20.1 INTRODUCTION

Blood when centrifuged, separates into two distinct portions — fluid and formed elements. The clear, straw-coloured fluid is called plasma. Plasma accounts for more than 50% of blood volume. The formed elements consist of red blood corpuscles, *erythrocytes;* white blood cells, *leucocytes;* and platelets or *thrombocytes.*

In human males, there are 5 million red blood cells per cubic millimeter, and in females, 4.5 to 5 million. Erythrocytes are packed with haemoglobin molecules to transport oxygen to the tissues. In a single red blood corpuscle nearly 280 million (2.8×10^8) molecules of haemoglobin are packaged. Haemoglobin concentrations in humans range from 14 to 16% in males and 12 to 14% in females. Concentrations less than this amount are indicative of anaemia. Anaemia essentially results due to iron deficiency in the body. You may recall that iron or heme is the prosthetic group of the haemoglobin molecule.

White blood cells, leucocytes, are cells with various shaped nuclei. Leucocytes average 5-9 thousand per cubic millimeter in normal blood. The count in children is higher. White blood cells are one of the body's major defence mechanisms against bacteria, virus, and other foreign substances that have entered the blood stream. During infections, the number of WBCs increases, a parameter used to diagnose infections.

In this lab exercise, you will estimate level of haemoglobin in blood using a haemometer and determine red and white blood cells count with the help of a haemocytometer.

Objectives

After completing this exercise you should be able to

- determine haemoglobin levels in a blood sample and
- estimate the total count of red blood corpuscles and white blood corpuscles in blood.

A Estimation of Haemoglobin

20.2 MATERIALS REQUIRED

Haemometer (Haldene's haemoglobinometer),

0.1 N HCl (1.2 ml of concentrated HCl made upto 100 ml. with distilled water),

distilled water

sterile needle (haemolets)

alcohol

cotton

Haemometer

The haemometer (Fig. 20.1) consists of two sealed lateral comparison tubes containing a suspension of acid haematin. These are held in a black frame against a white ground glass. Besides, a graduated test-tube of the same diameter is also provided which can fit in the haemometer in between the two side tubes. The graduations on the experimental tube refer to percentage of haemoglobin in blood that is haemoglobin in g/100 ml. of blood. The other accessories provided are a micropipette of 20 mm^3, a small glass rod, a small bottle brush, a dropper and a small bottle containing 0.1 N acid solution.

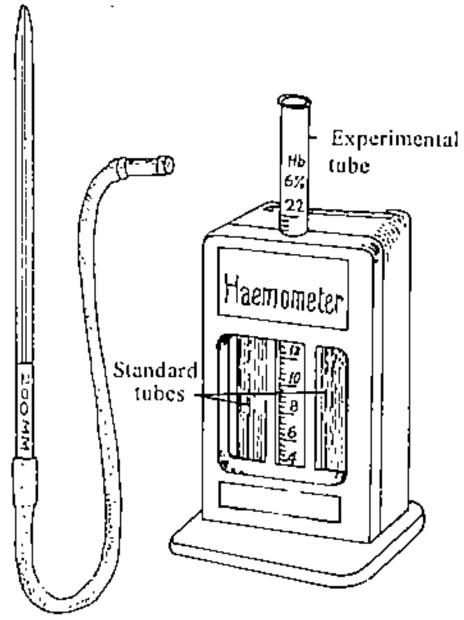


Fig. 20.1 : Haemometer.

20.3 PROCEDURE

In this method an acid haematin solution of blood is made in the graduated tube and the colour of this solution is compared with the acid haematin solution provided in the standard tubes.

1) Rinse the graduated tube with distilled water and then 90% alcohol. Dry the tube well before use.
2) With the help of a dropper add 0.1 N HCl solution to the graduated tube upto 2 g mark.
3) Cleanse your third or fourth finger with a piece of cotton soaked with alcohol and obtain a drop of fresh blood using a sterile needle. You may use a sewing needle or a ball pin for this purpose but make sure that they are well sterilized. For sterilizing, show the needle or pin or the lancet on a flame and wipe it well with alcohol. Under no circumstance, the pin or needle or lancet used by one student, be used by another student.
4) Wipe off the first drop of blood and then suck the micropipette by fresh blood upto the mark of 20 mm^3.
5) Wipe off the small amount of blood adhering to the outside of micropipette by sterilized cotton.
6) Transfer the blood from the micropipette to the graduated tube containing HCl solution. Introduce the pipette carefully into the tube and allow the tip of the pipette to reach the bottom of the tube into HCl solution. Blow into the opening of the rubber tubing to transfer the blood.
7) After the blood has been expelled into the tube rinse the pipette in distilled water and transfer the contents into the graduated tube. You may repeat this step twice or thrice so that no blood is sticking to the sides of the pipette and all of it is transfered to the graduated tube.
8) Stir the acid haematin solution thoroughly with the help of a glass rod and then allow it to stand for at least ten minutes.
9) In the next step dilute the acid haematin solution gradually by adding distilled water drop by drop.
10) After the addition of each drop of distilled water stir the solution with the glass rod and match the colour with that of the solution in the standard sealed tubes. You will

continue to do this step until the colour of acid haematin solution just fades away as compared to that of the standard comparison tubes. Note the reading on the graduated tube after the addition of each drop of water.

11) The reading on the graduated tube just before the colour fades away is taken as the correct and final reading. This reading is the amount of haemoglobin in grams per 100 ml of blood.

Haematin: When the blood is treated with a dilute acid, the heme in the haemoglobin is dissociated from the globin. Heme has iron in the ferrous state and in the reaction with acid is oxidised to haematic which has the iron in the ferric state. Addition of dilute acid (decinormal solution of HCl) to haemoglobin produces acid haematin which is dark brown in colour.

20.4 RESULTS

Tabulate your readings as shown below

No. of drops of water added	Haemoglobin concentration g/100 ml.
1	11.5
2	11.6
3	11.7
4	11.8
5	11.9
6	The colour of haematin fades away

Final reading 11.9 grams/100 ml.

Results: Haemoglobin content = 11.9 grams/100 ml.

20.5 PRECAUTIONS

1) Give a light prick to the finger tip while taking blood.
2) The finger and the prick (needle) should be disinfected.
3) Do not use uncleaned tubes, pipettes etc.
4) Fill the micropipette accurately.
5) Avoid inclusion of blood sticking at the outer surface of the mouth of the pipette.
6) Experiment should be performed quickly so that fresh blood does not clot before transfer to 0.1 N HCl.

B Estimation of Number of Erythrocytes in Blood

In this exercise you will determine the number of red blood corpuscles present in per cubics mm of blood.

20.6 MATERIALS REQUIRED

Haemocytometer

Hayem's solution

Microscope

Haemocytometer

The apparatus used for the enumeration of blood cells is called haemocytometer (Fig. 20.2). Examine and become familiar with the equipment which consists of a counting slide, a coverslip and pipettes. The counting chamber has a stage on which are

ruled two sets of fine lines at right angles to each other. The whole ruled area occupies 1 sq. mm and consists of 25 large (0.04 sq. mm) and 400 small squares (0.0025 sq. mm). On each side of the counting chamber is a ridge of glass 0.1 mm high. When a coverslip is placed on the two ridges covering the counting chamber a cubic space is enclosed. Each of the smallest cuboid has a volume of 0.00035 c. mm. The volume of the entire ruled counting chamber is 0.1 c mm.

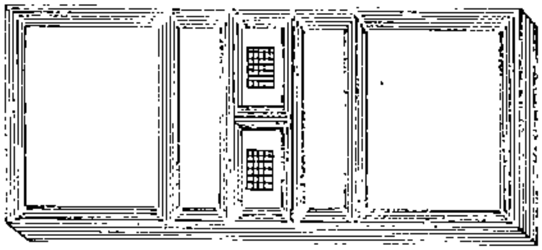


Fig. 20.2 : A haemocytometer.

There are two pipettes provided along with the counting chamber for specific purpose of accurately diluting the blood sample. One pipette with a red bead in the bulb of the pipette is used for drawing blood for the counting of RBCs. The other pipette with a white bead in it is used for drawing the blood for the counting of WBCs.

20.7 PROCEDURE

Clean and dry the haemocytometer and place the cover slip on it.

1) Sterilize your finger tips and the needle, with alcohol and obtain a large drop of blood as instructed in the previous experiment. Using the pipette suck the blood accurately upto 0.5 mark.

Hayem's solution has the following composition

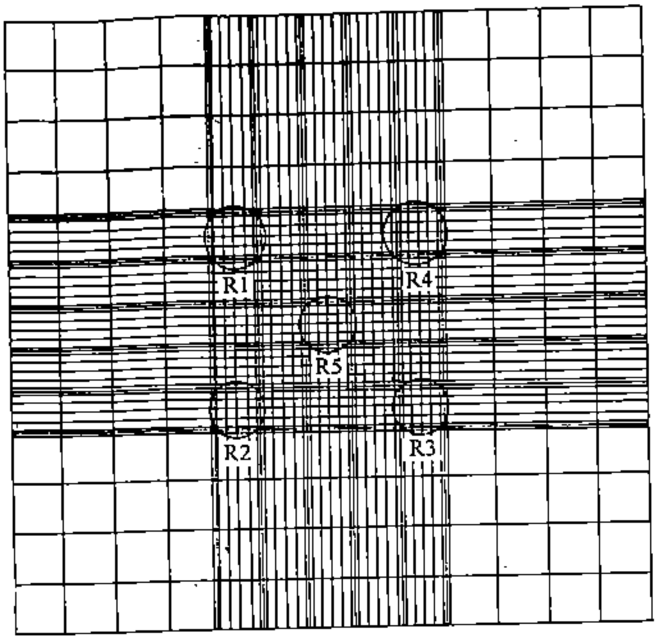
i) Mercuric chloride ($HgCl_2$) = 0.5 g

ii) Sodium chloride (NaCl) = 1.0 g

iii) Sodium sulphate (Na_2SO_4) = 5.0 g

iv) Distilled water (H_2O) = 200 ml

2) Now draw carefully into this pipette HAYEM'S solution upto 101 mark. Hold the pipette horizontally and rotate many times so that blood thoroughly gets mixed with **Hayem's** fluid. The red bead in the micropipette helps in mixing of blood fluid. Now the blood is dilutated 200 times.



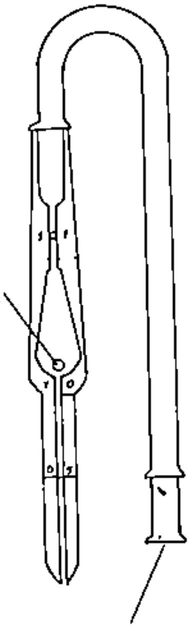


Fig. 20.3 : RBC pipette and small squares in the counting chamber. R denotes small squares for red corpuscles count.

3) Dicard the first 3 or 4 drops of the diluted blood from the pipette by releasing your hand from the tube. Now apply the tip of the pipette between the coverslip and the platform and allow a few drops of blood mixture to flow in the narrow space between the coverslip and the counting chamber. Blood mixture remains filled up between the coverslip and the counting chambers because of capillary action. Make sure that air is not introduced into the counting chamber. Do not pour excess of blood mixture to avoid blood entering into H-shaped groove.

4) When the counting chambers are properly flooded the slide may be kept aside for a few minutes so that the RBCs settle down to the bottom of the counting chamber.

5) Now place the slide gently and carefully under the microscope. Focus the red corpuscles under the high power of microscope for the purpose of counting (Fig. 20.3).

6) Count the RBC in 80 small squares or 5 large squares randomly. The RBCs lying on the middle of the line of square to your side or to the right are also to be counted in the total, while those lying on the upper and left sides of the line of square are not to be counted.

Record your counts in the Table provided below.

20.8 RESULTS

No. of squares	No. of RBCs
1	83
2	
3	
4	
5	

Total RBCs =

Number of RBCs counted in 80 small squares × 200 × 50.

[where 200 is the dilution factor. The volume of fluid in 80 small squares or 5 large squares = 1/50 c mm. Therefore to calculate the numbers of RBCs in one ml. of blood, you need to multiply it by 50.]

C Estimation of White Blood Cells in Blood

20.9 MATERIALS REQUIRED

Haemocytometer

Thoma's fluid

water

distilled water.

20.10 PROCEDURE

The procedure of counting of WBCs is the same as that of the RBCs. But use the WBC pipette and Thoma's fluid as the diluting fluid. The WBCs are counted in the four corners of 1 square millimeter in the central ruled area on both the sides of the counting chambers of the haemocytometer (Fig. 20.4). The WBCs are recognized by the refractile appearance and by the slight violet colour. The cells touching the boundary lines are not counted.

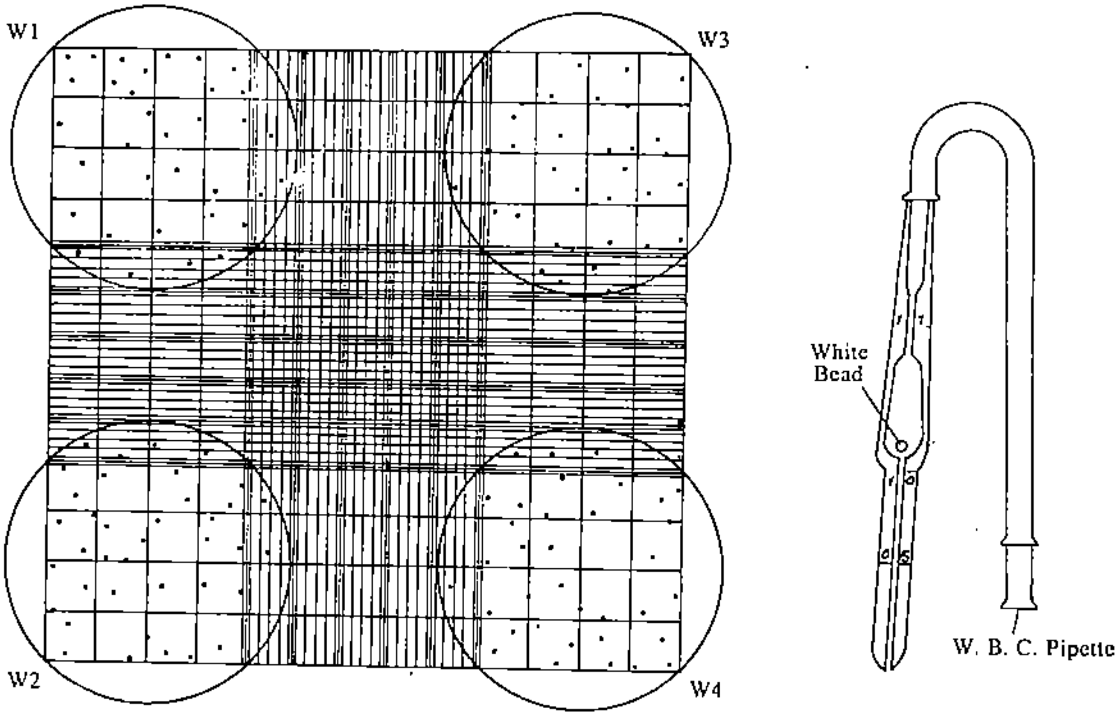


Fig. 20.4 : WBC pipette. Big squares in the counting chamber. W denotes big squares for white blood cell count.

Record your results in the table below.

20.11 RESULTS

No. of Squares	No. of WBC
1	
2	
3	
4	
5	

$$\text{Number of WBCs per cubic mm} = \frac{\text{Number of cells counted } 20 \times 10}{\text{Number of 1 sq. mm counted}}$$

Since the dilution is 20 times and the cubic capacity of the area counted is 1/10 cubic millimeter, the total volume is 1/200 cubic millimeter. Say for example, the number of WBCs counted 25. In other words number of WBCs in 1/200 cubic millimeter = 25. Therefore, the number of WBCs in 1 cubic millimeter = 25 × 200 = 5000 WBCs. Normally healthy man has 4000 to 6000 WBCs per cubic millimeter of blood.

21 TESTS FOR EXCRETORY PRODUCTS OF ANIMALS OF DIFFERENT HABITATS

21.1 INTRODUCTION

In an organism's body metabolism produces a váriety of by-products. Some are useful and others are of no further use to the organism, rather they are harmful if retained by the body. In smaller organisms with a large surface/body ratio the waste products are lost by diffusion but larger animals have special mechanisms for detoxification, transport, storage and removal of their excretory products.

You have learnt in Unit-4 of the course on Physiology (LSE-05) that nitrogen is toxic and needs to be excreted as soon as it is formed or converted to a less toxic form before excretion. Therefore, nitrogen is excreted in different forms by different animals depending on their habitat. Animals living in an aqueous environment have different problems of excretion as compared to those living on land. Animals can be classified according to the type of nitrogen containing excretory product they produce, namely ammonia, urea and uric acid. Animals that excrete ammonia are called ammonotelic. Those that excrete urea are ureotelic and the ones that excrete mainly uric acid are uricotelic.

In this experiment you will test the excretory products of animals that live in different habitats i.e. on land as well as in water and classify them according to their excretory product.

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- detect the presence of ammonia, urea or uric acid in the excretory product of vertebrates
- identify the habitats of different animals based on the type of excretory product produced by them.

21.1 MATERIALS REQUIRED

Water from a fish aquarium

Water from the aquarium in which frogs have been kept for a few days

Cow's urine

Bird guano

Test tubes

Pipettes

Nessler's reagent

Urease enzyme or freshly made horsegram powder

2% sodium carbonate solution

Conc. HCl.

Conc. HNO3

Dilute ammonium hydroxide

21.3 PROCEDURE

Your counsellor will provide you the various excretory products listed under the materials required.

Take 12 test tubes and arrange then in 3 sets. Mark them as A, B and C. Each set would have 4 test tubes. Number them 1 to 4

Take the excretory products in the three sets of test tubes as follows

Test tube 1	fish water
Test tube 2	frog water
Test tube 3	cow's urine
Test tube 4	bird guano

To dissolve bird guano add 2ml. of 2% Na_2CO_3 solution and boil. Leave it to cool. Decant the clear fluid to another test tube. Label it as No. 4 and use for the various tests.

One set of 4 test tubes will be used for testing for the presence of ammonia; one set for urea and the third set for testing for the presence of uric acid.

Test for Ammonia

Use set A for testing ammonia

1. Add in each test tube 2ml. of Nesseler's regent
2. Note the change in colour. A brownish red colour will indicate the presence of ammonia. Record your results in Table 21.1

Test for Urea

Use set B for testing urea

1. Add in each test tube a pinch of urease powder. In case the enzyme is not available, use horsegram powder.
2. Cover the test tubes with aluminium foil and keep aside for 10 minutes.
3. Add 2ml. of Nesseler's reagent in each tube. Note the change in colour. Record your results in the Table 21.1.

SAQ 1. What is the action of urease enzyme on urea?

....

....

....

SAQ 2. Why do we need to cover the test tubes?

....

....

....

Test for Uric Acid

Use set C for this test

1. Add in each test tube, along the sides 2ml. of conc. HCl.
2. Observe the formation of uric acid crystals. Record your results
3. Drain out liquid from the test tube containing crystals. Now wash the crystals with a few ml. of distilled water
4. Empty the contents on to a clean watch glass and observe under the microscope. Draw the structure of crystals in your note book.

SAQ 3. How will you dissolve uric acid crystals?

....

....

SAQ 4. Why do aquatic animals exerete ammonia and not urea?

....

SAQ 5. Why do birds excrete uric acid and not urea?

....

....

....

21.4 RESULTS

Table 21.1

Organism	**Excretory Product**		
	Ammonia	**Urea**	**Uric Acid**
Fish			
Frog			
Cow			
Bird			

Note: Indicate a positive result by a + sign and negative result by a — sign

SAQ 6. In your experiments do you get positive results for the different excretory products in the same animal? If the answer is yes, give reasons for it .

....

....

....

22 RECORDING A MUSCLE TWITCH IN FROG

22.1 INTRODUCTION

In Unit 6 of Block-2 LSE-05 you have learnt about muscles contraction. In the body, skeletal muscles are stimulated to contract by somatic motor nerves through nerve impulses. The nerve cells that stimulate the skeletal muscles are known as somatic motor neurons.These cells as you know, are located in the brain or spinal cord but their axons leave the brain via the cranial nerves and the spinal cord via the spinal nerves known as peripheral motor nerves.

Upon reaching the skeletal muscles the nerve fibres branch and innervate several individual muscle fibres. The connection between the nerve fibre and skeletal muscle is called a neuromuscular junction.

The nerve impulses that reach the neuromuscular junction cause the release of a neurotransmitter acetylcholine from the nerve ending. Acetylcholine combines with the receptors on the muscle fibre membrane causing it to generate and conduct an impulse. The impulse stimulates the release of Ca^{++} and cause the contraction of the muscle fibre.

The skeletal muscles can be stimulated to contract by applying an electric current to the nerve or to the muscle directly. When a single stimulus of sufficient strength is applied, the resultant contraction is know as **twitch.** This can be recorded on an instrument known as **kymograph.** The recording of a skeletal muscle twitch indicates a period between the time the stimulus is applied and the beginning of the contractile response. This interval of time is the latent period. The latent period represents the time required for the electrical current to spread through the tissue and muscle and the release of Ca^{++} in the muscle fibre. Following the latent period is the contractile phase in which the muscle shortens and the relaxation phase, in which the muscle returns to its original length.

In this experiment you will make a preparation of the gastrocnemius muscle-sciatic nerve and record the muscle twitch by stimulating the preparation electrically.

Objectives

After performing this experiment you should be able to:

- make a gastrocnemius muscle — sciatic nerve preparation from the frog.
- record a skeletal muscle twitch and determine the time for latent period, contraction and relaxation phases.

22.2 MATERIALS REQUIRED

Live Frog

Dissection Tray

Dissection Kit

Thread

Bone cutter

Frog Ringer solution

50ml beaker

Cotton

20% urethane, injection syringe and needle

Kymorgraph Recording system having

Kymograph apparatus

1.5 volt dry cell (stimulator) with electrodes attached to it

Muscle lever

Double hook

Femur clamp and stand

5 gram weight

Recording stylus

22.3 PROCEDURE

This exercise would be done in two parts. In the first part you will assemble the kymograph apparatus for recording of the muscle twitch.

In the second part you will carefully dissect and obtain a preparation of the gastrocnemius muscle and sciatic nerve of frog.

Setting up the Kymograph Apparatus

Your counsellor will get ready the recording instrument. This instrument consists of a revolving drum mounted on a suitable motor with adjustable speed (Fig. 22.1). A soot covered recording paper is pasted on the drum. A femur clamp is fitted to a stand to hold the nerve muscle preparation. The electric stimulator used in this experiment is made by soldering two electric wires one on each side of a 1.5 dry cell. The two electric wires are fitted with simple electrodes.

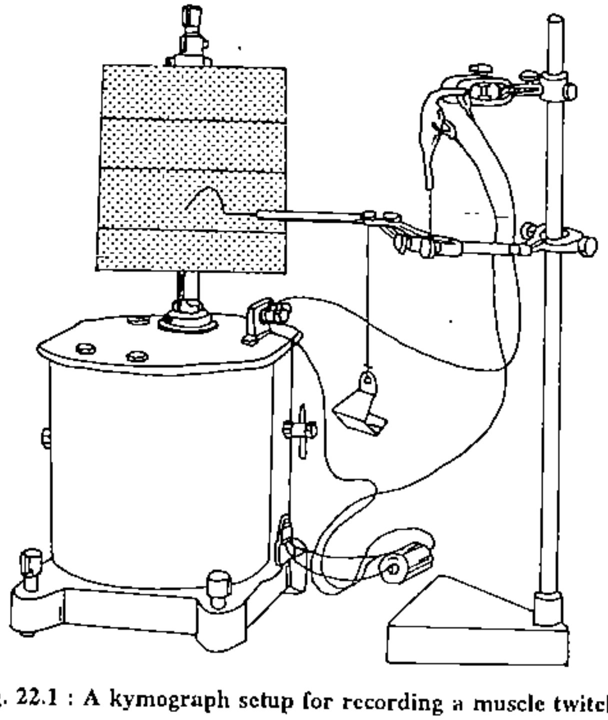


Fig. 22.1 : A kymograph setup for recording a muscle twitch.

A. Nerve-muscle Preparation

(Work in groups of four students)

1. Before you start the dissection, anesthetise the frog by injecting 2.5ml of 20% urethane intramuscularly. This would quieten the frog. Alternately you could immobalise the frog by pithing.
2. For pithing you should hold the frog in your left hand with the head bent forwards. Run the tip of a dissecting needle straight over the frog's head in the midline, until a depression is felt at the rear of the skull. Insert the point of the dissecting needle at this location which will cut the spinal cord from the brain. Aim the needle

forward and destroy the brain by rotating the tip of the needle from side to side. The animal would now be immobile and can be used for dissection.

3. Pin the frog on a dissection tray. Expose the body cavity of the animal and carefully remove the visceral organs. While removing the kidneys take care not to damage the nerves. Now you can see the vertebral column and the spinal nerves attached to it on either side. Always keep the dissection wet using the frog's Ringer solution.

4. Using a bone cutter, cut the pelvic girdle on one side to separate the two femurs.

5. Remove the skin from one of the hind legs by making an incision in the skin around the thigh where it joins the body. Peel the skin down to the toes using a forceps or by hand, peeling it off like a glove. Remove the thigh muscles and connective tissue, and trace the sciatic nerve from the spinal cord to the knee joint. Do not cut the structures of the knee joint or damage the origin of the gastrocnemius muscle.

6. Free the Achilles tendon and gastrocnemius muscle from the surrounding tissues. Tie a strong thread around the Achilles tendon and cut distal to the thread, close to the foot. Using a bone cutter cut the femoral bone near the knee. Also cut the vertebral column above the below the sciatic nerve. Carefully remove the piece of vertebral column to which the nerve is attached.

7. Holding the thread remove the muscle upwards near the tibia. Cut the tibial bone close to the knee joint.

Your final perpetration should consist of a piece of the vertebral column attached to the sciatic nerve, the knee joint with a piece of tibia and femur attached to it and the gastrocnemius muscle with a thread around the tendon. (Fig. 22.2). Throughout the dissection you must take care not to damage the nerve and also to keep the nerve muscle preparation wet by using cotton soaked in frog's Ringer solution.

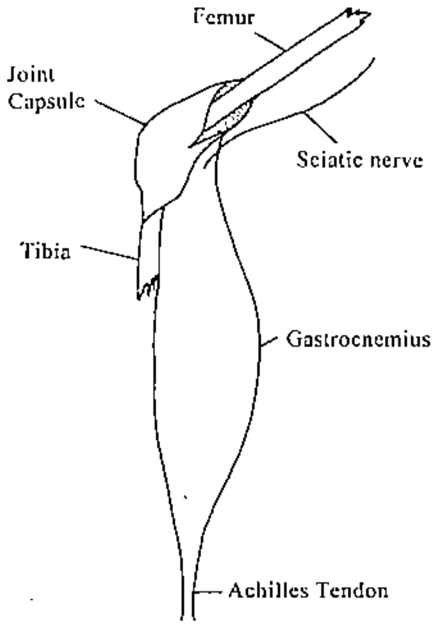


Fig. 22.2 : Gastrocnemius muscle — sciatic nerve preparation.

B. Recording of the muscle-twitch

1. Place the femur in the femur clamp and make sure that the muscle is suspended vertically, directly above the point where it will be attached to the muscle lever.

2. Hook the thread to the lever with a double hook and to the other end of the hook add a 5g weight. This arrangement will keep the lever in horizontal position and the muscle and thread in a vertical position.

23 STUDY OF REPRODUCTIVE AND ENDOCRINE ORGANS IN RAT/MOUSE

23.1 INTRODUCTION

The purpose of this exercise is to enable you to locate and identify the male and female reproductive organs of a rat by dissection procedures. You will also learn to locate the major endocrine glands in the animal and to recognize different types of endocrine tissues using prepared slides.

Objectives

After completing this exercise you will be able to:

- identify the structures of the male and female rat/reproductive organs,
- identify stages in oogenesis and spermatogenesis by examining the sections of testis and ovary in prepared slides,
- state the location of each endocrine gland in the body,
- identify the sections of pituitary, thyroid, parathyroid, pancreas and adrenal glands under a microscope.

23.2 MATERIAL REQUIRED

dissecting microscope

compound microscope

dissecting instruments

prepared slides of ovary, testis, pituitary, thyroid, parathyroid, pancreas and adrenal.

23.3 REPRODUCTIVE ORGANS

Dissect out a freshly chloroformed rat (male or female) for general viscera. Remove the alimentary canal, liver, heart and lungs.

A. Female Reproductive Organs

Look for female reproductive organs in the pelvic region (Fig. 23.1). On the torso, you should be able to locate a small reddish brown, irregular shaped ovary lying just medial and inferior to each kindly. You may observe that each ovary is connected to a short coiled oviduct (fallopian tube) that conveys ova, or eggs, to the uterus. Observe that the vagina lies posterior to the urethra and extends to the outside, opening at the vaginal orifice, anterior to the anus. Identify ovaries, vagina and the uterus.

B. Male Reproductive Organ

In male rats immediately inferior to the pelvic region, locate the scrotum, which is a sac covered with skin. It contains a pair of testes (Fig. 23.2). Also observe the epididymis, a large coiled duct on the anterior lateral surface of each testes. Extending from the epididymis is an ascending tube, the spermatic cord, which consists of the vas deferens (ductus deferens), blood vessels, and a nerve. Trace the spermatic cord and notice that it enters the body cavity through an opening, the inguinal canal. When the spermatic cord reaches the level of the urinary bladder, you will observe that the vas deferens leaves the spermatic cord and makes a sharp bend medially and inferiorly over the ureter and continues inferiorly until it penetrates the urethra at the level of prostate gland. Trace the urethra inferiorly until it enters the penis, an external structure. The opening at the

interior end of the penis where urine and semen are released is the urinogenital opening.
· Identify scrotum, testes epididymis, spermatic cord, vas deferens, urethra, prostate gland and penis.

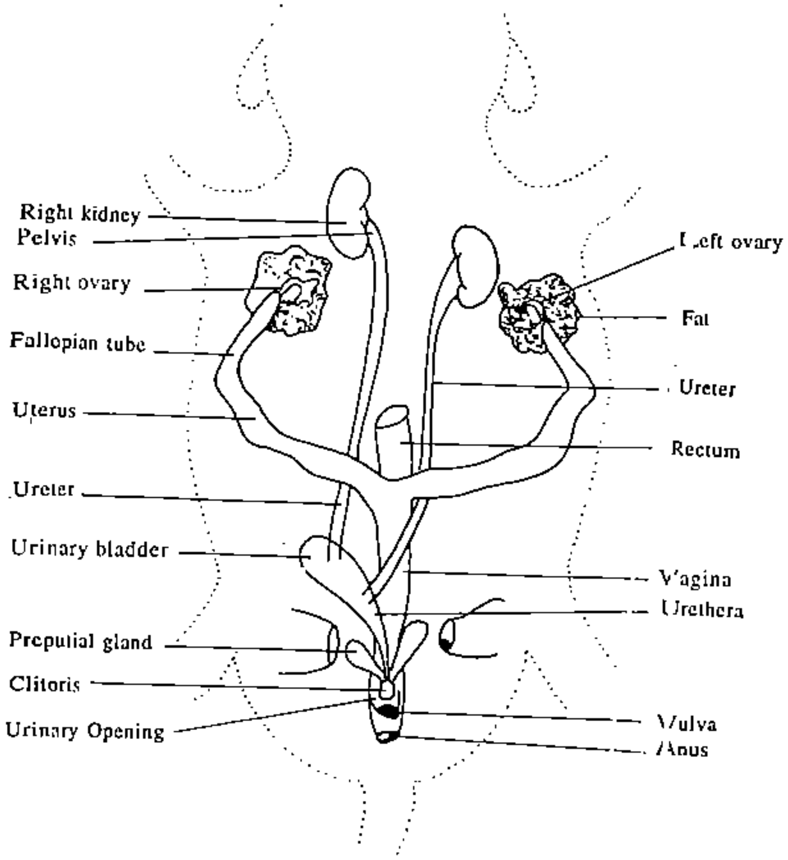


Fig. 23.1 : Urinogenital system of a female rat.

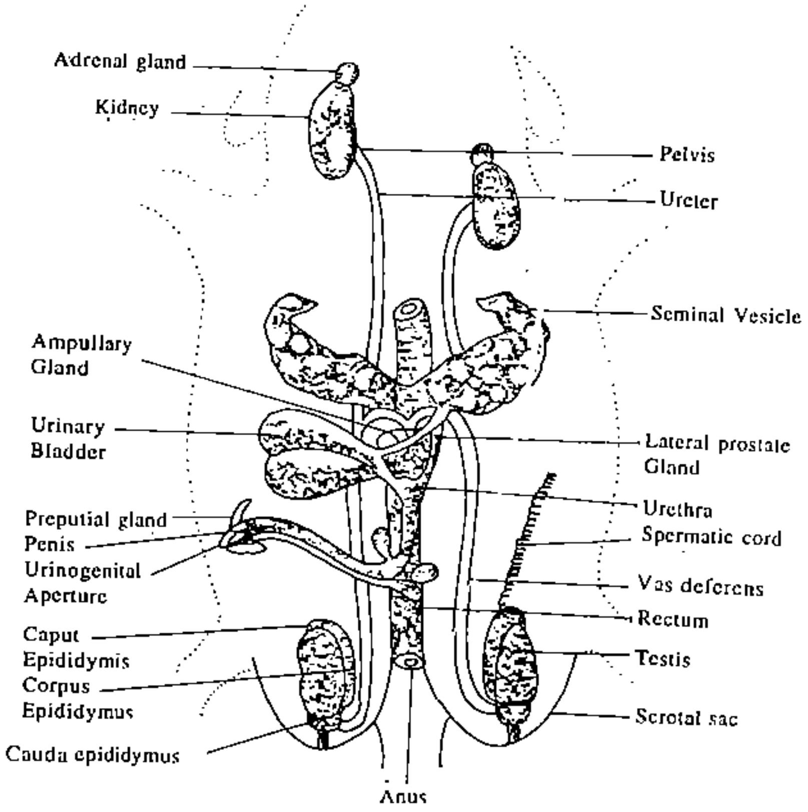


Fig. 23.2 : Urinogenital system of a male rat.

23.4 STUDY OF PREPARED SLIDES

C. Cross Section of A Mammalian Ovary (RAT)

You will observe in a slide of a sectioned ovary Graafian follicles (Fig. 23.3 and 23.4). Notice the cuboidal epithelium around the periphery of the section. Medial to the cuboidal epithelium you may see **primary follicles.** After puberty, under hormonal influence, several follicles begin to grow prior to ovulation and become **primary oocytes, secondary oocytes,** and later, **Graafian follicles.** You will observe that the **Graafian follicles** (Fig. 23.4), which occur only in mammals, are hollow sacs containing an ovum surrounded by **follicular fluid** (or **liquor folliculi**). The cavity containing the follicular fluid is the **antrum.** Immediately underlying the ovum, within the Graafian follicle is a mound of cells known as the **cumulus oophorus.** Make a sketch of the structures you have observed and label them.

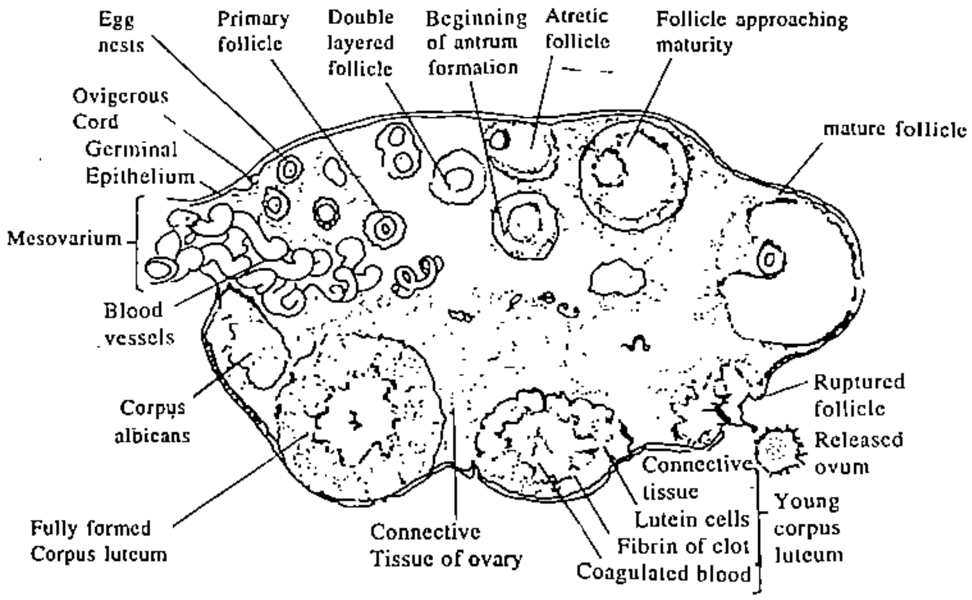


Fig. 23.3 : Generalized structure of ovary.

. Theca externa
2. Theca interna
3. Lutein
   Corpus luteum
4. Antrum containing
   follicular fluid
   and cells
5. Coronoradiata
6. Ovum
7. Nucleus of ovum
8. Zona pellucida
9. Cumulus Oophorus

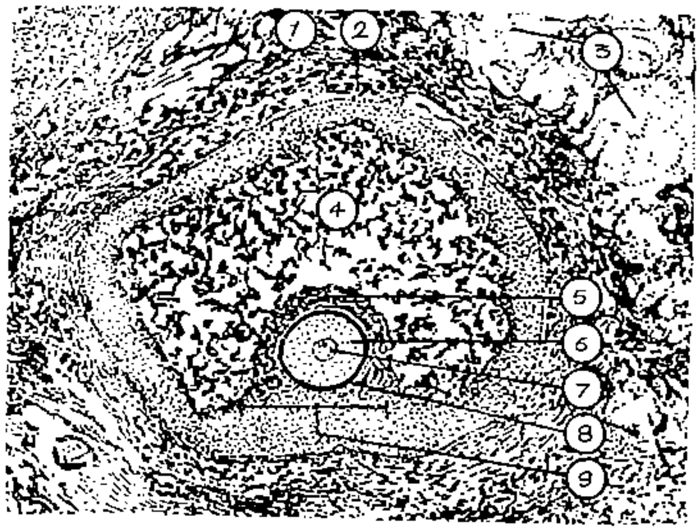


Fig. 23.4 : Graafian follicle.

D. Cross Section of Testis

Observe a slide containing a section of testes. Within the testes, you will find numerous seminiferous tubules (Fig. 23.5). Under high power, focus on a cross section near the

periphery of a seminiferous tubules. Starting from the periphery move towards the centre, you should be able to see different stages of development of sperm. Towards the periphery you can observe relatively small but numerous *spermatogonial cells.* Then follows the large *primary spermatocytes.* You will then observe *secondary spermatocytes* which arise out of post-meiotic division. Then follows deeply staining spermatids. Between the seminiferous tubules are the interstitial cells of Leydig, which produce and secrete the male hormone **testosterone.** Draw and neatly label the various structures that you have observed in the cross section of the testes.

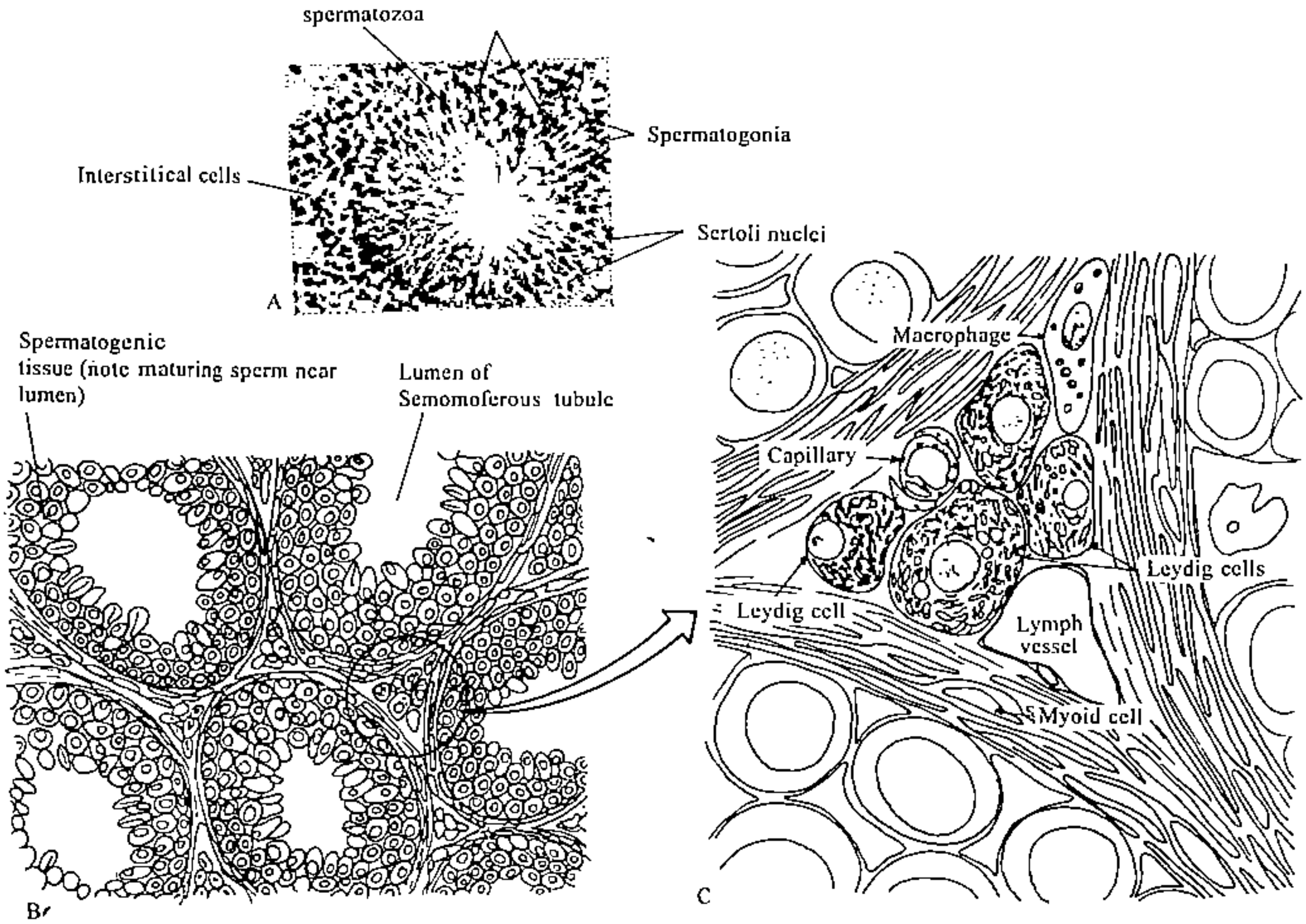


Fig. 23.5 : (A) Photomicrograph of Transverse section of rat testis showing a seminiferous tubules in full spermatogenetic activity. (B) Diagram of section of rat testis showing seminiferous tubules and interstitial cells (C) Section showing Leydig cells at higher magnification.

E. Cross Section of Uterus

You will observe in a cross section of uterus the smooth muscle area and endometrical lining. The endometrium is composed of two layers: the underlying **stratum basale** which contains blood vessels, and the more superficial *stratum functionale,* which is composed of secretary glands and columnar epithelium. The stratum functionale is sloughed off during estrus phase (Recall the experiment on Vaginal Smears) (Fig. 23.6). Sketch and label the different structures.

23.4 LOCATION OF ENDOCRINE GLANDS

Endocrine glands are ductless glands which secrete chemical agents known as hormones. Hormones from each endocrine gland are transported in the blood stream to another part of the body where they evoke systematic responses or adjustments by acting on target tissues or organs. The endocrine glands together with the nervous system integrate functions of organs and organ systems in the body (Fig. 7.8). Before carrying out the dissection of a rat to locate various endocrine glands, you may go through Unit 10 of Block 2 LSE-05 Course to recall to your memory the various endocrine glands and their functions.

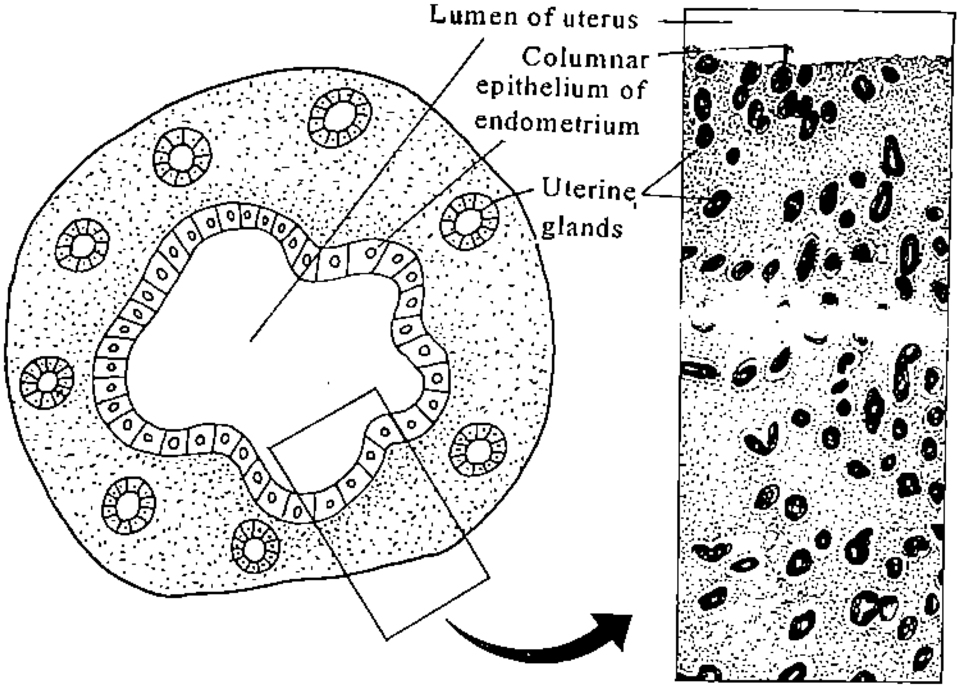


Fig. 23.6 : Cross section of rat uterus.

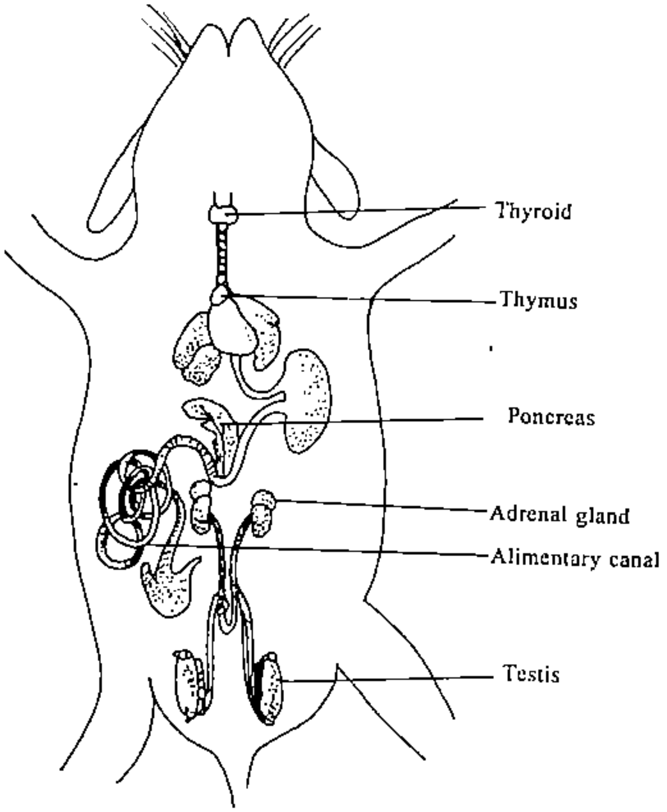


Fig. 23.7 : Endocrine system of rat.

A. Dissection of Endocrine Glands

1. Dissect out a freshly anaesthetized rat to expose body cavity.
2. Expose the trachea and look for thyroid gland at the beginning of trachea, on the ventral side of the pharynx. (Fig. 23.7) It is reddish brown in colour.

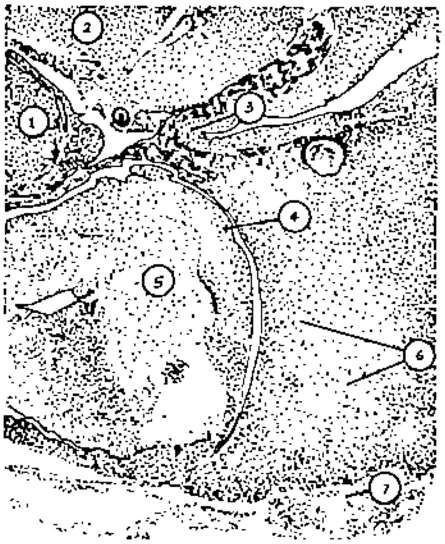
3. Look for the Thymus gland just above the heart, near the auricles. It is bilobed and white in colour.
4. Expose the duodenum and between the arms of the duodenum, observe highly branched pancreas pink-grey in colour. Do not uncoil the loop.
5. Remove mesentaries to separate the alimentary canal from rest of the organs to show other endocrine glands. Push and pin the alimentary canal to one side and expose the kidneys.
6. Observe the pale yellow cap-shaped **adrenal** gland on the top of each kidney.
7. Trace the ovaries and testes as described in reproductive organs, as certain cells of these organs secrete hormones.

Draw a well labelled diagram of your dissection.

In the next part of the exercise you will observe sections of prepared slides of various endocrine glands.

E. Pituitary Gland (Hypophysis)

Examine a section of pituitary gland. Draw the section and label the following: infundibular stalk, pars distalis, chromophil cells, pars nervosa, and pars intermedia (Fig. 23.8). First observe this section under a dissecting microscope to see it in its entity.



1. Sella turcica
2. Hypothalamus
3. Infundibular stalk
4. Pars intermedia
5. Pars nervosa
6. Pars distalis containing chromophil cells
7. Dura mater

Fig. 23.8 : T.S of pituitary of rat.

F. Thyroid Gland

In this section you will see several thyroid follicles each lined with cuboidal epithelium and containing a colloidal substance that stains pink in colour. This substance is the thyroglobulin, the precursor and storage form of thyroxine and triiodothyronine (Fig. 23.9). Draw and label the colloid and cuboidal epithelium.

G. Pancreas

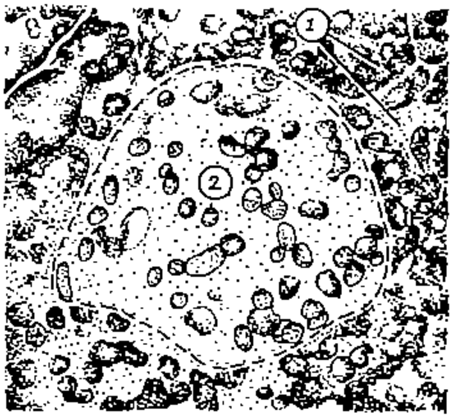
Observe the scattered islets of Langerhans among the acinar tissue (Fig. 23.10), which secrete digestive enzymes. The islets produce three hormones: glucagon from alpha cells, insulin from beta cells, and somatostatin from delta cells. Draw a section of pancreas and label the acinar and islet portions.

H. Adrenal Glands

Each adrenal gland has an outer **cortex** surrounding the **medulla.** The cortex consists of three zones: the outer **zona glomerulosa** which secretes aldosterone; the middle **zone fasciculata;** and the inner *zona* **reticularis,** Adrenal Cortex secretes corticosteroid hormones the glucocorticoids and mineralocorticoids and the medulla secretes epinephrine and norepinephrine.

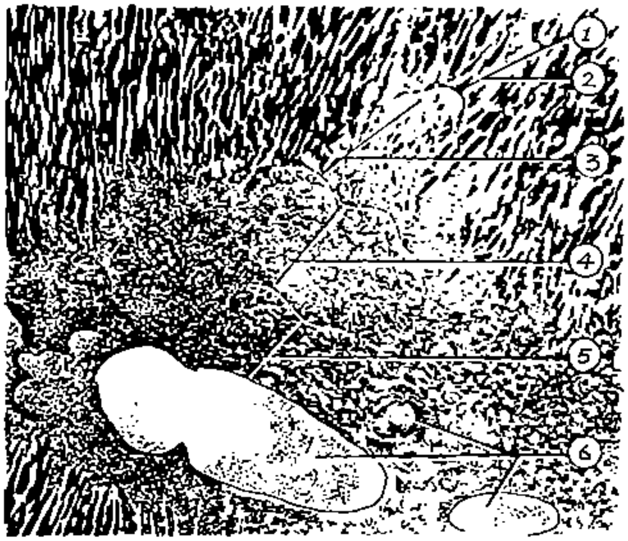
ft Thyroid follicle
p. Parathyroid tissue

Fig. 23.9 : Section of thyroid and parathyroid glands in mouse.



1. Pancreatic acini
2. Islet of Langerhans

Fig. 23.10 : T.S. of pancreas showing islet of Langerhans.



1. Capsule
2. Zona glomerulosa
3. Zona fasciculata
4. Zona reticularis
5. Medulla
6. Veins in medulla

Fig. 23.11 : T.S. of adrenal gland showing cortex and medulla.

23.6 SELF ASSESSMENT QUESTIONS

1. Which of these is the correct sequence for oogenesis?
   a) oogonium, primary oocyte, ovum, secondary oocyte, ootid
   b) primary oocyte, secondary oocyte, oogonium, ootid, ovum
   c) oogonium, primary oocyte, secondary oocyte, ootid, ovum
   d) ovum, primary oocyte, oogonium, secondary oocyte, ootid.
2. How many spermatozoa are normally produced from primary spermatocyte?
   a) one
   b) one plus three polar bodies
   c) two
   d) four.
3. Match I with II.

   I. a) pituitary
   b) parathyroid
   c) thyroid
   d) pancreas
   e) adrenal

   II. i) This gland is both an endocrine and an exocrine gland.
   ii) This gland contains the following structure: pars distalis, pars nervosa, and pars intermedia.
   iii) There are usually four of these gland.
   iv) This gland produces tropic hormones.
   v) There is evidence that this gland produces androgens in both sexes.
   vi) This gland produces thyroid stimulating hormone (TSH).

PREPARATION OF VAGINAL SMEARS IN RAT/MOUSE

24.1 INTRODUCTION

You have learnt in Unit 8, block 2 of LSE-05 course that gamete production in female vertebrates is cyclic and in most animals takes place during seasons which are most favourable for the survival of their offspring. In mammals, other than primates, the reproductive cycle is known as **estrous cycle.**

Rats and mice have an estrous cycle of 4 to 5 days and the cycle is divided roughly into four stages.

(a) **Estrous:** This is the period of heat during which ovulation occurs. This period lasts for 9-15 hours under the influence of follicle stimulating hormone (FSH) and estrogen. The female is receptive to the male only during this period; therefore, ovulation and fertilisation are well coordinated. The uterus becomes enlarged and the vaginal mucosa proliferates and the vaginal epithelium becomes squamous and cornified. A vaginal smear taken during this period shows **squamous cells** indicative of estrous.

Subsequent events depend on sexual contact with male.

2. **Metaestrous:** In the absence of copulation this stage occurs shortly after ovulation and lasts for 10 to 14 hours. A small corpus luteum is formed and some progesterone is secreted. A vaginal smear taken at this stage shows **lecuocytes with some cornified cells.**

3. **Diestrous:** This stage lasts for 60 to 70 hours. The corpora lutea regress during this period and vaginal smear contains **only leucocytes.**

4. **Proestrous:** Lasts for about 12 hours. It precedes the next estrus. Degeneration of old corpora lutea continues but new follicles mature rapidly. The uterus becomes distended again and the vaginal smear contains individual **nucleated epithelial cells** or in sheets.

All these changes in vaginal lining are shown diagramatically in Fig. 24.1.

Objectives: In this experiment you will be able to:

- prepare vaginal smears from rats or mice and
- identify the stages in the estrous cycle in the animals provided to you.

24.2 MATERIALS REQUIRED

Female rats/mice

Physiological saline

Cotton swabs

Giemsa stain

Microslides

Coverslips

DPX mountant

24.3 PROCEDURE

Anesthetise the rats/mice with chloroform. As soon as they are immobilised, lay them on

a dissection tray with the ventral side up. Use a cotton swab (preferably use an ear cleaning cotton bud) moistened with physiological saline. Insert it into the vagina of the animal and roll it gently. The cells adhering to the lining of the vaginal wall will stick to the moist cotton swab.

Remove the cotton swab and smear it on a clean slide. Dry the slide by waving in air for a few minutes. Leave the preparation in a petridish and add a small quantity of Giemsa stain to the smear. Cover and leave for 10 minutes. Wash the slide well in distilled water. Dry it in air. Mount the slide with a coverslip using DPX mountant.

24.4 OBSERVATIONS AND RESULTS

Observe under the microscope and identify the stage of the estrous cycle on your slide with the help of the description given in the introduction and the figure given below. Draw the stage you have identified on your slide in the note book.

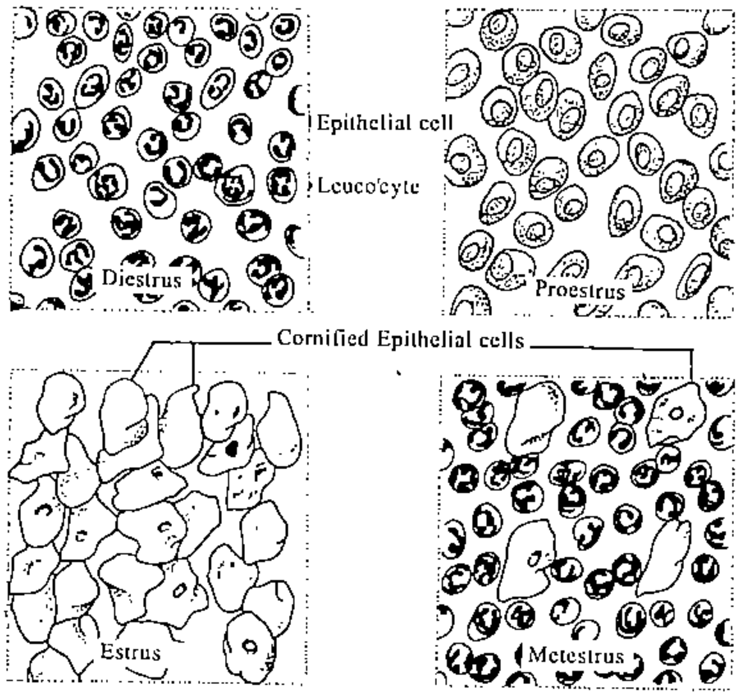


Fig. 24.1 : Different stages in the estrous cycle with their characteristic cells seen in vaginal smears.

Since the animals have been anesthetised using chloroform, they would recover soon. Therefore, after taking the smear return them to their cages.

You can make several such vaginal smears using the same animals at 2-3 days intervals over the two week period of your stay at the study centre.

1. What is the stage of estrous cycle in which you find your animal?

 ....

 ....

 ....

2. What are the types of cells observed in the stage you have identified?

 ....

3. Fill in the following table with the data from the other students.

STAGE OF CYCLE	ESTROUS	METAESTROUS	DIESTROUS	PROESTROUS
NUMBERS OF ANIMALS				

4. Do you find more number of animals in any particular stage of the estrous cycle? If yes, could you give possible reasons for such an observation.

....

....

....

25 STUDY OF PREPARED SLIDES OF THE DEVELOPMENTAL STAGES OF FROG

25.1 INTRODUCTION

Animal development begins usually with the fertilization of an egg by a sperm. The nuclei of the egg and sperm fuse, and the male and female parent's genes determine the characteristics of the offspring. Compared to other biological processes, embryonic development is relatively slow. New cells, tissues and organs make their appearance in the embryo over a period of hours, days or weeks.

In this laboratory exercise, we shall study the development of frog with the help of prepared slides and stained sections, from the unfertilized egg to the tadpole stage. However, before we do so, in order to make the exercise more meaningful, we will begin with a brief description of the major events in the development of frog. You may also read units 13, 14 and 15 of Block 3 of LSE-06 course.

Description of Frog Embryology

The frog is an semiaquatic animal and deposits its eggs in water. The egg is of mesolecithal type having a moderate quantity of yolk which is concentrated in the vegetal (lower) hemisphere. Fertilization occurs minutes after ovulation and is essential for further development to proceed. The developmental stages from ovulation until tadpole stage occurs in water. The ovum has polarity even before fertilization and is enclosed in three jelly layers. The egg itself has two distinct regions (1) The animal hemisphere—the darkly pigmented region, which occupies more that half of the egg and contains the nucleus and (2) the vegetal hemisphere the light coloured, yolk filled heavier region (Fig. 25.1).

Fertilized egg (zygote)— The entry of the sperm into the egg, results in the formation of zygote. The sperm can enter only at the animal pole and when it does so, usually a grey crescent forms on the side opposite the sperm entry (Fig. 25.2). On the entry of sperm other changes also occur (Refer to unit 13 of LSE-06 course). The vitelline membrane, bound tightly around the egg lifts away, allowing the zygote to rotate so that animal pole becomes uppermost if it was not so before.

Early cleavage and morula formation — Development is rapid after fertilization so that within a few hours at normal temperature the zygote cleaves or divides into many cells (blastomeres). Cleavage is holoblastic (entire egg cleaves) and unequal; that is the blastomeres are not of equal size. Those at the animal pole being smaller in size are called micromeres and those at the vegetal pole are called macromeres. Early cleavage results in a solid ball of blastomeres called morula. The total cluster of blastomers is still no larger than the original fertilized cell.

Blastula — After about the fourth or fifth cleavage, a cavity called blastocoel develops from the morula giving rise to a blastula. This fluid filled cavity is more towards the animal pole and can be only viewed in a section of the embryo. The division of the blastomeres is no longer synchronous (Fig. 25.3). The blastomeres towards the animal pole divide more rapidly than the yolk laden ones present at the vegetal pole. Thus externally the blastomeres of the animal pole cover most of the blastula.

Gastrula — Gastrula appears as a dark pigmented ball of cells with a circular yolk plug of larger vegetal cells. A gastrula is formed when the single layered blastula is transformed into a three layered structure with an (i) outer ectoderm. (2) intermediate mesoderm and (3) an internal endoderm. Gastrulation involves division and movement of cells and these activities follow a definite pattern depending on the amount of yolk (Fig. 25.4a).

Formation of gastrula begins by the pushing in or invagination of the cells at the animal pole at a position somewhat below the equator of the blastula, at the boundary of the animal and vegetal hemispheres in the area of the grey crescent. The invagination forms a crescent shaped lip and is called blastopore. The position of the blastopore marks the

future posterior end of the embryo. The future anterior end of the embryo will develop at the animal pole. The cells of the animal pole continue to divide and move around the embryo (epiboly) and then turn inward from the blastopore (invagination or involution). A new cavity the archenteron is formed which expands at the expense of the blastocoel and is connected to the blastopore. The archenteron later develops into the gastrocoel. After the completion of all the events mentioned so far, it is possible to identify the three primary layers of the gastrula in a vertical section of the embryo (Fig. 25.4b).

Neurula — Near the end of gastrulation, there is a thickening of the ectoderm along a longitudinal axis on the dorsal surface to form a noticeable flattened strip called the neural plate. The edges of this neural plate fold upward and toward each other, finally to form a closed tube called the neural tube in the midline (Fig. 25.5). The neural tube of ectodermal cells running from the anterior to the posterior end of the embryo detaches and sinks below the ectoderm (which was previously lying above it). The neural tube thus gets covered by the epidermis and in time differentiates into brain and spinal cord.

Meanwhile the notochord also develops from a row of cells (of mesodermal origin) in the mid-dorsal wall of the archenteron as a cylindrical rod and comes to lie beneath the neural tube and above the archenteron. During this time, mesodermal tissue ventrolateral to the notochord and distinct from the notochord also develops laterally. The mesoderm splits into splanchnic and somatic layers within the body cavity. The coelom lies between these two layers.

The morphogenetic movements of gastrulation and neurulationbring various groups of cells into position so that the ground plan is laid for their subsequent interaction and differentiation into the final tissues of the adult in later developmental stages. The head begins to form at the anterior end. The mouth breaks through the anterior end of the archenteron and gill slits develop in the lateral walls of the archenteron. A tail bud forms at the posterior end which develops into a tail.

The neurula thus gets transformed into a young larva or tadpole with four distinct characteristics of all chordates; a tube-within a tube body plan, dorsal nerve cord, notochord and gill slits (Fig. 25.6).

Free swimming larva — The larva or young tadpole soon becomes capable of independent existence and emerges from the jelly mass or gelatinous covering to become a free swimming organism. At this stage the herbivorous larva no longer depends entirely upon its store of yolk for nutrients. Furthermore a fold of skin called 'operculum' grows backwards and covers the internal gills.

After growing for a few months, the larva metamorphoses into an adult. This process involves marked external and internal changes (Fig. 25.7, 25.8, 25.9). The mouth, teeth and tongue change as the herbiviorous larva becomes a carnivorous frog. Circulatory modifications accompany the change from gill to lung circulation. The musculature adapts from that for swimming in a fish-like manner to locomotion using the limbs.

Objectives

After completing this laboratory exercise you should be able to:

- identify and describe the representative stages in frog development from fertilized egg upto tadpole stage as observed in microscopic preparations.
- draw and label the early and late embryonic as well as the larval stages in the prepared slides.

25.2 MATERIALS REQUIRED

prepared microscope slides of frog development.

unfertilized egg

blastula entire and its vertical section

gastrula entire and its vertical section

neurula entire and its vertical section

whole mount of tapole larva of frog

T.S. through eyes of tadpole

T.S. through the head and gills of tadpole

microscope.

25.3 PROCEDURE

Before you start studying the slides, carefully go through the description of frog embryology given in the introduction and the various figures provided throughout the laboratory exercise. This will help you to become familiar with the various developmental processes occurring in frog and to relate them with the embryological slide material you will be studying. First by examining whole mounts of embryonic stages become familiar with the general and overall changes taking place in frog development. Make drawings of these stages in your record notebook by observing them under the microscope. This study should be followed by the study of the sections of the developmental stages and you should be able relate them to the study whole mounts.

Your counselor will arrange the slides of various stages of frog development. Examine the slides carefully first under the low power and if necessary under the high power of the compound microscope and compare what you have observed with the description and figures provided in the lab exercise. After viewing one slide you may move to next until you complete viewing the entire series.

In you notebook sketch, label and write the description of all the stages of the development which you have observed.

The stages which you will be examining and for which descriptions are provided are listed below:

1. Unfertilized egg
2. Fertilized egg
3. Blastula entire and V.S. of blastula
4. Gastrula entire and V.S. of late gastrula
5. Intact neurula and V.S. of neurula
6. Tadpole larva of frog
7. T.S. of tadpole through eye region
8. T.S. of tadpole through auditory vesicles (ears)
9. T.S. of tadpole through head and gills.

A Unfertilized Egg of Frog

1. The egg is moderately telolecithal or mesolecithal
2. The egg or ovum is surrounded and covered by three distinct layers (a) the innermost vitelline membrane which is secreted by the egg itself (b) chorion, the intermediate layer secreted by follicular cells of the ovary and (c) the gelatinous, tertiary egg membrane or albumen consisting of 3-4 gelatinous rings which is secreted by the wall of the oviduct.
3. More than one half of the surface of ovum appears blackish due to the presence of the melanin pigment while the rest appears almost whitish due to the presence of yolk (Fig. 25.1).
4. The pigmented region will form the future animal hemisphere, while the non-pigmented region will form the future vegetal hemisphere.
5. The clear cytoplasm and haploid nucleus of the egg are located in the animal pole.
6. The vegetal hemisphere contains the bulk of the yolk, which provides the necessary nutrients for embryonic development.

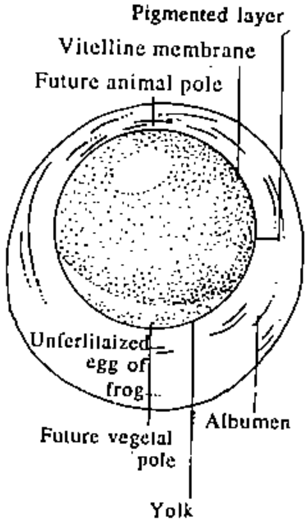


Fig. 25.1 : Unfertilized egg.

SAQ 1

Can you explain the necessity for the three jelly coats in the ovum?

....

....

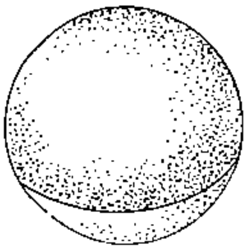


Fig. 25.2 : Fertilized egg.

B Fertilized Egg

1. The centre of the animal and vegetal hemispheres are called animal and vegetal pole respectively (Fig. 25.2).
2. The animal hemisphere contains the diploid nucleus formed by the union of sperm and egg nucleus.
3. The vitelline membrane is now called fertilization membrane. Soon after fertilization the egg secretes a protein material which absorbs water and swells up, causing the vitelline membrane to lift up from the egg.
4. A grey crescent is visible opposite the point of entry of the sperm at the margin between the animal and vegetal pole, largely in the animal pole. It is more lightly pigmented than the animal hemisphere. The grey crescent later forms the posterior and dorsal side of the embryo.

SAQ 2

With the help of labelled diagrams show the differences between the unfertilized and fertilized frog eggs.

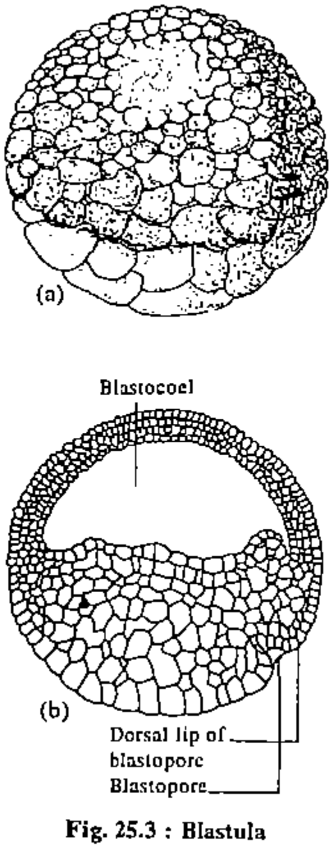


Fig. 25.3 : Blastula a) entire, b) V.S.

C Blastula entire and V.S.

1. The blastula is a ball of cells with a central cavity the **blastocoel** (Fig. 25.3).
2. The section of blastula shows that it contains an excentric blastocoel cavity surrounded by unequal sized blastomeres.
3. The smaller pigmented blastomeres are located in the animal hemisphere and are called micromeres, while the larger yolk filled blastomeres occupying the vegetal hemisphere are called megameres.
4. The micromeres at the animal hemisphere form the thin, multilayered roof over the blastocoel, while the megameres of the vegetal hemisphere form the floor of the blastocoel.

SAQ 3

Are all cells in the vegetal pole slightly larger, much larger or many times larger than those at the animal pole?

....

....

....

SAQ 4

Draw a labelled diagram of the entire blastula and its vertical section.

D Gastrula entire and V.S.

The blastula gets transformed into a gastrula, which appears externally as a ball of dark pigmented cells, with a circular, light coloured yolky plug.

1. The size of the gastrula is still as small as the zygote (Fig. 25.4a).
2. Gastrula is formed by rearrangement of cells of the blastula. Gastrulation reorganises the embryo completely and results in three germ layers (1) external ectoderm (2) The middle mesoderm and (3) innermost endoderm. The various organs of the animal are derived from these three layers. The various layers of the gastrula are well differentiated and are clearly visible in vertical section (Fig. 25.4b).
3. The ectoderm will give rise to epidermis, cutaneous glands, nervous system, eye parts and linking of mouth cavity and cloaca.
4. Endoderm will form the lining of alimentary canal, liver, pancreas, lung urinary bladder and primordial germ cells.
5. The mesoderm appears as a small area towards the posterior and will give rise to the musculature, connective tissue, vascular system, genital organs, excretory organs, skeleton and notochord.
6. Other structures seen in the section are dorsal lip of blastopore, yolk plug, ventral lip of the blastopore.
7. The notochord or chorda cells and neural plates are well differentiated and lie at the dorsal side.
8. The cavity of the gastrula called archenteron lies towards the dorsolateral side of the anterior part of the embryo, and the archeneteron will develop into gut in the future.

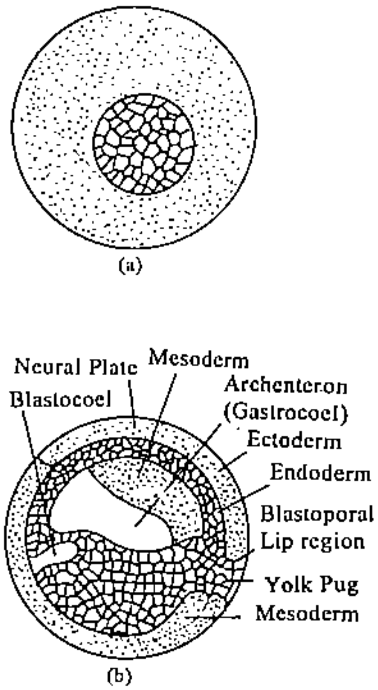


Fig. 25.4 : Gastrula
(a) entire (b) V.S.

E **Neurula**

1. The embryo is called neurula as the two neural plates of the gastrula join to form a neural tube along the longitudinal axis (Fig. 25.5).
2. Externally the neural tube in the embryo appears as a thickened ridge along the longitudinal axis.
3. In vertical section of the neurula, the neural tube which is of ectodermal origin lies above the notochord.
4. The notochord, a rod-like structure arises from the mesoderm in the middorsal region and lies below the neural tube and above the archenteron. The notochord runs along the longitudinal axis of the embryo.
5. On either side of the neural tube and notochord the extensive mesodermal tissues are seen.
6. The mesodermal tissue which flank the neural tube form the somite mesoderm.
7. The lateral mesoderm a continuation of the somite mesoderm appears split into (1) The splanchnic mesoderm which lies nearest to the gut endoderm and (2) the somatic mesoderm which lies nearest to the endoderm.
8. A new fluid filled cavity the coelom is present between the splanchnic and somatic mesoderm.

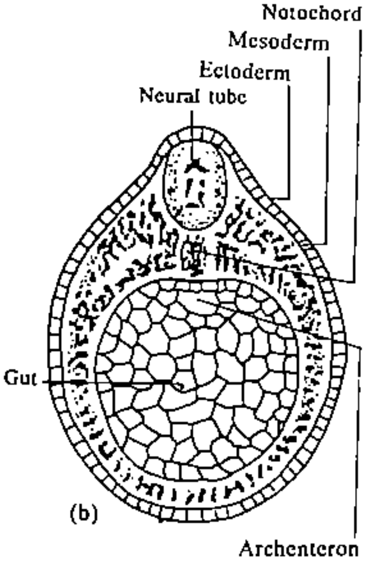


Fig. 25.5 : V.S. of Neurula

F **Tadpole Larva of Frog**

1. The egg hatches into a free living herbivorous larva (Fig. 25.6).
2. The larva measures about 5-7 mm in length.
3. The body of the larva is differentiated into body proper and tail with fin.
4. The larva contains mouth, sucker, external gills, rudiments of eye, olfactory pits, gut, anus and myotomes (muscles).
5. Mouth bears horny jaws or teeth.
6. Three pairs of external feathery gills act as functional respiratory organs.
7. Tail is long and bears the tail fin on its ventral and dorsal surface.

g) ________ is the opening in the gastrulla through which the ectodermal cells invaginate.

h) ________ is infolding of cells through the blastopore leading to differentiation of endoderm and mesoderm.

2. Ultimately what is the fate of the blastocoel?

....

....

....

3. From which germ layer does the nervous system develop?

....

....

4. Our study of the early developmental stages of frog has shown the formation of three germ layers from which the major organs develop. In the table below indicate the germ layers and their derivatives as discussed in this lab exercise.

	Germ layer	Organs developed
1.		
2.		
3		

5. How does the size of blastula compare with one cell stage? These are about 1000 cells by late blastula stage in frog development. How many division would this represent. What assumption is required for such a calculation? Are all the cells similar in the blastula?

....

....

....

....

....

6. Draw clear labelled diagram of all the stages you have observed.

26 STAINING AND MOUNTING OF BLASTODERM OF CHICK EMBRYO

26.1 INTRODUCTION

The eggs of birds and reptiles are laid on land. The egg of the hen is fertilised before it is laid and the embryonic development occurs outside the body of the mother. The hen's egg is covered by a shell and has no relationship with the external environment except for exchange of gases. Hen's egg is rich in nutrients in the form yolk to be utilised for the development of the embryo. The embryo is in the form of a flat disc, the blastoderm and overlies the yolk (Fig. 26.1). The yolk is surrounded by a thin transparent vitelline membrane. In this exercise you will isolate an early stage of developing embryo from the egg, stain it and make observations on development of various organs and organ systems.

Objectives

After you have completed this laboratory exercise you should be able to:

- stain and mount the blastoderm of chick embryo
- identify, draw and label the various structures of a 33 hour chick embryo

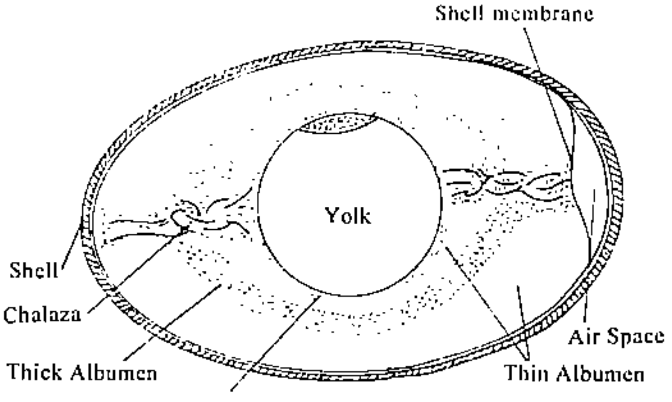


Fig. 26.1 : Hen's egg showing the location of blastoderm.

26.2 MATERIALS REQUIRED

- fertilised eggs incubated for a period of 30 to 38 hrs. at 38°C
- 0.9% saline solution
- chick ringer solution
- finger bowl of 200 ml. capacity
- watch glass
- dissection microscope (a binocular stereoscopic dissection microscope is preferred)
- lamp
- filter paper
- a pair of sharp, pointed scissors
- strainer spoon
- fine forceps
- pasteur pipettes
- neutral Red or Nile blue (0.1% solution)

26.3 PROCEDURE

1. Crack a small area of the egg shell at the broad end with the blunt end of the forceps (Fig. 26.2a). Remove the pieces of the shell carefully so that you can see the opaque shell membrane (Fig. 26.2b). There are two shell membranes which are closely attached to each other except at the blunt end of the egg where they are separated from each other enclosing a small 'air-trapped' space. Because of the airspace at the blunt end, it is much more easier to open the egg from the broad end without damaging the embryo.

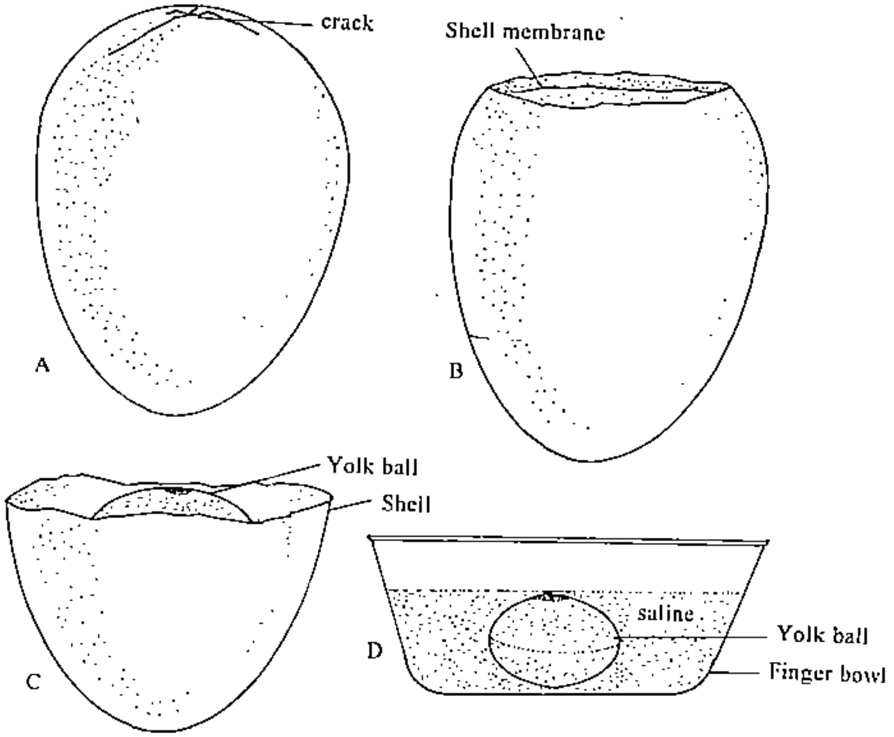


Fig. 26.2 : Procedure for the removal of the embryo from the egg.

2. Remove the shell membranes with forceps. You will observe the yellow yolk with the blastoderm floating in the thin albumen.
3. With the help of a pasteur pipette remove as much of the albumen as possible.
4. Broaden the shell opening (Fig. 26.2c) so that you can easily pour the entire contents of the egg in the finger bowl containing Ringer solution (Fig. 26.2d).
5. Place a drop of 0.1% neutral red or nile blue solution on the blastoderm. After 5 minutes wash off the excess stain by carefully squirting Ringer solution with the help of a pasteur pipette.
6. Observe the structure of the blastoderm under a dissection microscope, preferably under a binocular stereoscopic dissection microscope.
7. To isolate the blastoderm from the rest of the yolk, follow the following procedure.
   a) Prepare a petri dish by placing a watch glass with the convex side up in the middle and pour warm (37°C) Chick Ringer solution until the fluid just covers the top of the watch glass.
   b) Lift the vitelline membrane (the membrane covering the yolk) with your forceps and gently cut it in a circle of about 3 mm beyond the edge of the blastoderm. This will leave the blastoderm intact and will enable you to handle it easily.
   c) Hold the cut edge of the membrane with your forceps and carefully float it from the surface of the yolk into the strainer spoon. Holding onto the membrane lift the spoon out of saline and transfer the membrane and blastoderm to the prepared petridish.
   d) Carefully and gently flush some Ringer solution onto the blastoderm to remove excess yolk by grasping the cut edges with the forceps. Place the

petridish under the dissection microscope. Slide the blastoderm up onto the top of watch glass which is already covered by saline. If the blastoderm tends to slide off the watch glass, it can be anchored with a small piece of filter paper placed on the top of one edge.

26.4 OBSERVATIONS

1. Examine the blastoderm under the microscope. For the best view of the beating heart, place the embryo with its ventral side up. To turn your embryo over, gently slide the blastoderm off the watch glass, grasp one edge with your forceps and with a quick flip turn it over. Then slide it back up on to the watch glass.
2. The embryo is surrounded by a relatively clear area called area pellucida which itself is surrounded by area opaca.
3. You will observe the vitelline circulation. Trace the blood vessel carrying nutrients from the yolk to the embryo and then back to the capillary network overlying the yolk.
4. Study the embryo and identify the following structures with the help of Fig. 26.3.

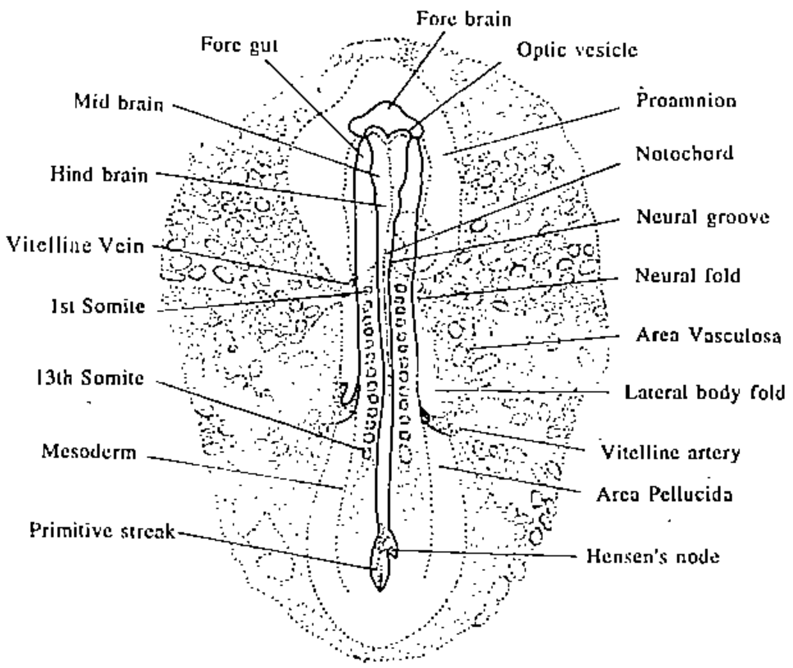


Fig. 26.3 : A 33 hour chick embryo.

a) Observe that the head region of the embryo is divided into three segments an anterior forebrain with optic vesicle, a median enlargement the midbrain and finally the hind brain which continues as neural tube throughout the length of the embryo.

b) Observe that the neural folds have not fused posteriorly. The remnants of primitive streak can be seen posterior to the open neural folds.

c) Observe notochord as a thick streak in the middle portion of the embryo, lying to the neural tube and entering forward to the forebrain as a solid rod.

d) Beneath the brain and anterior part of neural tube you will observe the tubular heart which has not yet completed its morphogenesis.

e) Observe the bilateral pair of large omphalomesentenic veins entering into the heart at the posterior region. These veins bring blood to the heart from the vitelline vessels developing in the area of the yolk.

f) Observe the somites in the middle region of the body. They are derived from mesoderm. They will give rise to the various types of muscles. Count the number of somites that are developed at the age of the embryo.

g) Also observe the outline of the gut which is clearly visible on either side of the midbrain area.

Draw and label the diagram of the embryo you have mounted.

Note: If you do not observe a blastoderm when you open the egg and only a white spot in the egg yolk, then it means that the embryo has failed to develop. Discard this egg and use another incubated egg. However check with your counsellor before you discard the egg.

27 STUDIES ON CHICK EMBRYO USING PREPARED SLIDES

27.1 INTRODUCTION

In exercise 26 we have described the procedure for making the whole mounts of early blastoderm of chick employs upto 48 hrs of age. Beyond 48 hrs the thickness of embryo increases and it may not be easy for you to prepare the whole mounts. However prepared permanent slides of the whole mounts and sections of embryos can be used for the study of chick embryology. In this exercise you will observe under the microscope the developmental stages of chick embryo starting from the differentiation of blastodisc stage and follow the development of organs and organ systems. Make careful observations of the slides showing different stages of development of chick embryos. Match your observations with a descriptions we have provided here for each of the stages and draw neat and labelled diagrams in your record note book. The study of embryology of chick would enable you to understand the differentiation of tissues, organs and organ systems from early embryonic cells. Again such a study is possible only upto a certain stage of development, say 96 to 120 hours.

Objectives

After completing this exercise you will be able to:

- identify the various stages in development of chick embryos,
- illustrate through the diagrams the various stages of the developing embryo,
- trace the progressive development of organ and organ system of the chick embryo.

27.2 MATERIALS REQUIRED

dissecting microscope

compound microscope

prepared sides of whole mounts and sections of different stages of chick embroys

27.3 OBSERVATIONS

A CHICK EMBRYO—4 HOURS (WHOLE MOUNT)

In this slide you will observe the differentiation of the blastodisc into area pellucida and area opaca. You may also note that one quadrant of **area pellucida** is thickened. This marks the future caudal end of embryo. (Fig. 27.1). After 7 to 8 hours, the thickening becomes more elongated and represents the start of **primitive streak**. Draw the diagram and label it.

B CHICK EMBRYO—16 HOURS (W.M.)

In a 16 hour embryo (Fig. 27.2) you will observe the distinct primitive streak. The embryo at this stages is characterized as being in **primitive streak stage**. In a fixed and stained slide the embryo is composed of central furrow, called as **primitive groove** lined by thickened **primitive ridges**. At the cephalic end (head end) of the embryo, closely packed cells form thickened area, called as **Hensen's node**. Part of area pellucida adjacent to the primitive streak shows increased thickness and forms embryonic area or embryonic shield. Note that area pellucida assumes elliptical shape. Elongated primitive streak represents long axis of future embryonic body. The end diametrically opposite to the Hensen's node is the caudal end of the embryo.

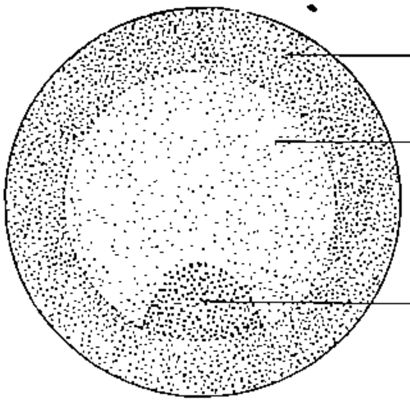


Fig. 27.1 : Chick embryo, 4 hours after incubation (W.M.).

Fig. 27.2 : Whole mount of chick embryo, 16 hours after incubation.

C L.S. OF 16 HOURS EMBRYO

Longitudinal section through 16 hours embryo represents the stage shortly after primitive streak formation and it also marks the beginning of morphogenetic movement of cells to form notochord. The section shows ectoderm, Hensen's node, primitive pit, primitive groove, notochord and primitive gut. The mesoderm extends on either side between ectoderm and endoderm (Fig. 27.3).

Morphogenesis is a Greek word meaning formation of structure or form, Morphos : structure or form, genesis : origin.

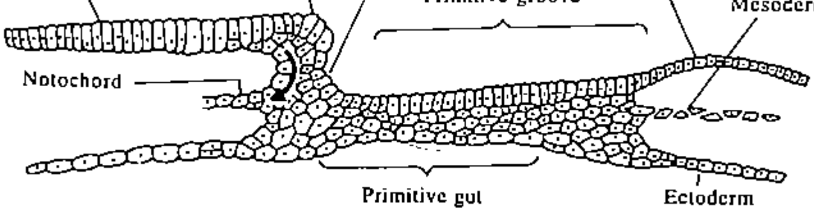


Fig. 27.3 : Chick-embryo, L.S. of 16 hours old embryo.

D CHICK EMBRYO—18 HOURS (W.M)

In the 18 hour embryo you will observe that the notochord has become markedly elongated to form a conspicuous structure. Notochord extends towards the cephalic region in the middle from Hensen's node. Embryo of this period of incubation is spoken of being in the **head process stage. Neural plate** develops around the notochord. The dark peripheral area opaca, inner translucent **area pellucida** and central **embryonal area** are clearly seen. In the anterior region you will observe a small and more translucent portion of area pellucida, known as **proamnion.** Primitive streak lies in the middle of the area pellucida in the posterior half. You will observe that neural plate and primitive streak are separated by Hensen's node.

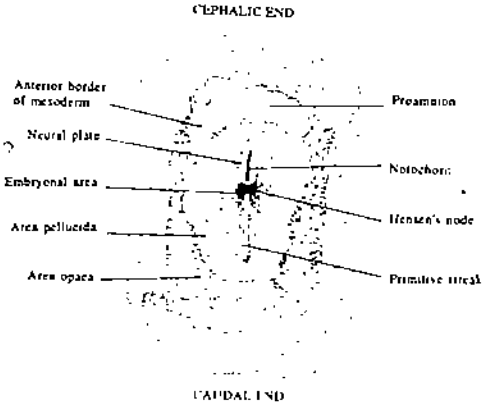


Fig. 27.4 : Whole mount of chick embryo, 18 hours after incubation.

E L.S. OF 18 HOURS EMBRYO

Longitudinal section of 18 hours incubated embryo shows advanced inner structure of the germ layers. Ectoderm has vertical cells while the cells of mesoderm are represented by heavy angular dots. Endoderm is represented by stippling backed by a single line. You will observe in the slide (Fig. 27.5 A) yolk, ectoderm of neural plate, notochord, mesoderm, ectoderm and endoderm of blastoderm. You may also observe (Fig. 27.5 B) yolk, endoderm, primitive pit, primitive ridge, mesoderm and primitive gut.

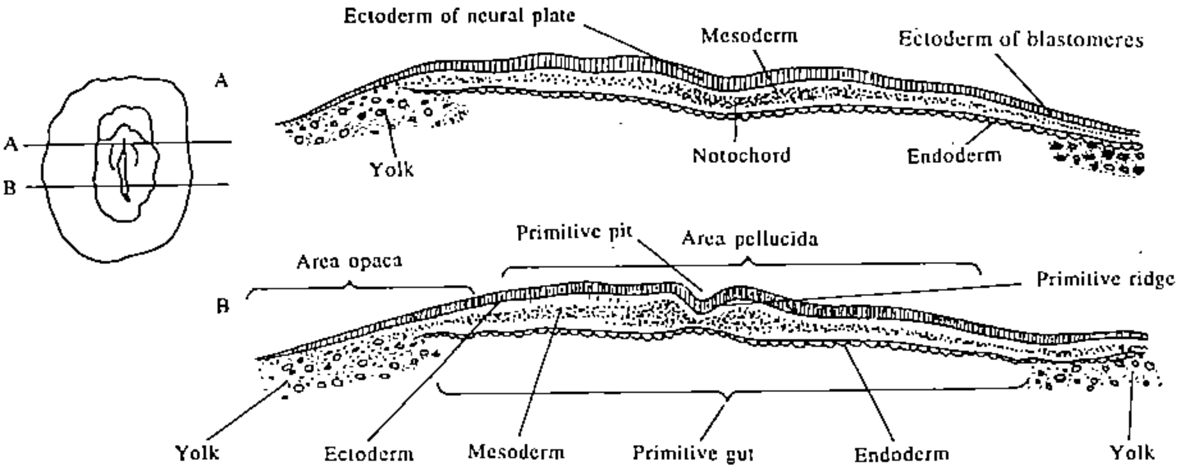


Fig. 27.5 : L.S. of chick embryo 18 hours after incubation.

F CHICK EMBRYO 24 HOURS (W.M.)

In a 24 hour old embryo the cephalic region is seen prominent because of rapid growth in this region. It extends anteriorly overhanging the proamnion region. The cephalic region which projects free from the blastoderm may now properly be termed as the head of embryo. The space formed between the head and the blastoderm is called the sub-cephalic pocket. In the mid-line the notochord is seen. It is larger caudally near its point of origin than it is cephalically. The neural plate is much more clearly marked. The neural folds appear as a pair of dark bands. At its cephalic end, the neural groove is

have undercut the embryo so that it remains attached to the yolk only by a slender stalk. The yold stalk soon becomes elongated, allowing the embryo to become first straight in the mid-dorsal region and then dorsally.

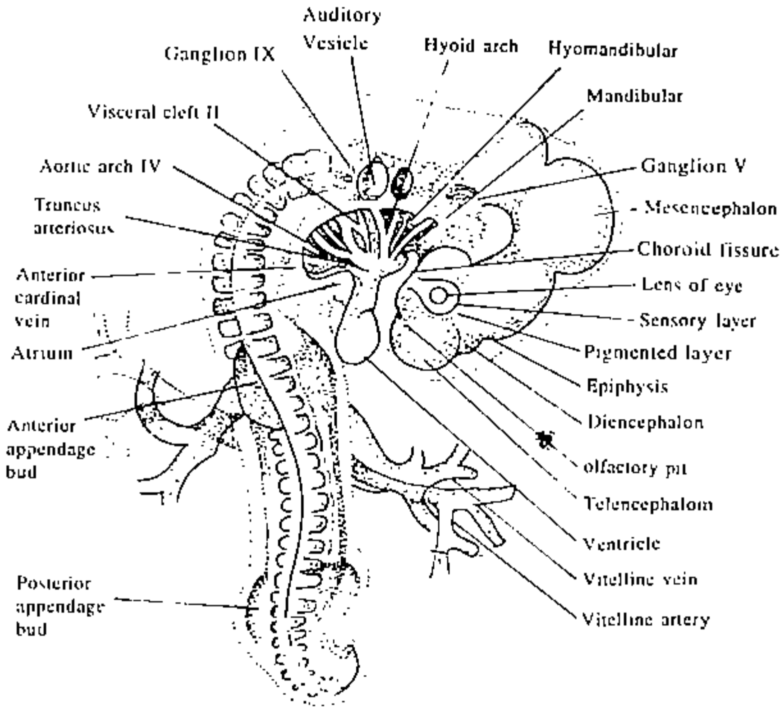


Fig. 27.10 : Chick embryo, 72 hours (W.M.).

The progressive increase in the cranial, cervical, dorsal and caudal flexures results in the bending of the embryo on itself so that its originally straight long axis becomes C shaped and its head and tail lie close together. Optic cup shows the more developed lens. **Endolymphatic** duct arises from the auditory vesicle. Visceral arches have become very much thickened. Appendage buds increase rapidly in size and become elongated. The number of somitees increases to 41 pairs. Allantois has also appeared. Omphalomesentric artery and omphalomesentric vein are also developed.

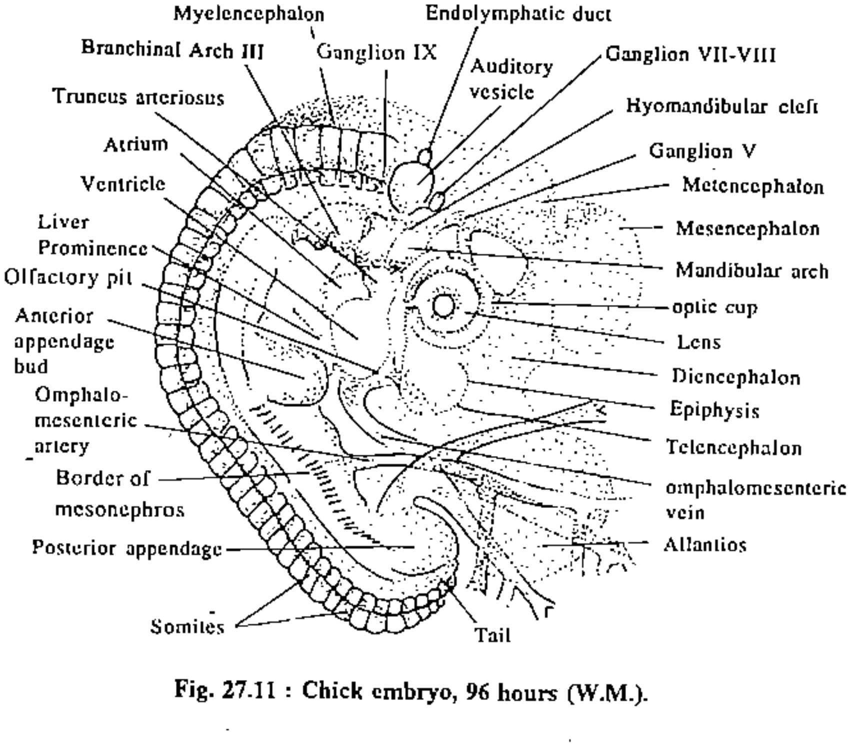


Fig. 27.11 : Chick embryo, 96 hours (W.M.).

AN EXERCISE TO DEMONS THE ROLE OF NATURAL SELECTION IN EVOLVING ADAPTATIONS

28.1 INTRODUCTION

unit 11 and 12 of LSE-07 Course (Taxonomy and Evolution) you have learnt about e role of natural selection in the evolutionary process. You have studied that in a opulation natural selection promotes those alleles that confer an adaptive advantage on e individuals who possess such alleles. We further discussed in unit 11 and 12 of the SE-07 course, the examples of *Biston betularia* and sickle-cell anemia to illustrate the ositive role played by natural selection in evolving adaptations. You may recall that in ngland the melanic (dark coloured) forms of *Biston betularia* resting on soot covered rees increased in numbers in post-industrial revolution period while the number of non-melanics was higher in pre-industrial revolution times when the trees were lichen covered. The reason is that the melanics easily escaped predation in an environment to which they were adapted best. Natural selection promotes in a population those characters that are better adapted to the environment. African populations maintain the sickle cell allele in heterozygous condition (Hb^A/Hb^A — normal homozygous genotype, Hb^A/Hb^S-heterozygous genotype and Hb^S/Hb^S sickle cell genotype). The heterozygotes do not contract either malarial disease or sickle cell anemia. They are better adapted to live in an environment in which both the killer diseases are prevalent. In this simple exercise you will learn the probable role of selection process in evolving meaningful adaptations in a population.

Objectives

This exercise will enable you to:

- make use of simple devices to illustrate the concept of natural selection
- discuss that evolution of adaptations is a non-random process
- relate the illustration presented here to real-life situations.

28.2 MATERIALS REQUIRED

1. white card-board squares of side 2 cm - 260 pieces.
2. plastic bowls-2.

28.3 PROCEDURE

You require 260 white card-board squares of 2 cm side, 10 for each of the 26 alphabets. This means you have with you 10 As, 10Bs, 10Cs and so on upto 10Zs. You have 260 letters with you.

Situation I

1. Leave all the 260 cards in a plastic bowl; mix well. Your task would be to pick out any three cards at a time and get a meaningful word, let us say CAT.
2. If you do not get the word CAT, discard the three cards into another bowl. You continue to do this exercise until you get the required word. You will find that the three letters C, A and T shortly disappear without the word CAT being formed. Instead, you may form all types of meaningless combinations such as ALC, TXP, BYA, so on and so forth. After 86 draws, the bowl is almost empty with only two cards lying there and the word CAT not yet formed. Barring a miracle, you may not get the requisite word even after hundreds of such a draw.

Green	26
Red	24
Blue	26
Black	24

Record these numbers in your record note book.

4. Now let us say that natural selection is operating. Assume that the selection favours green beads and opposes black beads in the population. To represent this concept, add 10 more green beads to the 100 you have picked out and remove 10 black beads. The new frequencies will be as follows:

Green	36
Red	24
Blue	26
Black	14
	100

Record these numbers in your note book.

5. With these frequencies let us make a new population of 1000 individuals. This means you will mix up 360 green beads, 240 red ones, 260 blue ones and 140 black ones, to make a total of 1000. These 1000 individuals belong to the 2nd generation. From this population of 1000 beads, pick out a 100 beads.

Suppose that the new sample 100 individuals has the following distribution:

Green	34
Red	27
Blue	23
Black	16

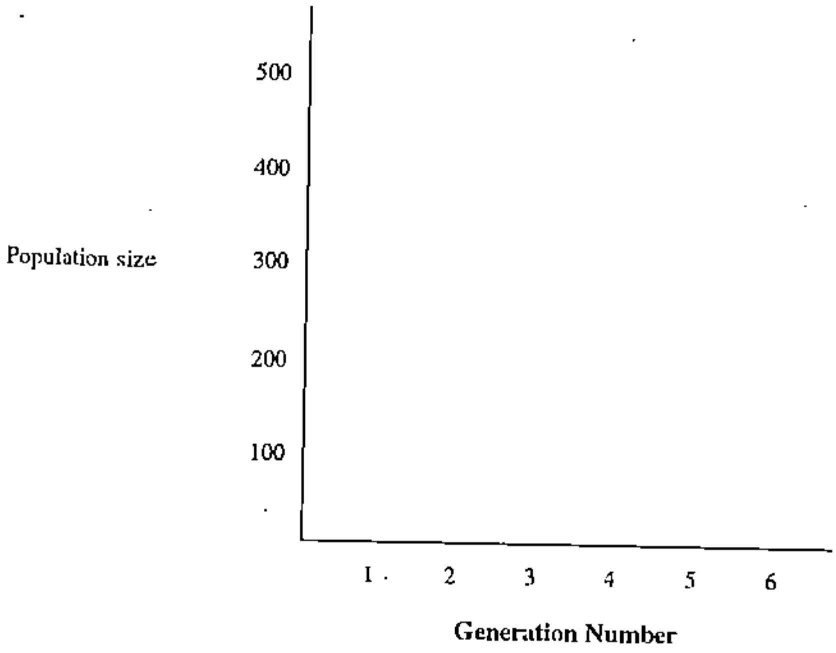
Record the numbers in your observation note book. Because of the selection process, the frequencies of beads have changed. There is an increase in the numbers of favoured beads (characters or alleles) and a decrease in the number of not so favoured ones. Let the selection continue to act. Add 10 more of green beads and remove ten of the black beads. The new population that constitutes the third generation will be as follows:

Green	44
Red	27
Blue	23
Black	6
	100

Record these results in your note book. You may continue to do the experiment for a number of generations. But confine yourself to six or seven generations and record the results in the following table.

Generation	No of greens	No. of reds	No. of blues	No. of blacks
I				
II				
III				
IV				
V				
VI				

Plot the results in a graphical form



29.4 INFERENCE

From Unit 11 of the LSE-07 course, you may recall that one definition of evolution, the definition proposed by population geneticists is that evolution is a systematic change in gene frequencies. You may say that such changes in gene frequencies are a measure of evolution. You may also observe that after a few generations the frequencies of various traits (colours in this exercise) more or less remain the same. The green colour after a few generations would end up with having a frequency ranging from 40 to 60%. The red and blue with twenties or less; and the black registering less than 5%. At the same time the black may not be eliminated totally from the population. In other words, at the end of the six or so generations, all the traits (colours), the 'fittest' green, the 'fitter' red and blue and the 'least fit' black continue to exist in the population. Natural selection may not completely fix (100% presence) or eliminate (0%) any allele in the population. When environmental condition are favourable natural selection promotes the frequency of favoured alleles but does not eliminate totally the least adapted ones from the population. This is how the role of Darwinian selection is perceived in recent times.

30 AN EXERCISE TO ILLUSTRATE THE CONCEPT OF GENETIC DRIFT

30.1 INTRODUCTION

In randomly mating large populations, according to Hardy-Weiberg principle (refer to unit 20 of LSE-03 course—Behaviour of genes in populations), the frequency of any given pair of alleles tend to remain constant in the absence of selection and mutations. If selection and mutations do occur then the frequencies do change and such changes are usually small and slow. In unit 13 of the LSE-07 course, we have discussed the behaviour of genes in **small populations**, and the concept of **genetic drift** was illustrated with a small population of mice living as four or five extended families in the rice barn of a farmer. (You may read this section of unit 13 before you commence doing this exercise). In small populations due to sampling error there will be random changes in the frequencies of genes in the population. Such changes or drift in gene frequencies may eliminate well adapted traits from the population and fix the less adapted ones. We mentioned in the previous exercise that under the influence of natural selection neither the fixation (100%) nor elimination (0%) of a trait occurs. Under the influence of the genetic drift, a trait may become fixed (100%) or even eliminated (0%) from the population. In this exercise we shall illustrate the concept of genetic drift with a simple exercise.

Objectives

At the end of this exercise you should be able to:

- distinguish the specific role of natural selection and genetic drift in the evolutionary process

30.2 MATERIALS REQUIRED

plastic beads (big sized ones) of green, red, blue and black colours—500 each.

two plastic bowls.

30.3 PROCEDURE

As in the previous exercise, let us assume the green colour is favoured by selection and black colour is opposed by it.

1. From a population of 2000 beads (500 of each colour) kept well mixed in a plastic bowl, just pick out 10 beads with your finger tips. This should be done at random without looking into the bowl. Let us say that the 10 beads belong to the four colours in the following way:

Green	4
Red	1
Blue	3
Black	2

2. Record these results in your note book. Now, with the above frequencies make a population of 100 beads.

The distribution will be

Green	40
Red	10
Blue	30
Black	20
	100

Out of these 100 beads, once again pick up ten beads with your finger tips. Suppose you get the following.

Green	0
Red	2
Blue	3
Black	5
	10

ecord your results.

. Now there are just there colours left. Once again make a total of 100 beads based on new frequencies. This would mean no greens, 20 reds, 30 blues and 50 blacks to make a hundred. Out of these hundred pick up 10 beads. Suppose, you get the following distribution.

Red	0
Blue	4
Black	6

.ecord Your results.

. Now with the new frequencies, make up a population with 40 blues and 60 blacks. Pick out ten beads out of these hundred and you may get the following figures

Blue	3
Black	7

:ecord your results.

. Repeat the experiment after they were made upto 100 beads with 30 blues and 70 blacks. Supposing we get the following:

Blue	0
Black	10

:ecord your results.

. Put your results on a graph sheet

30.4 INFERENCE

You may observe here that the green colour favoured by the selection process is eliminated from the population by the third generation. On the contrary the black colour which is normally opposed by the selection gets fixed in the population by about sixth generation.

SAQ

1. Why does this happen?

....

....

....

2. Do you think that the effects of genetic drift are quite opposite to the ones produced by natural selection? Why?

....

....

....

....

....

3. Can genetic drifit be a significant factor in the evolutionary process?

....

....

....

1 PROJECT WORK ON HERBARIUM

l.1 INTRODUCTION

herbarium is a collection of pressed and dried plants arranged according to some valid stem of classification and available for reference. All research and educational stitutions related to the study of plants, besides collection of local specimens have illions of gradually accumulated specimens which document the flora of one or more ntinents. The herbarium—a repository for plant collections is a research, training and rvice institution that functions as a reference centre, documentation facility, and data ore house. Collections consist of specimens that are samples of populations and taxa om nature, experimental garden, or laboratory.

bjectives

he objective of this project are

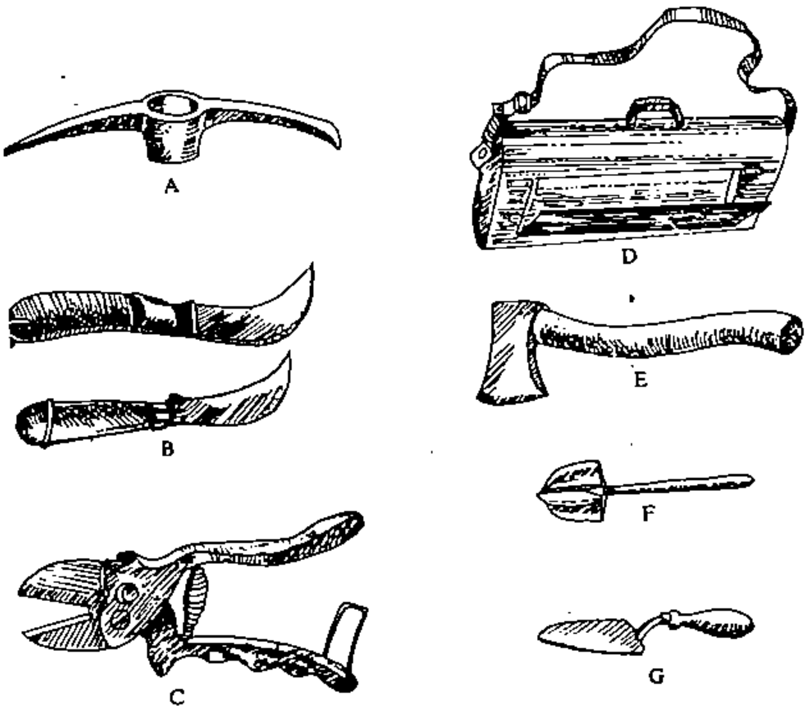
to collect specimens for herbaria

to learn to preserve specimens for herbaria

identify diverse forms of plants.

31.2 EQUIPMENT FOR COLLECTION

3elow mentioned equipment are necessary for collection Fig. 31.1.



ig. 31.1 : Equipments used in collection. A, Collecting pick; B, Knives; C, Secateur; D, Vasculum; E, Hatchet; F, Spade; G, Trowel..

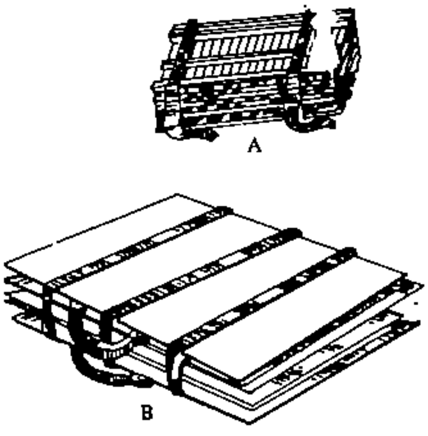


Fig. 31.2 : Plant Press. A. Perforated plant press, B. Wire netted plant press.

A collection pick is required for digging up roots and rhizomes (underground parts) of herbaceous plants so that the collected specimen is complete.

2. A strong knife is required for cutting branches and other parts.
3. A pair of pruning shears or secateur is needed for cutting woody and hard materia
4. A pair of forceps for opening the flower bud to study floral whorls (sepals, petals, stamens and carpels).
5. A vasculum for accommodating collected specimens to be studied and pressed as soon as opportunity permits.
6. A plant press together with blotters or news print for pressing and keeping the collected specimens.
7. A field book for noting down the details of collected plants.
8. Thin tin or aluminium pieces of size 2 × 10 Cms. with a hole at one end. Number each piece with a coloured wax pencil and tie to specimen. This number should correspond with the number of the page of field book on which you will note dow the details of plant.
9. Polythene bags are needed for keeping fresh plant specimens. after storing plants ir these bags, close the mouth of bags to avoid wilting of specimens.
10. Plant press is needed to hold plant material under a constant and firm pressure

Preparation for field trip

Before you plan for a field trip:

1. Obtain necessary permission from the authorities concerned to visit a forest, a national park or a wild life sanctuary.
2. Ask for forest guide or any other official assistance.
3. Always keep a copy of all essential documents in your camp.
4. Make proper arrangements for your stay, food, clothing and wear field shoes.

31.3 PROCEDURE

Our motherland is rich in flora. Look for plants in rockey crevices, sand dunes, marshy regions, mountains, calcareous regions, and also on dead and fallen trunks. Observe the nature of the plant, its association with other plants and substrata, collect complete and perfect plants with flowers and fruits.

In the following sub sections we will give you the instructions for:

1. Collection for specimens.
2. Pressing of plant.

31.3.1 Collection of Specimens

Collect fresh plants for processing into herbarium. At least five specimens of each should be collected out of which you can present the best 20 plants at the completion o project. Specimens collected should be in flowering and fruiting stages.

Collect herbs along with their underground parts and only twigs of shrubs and trees, discard specimens without flowers and fruit. Press individual plant specimens as soon as you collect it from the site. However, you can keep them in vasculum for about twelve hours and later on press them as soon as you find time to do so.

31.3.2 Pressing of Plant

Now press the plant specimens either by using a plant press, that you have to purchase from a biological supply house or you construct it out of plywood sheets cut into 12/10' pieces to be used for either end of the press. Use newspaper for pressing the specimens. While pressing the plant specimens follow below mentioned steps:

1. Spread single specimen in a folded newspaper.
2. Cut large foliaged specimen into two or more pieces and arrange each piece into two or more folded pressing papers.
3. Plant specimens longer than the herbarium sheet should be folded in N, U or V shape and then pressed.
4. Close the press with ropes or straps to prevent the wrinkling of the specimens.

5. Now keep the press for drying.
6. Arrange a few leaves with their lower surface facing upwards.
7. Press a lfew flowers with the specimens, split open some of the flowers to expose their essential organs and the nature of the thalamus.
8. While collecting specimens note down the necessary data on field book like?
    1. Flora of : ....
    2. Specimen No. : ....
    3. Date of collection : ....
    4. Local name : ....
    5. Family : ....
    6. Locality : ....
    7. Habit : ....
    8. Habitat : ....
    9. Flower colour : ....
    10. Smell : ....
    11. Pollination : ....
        Mechanism : ....
    12. Latex : ....
        Present/Absent:
    13. Collector : ....
9. Prepare herbarium labels and record:
    1. Collection No. : ....
    2. Locality : ....
    3. Habitat : ....
    4. Date of collection : ....
    5. Name of collector : ....
    6. Botanical name : ....
        A. Family : ....
        B. Genus : ....
        C. Species : ....

31.3.3 Mounting of Specimens

Mount dry specimens on herbarium sheets. Purchase good quality herbarium sheets from the market also you can use thick drawing sheets as herbarium sheets. Apply paste or glue to the lower surface of specimen with the brush and place it properly on a mounting sheet. You can also use adhesive-coated cellophane tapes for affixing specimens to mounting sheets, but it is not of permanent nature. The best way is to apply plastic paste to specimens with the help of slim-nosed squeeze bottle. Fasten fruits and flowers with transparent linen tape. If you have not been able to identity some specimens keep them separately and try for identification by making use of keys. In the following sub section we will write more above the "Keys to identification".

After mounting the specimen, paste a label (already prepared) at its lower right hand corner. Also you can get the label printed on herbarium sheet.

You are advised to type the data on the label. Entries on the label should be made in legible hand using water proof black ink.

31.3.4 Keys to Identification

After collection of specimens of a particular area, next important job is to identify them.

For identification of specimens you should prepare an artificial key. We have already discussed "Keys to identification" in Unit 6, Block 2, LSE-07 (Course on Taxonomy & Evolution).

Key is a device to identify specimens quickly and easily hence:

1. Key should be as simple as possible so that you can identify plants even in the field.
2. Key should be short and limited to a pair of contradictary propositions.
3. Key should be dichotomous one and each statement of couplet, known as lead should be either numbered 1, 2, 3 etc. or use lettered leads in place of numbered leads.

We have developed "Key to identification" of four generas of family Liliaceae namely Asparagus, Asphodelus, Aloe and Gloriosa. This will serve as a guide and you can easily prepare keys to identification to generas of various families collected by you.

1. Flowers minute and white:

1. Cladodoes present; leaves absent; stem spiny .... Asparagus.
2. Cladodoes absent; leaves long, terete and hollow; stem not spiny .... Asphodelus.

2. Flowers neither minute nor white:

1. Leaves succulent; margins thorny; tip not tendrillar .... Aloe
2. Leaves not succulent; margins entire; tip coiled in tendril .... Gloriosa.

31.4 PRECAUTIONS

1. While examining the herbarium specimen carefully shift the herbarium sheets.
2. Lift herbarium sheets with the hands so that it does not bend.
3. Do not turn over the herbarium sheets like the pages of a book.
4. Do not keep heavy objects on herbarium sheets.
5. Store herbarium sheets in wooden or steel cabinets and use repellents to keep them safe from insects. Fig. 31.3.

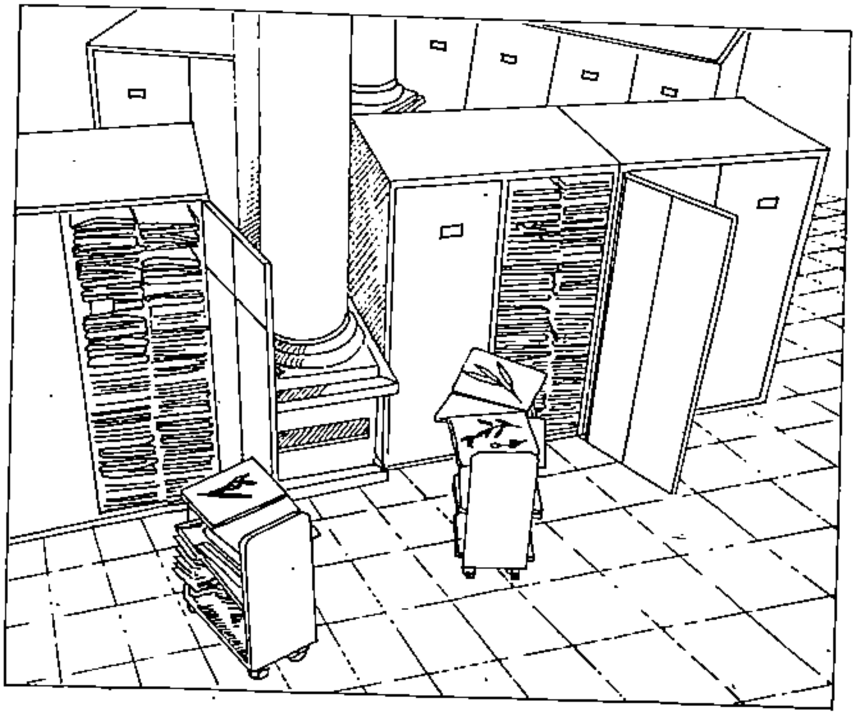


Fig. 31.3 : A herbarium in use.

2 COLLECTION, IDENTIFICATION AND PRESERVATION OF INSECTS

2.1 INTRODUCTION

his project work is related to taxonomy course of Life Sciences (LSE-07). Taxonomy als with the collection, classification, identification and proper preservation of dividual organisms. In this project work you will do the collection and identification insects at the college campus of the study centre where the laboratory course is ganised. Insects constitute approximately 90% of the total number of organisms found the planet and occupy almost each and every possible niche. Most of the insects are rmless but form an important link in the food chain. This project work would enable u to do:

collection

identification

preservation of insects.

efore you commence your work, you may read the first two Blocks of Taxonomy and volution Course (LSE-07) for an understanding of the need to classify the organisms d name them properly.

2.2 MATERIALS REQUIRED

sect Net

pirator

yl acetate

lling bottle

sect box

sect pins

reading board

p block

phthalene powder

3.3 PROCEDURE

is suggested that this project work can be undertaken in groups, each group consisting not more than five students.

Insect Net

sect nets may be available with the counsellor in the laboratory of your study centre. herwise you can assemble one as described below (Fig. 32.1). Obtain the following ms from the market.

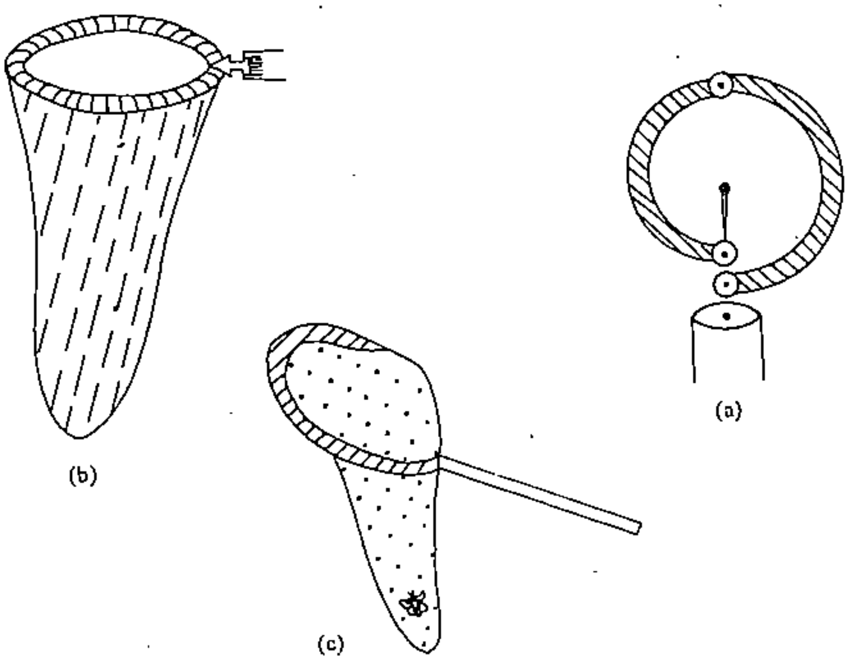


Fig. 32.1 : Insect net (a) Bending of the iron wire into a ring, (b) Stitching of the muslin cloth into a bag, (c) Collecting a small insect by twisting the handle & forming a fold in the bag.

(i) Iron wire (3 mm dia) — 42 to 48 inches long.

(ii) Muslin or fine nylon cloth — 1 meter long.

(iii) Light wood or bamboo— $^3/_4$ meter long for use as a handle for the net.

(iv) Canvas or linen cloth — $^1/_4$ meter.

(v) A 18" long binding wire.

1. Bend the iron-wire into a ring of 12 to 15 inches diameter (Fig. 32.1a)
2. Straighten the ends of the wire so that it could fit into the grooves of the handle.
3. Bend the tips of the straightened ends so that they fit into the holes of the handle.
4. Form a hem of about 3" in the canvas or linen so that the iron-ring would pass through it.
5. Now stitch the muslin or nylon cloth in the form of a bag (the bag will take the shape of an inverted cone as shown in the Fig. 32.1b) to the canvas or linen.
6. Now fix the bent tips of the iron wire to the handle and tie it firmly with the binding wire.

Keep the following points in mind while preparing the net.

(i) A detachable ring is quite useful as the bag then can be easily replaced when it is torn, wet, dirty or to be changed for one of another material.

(ii) The meshes of the cloth should be as large as possible — but small enough to hold insects to be captured.

(iii) The bag should be about two to two and a half times as deep as the diameter of the ring or slightly shorter than the arm.

(iv) The net is made in such a way that it should be as light as possible having the least possible air resistance but reasonably strong and durable.

The net can be used to collect small as well as large insects. In case the captured specimen is large twist the handle quickly, lapping the bag over the rim and you could observe the specimen enclosed in the bottom of the bag (Fig. 32.1c). Grasp the region of the bag enclosing the specimen with one hand and with the other hand insert the open end of the killing bottle to push it into the net upwards till the specimen is

enclosed by it. Withdraw the bottle from the net and close with the lid. Small insects can be easily removed from the net either using a killing bottle or an aspirator. While collecting active or stinging specimens like bees and wasps, insert the fold of the net containing the insect into the killing bottle until the specimen is stupefied.

B Aspirator

An aspirator is a simple suction device used for collection of small insects. The most commonly used aspirator is described here. (Fig. 32.2).

Materials required

A vial of glass or transparent plastic

Two holed rubber stoppers

Two glass tubes

A rubber tubing

A small piece of muslin cloth.

1. An aspirator is a vial of glass or preferably transparent plastic. To the open end of the vial fix a tightly fitting rubber stopper to avoid crushing of small insects which otherwise may crawl between the stopper and the wall of the vial.

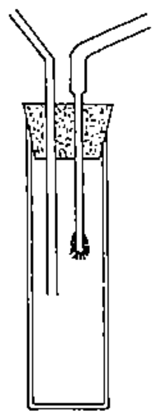


Fig. 32. 2 : An aspirator

2. Insert the two glass tubes through the stopper.
3. Attach a rubber tube to the outer end of the suction tube for sucking through the mouth. Cover the other end of this tube which remains in the vial with a piece of muslin cloth to prevent insects from entering the tube.

For collecting small insects place the outer end of the intake tube near an insect and suck through the rubber tube. This suction creates a partial vacuum in the vial thereby drawing the insect through the intake tube. When the aspirator is not in use plug the outer end of the intake tube with cotton to avoid the escaping of insects caught in the vial. You may empty the contents of the vial into a killing bottle to silence them.

C Killing Bottle

The killing bottles are prepared with killing agents which kill the insects immediately without affecting their colours or unduly hardening them. Although potassium cyanide is a widely used killing agent, because of its extremely poisonous nature, we describe here a killing bottle with ethyl acetate as a killing agent. (Fig. 32.3)

Materials required

An empty glass bottle with lid, preferably a horlicks bottle.

cotton

blotting paper

ethyl acetate

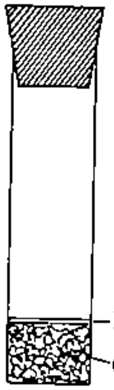


Fig. 32.3 : Ethyl acetate killing bottle.

Ethyl acetate is an effective killing agent for insects. You may use an empty horlicks bottle to prepare a ethyl acetate killing bottle. Place a wad of cotton soaked in ethyl acetate at the bottom and cover it with a piece of blotting paper for preventing the direct contact of the specimens with the chemical. Pour a few more drops of the killing agent over the blotting paper to make the bottle more effective. At the end of ech day take out the insects collected in the bottle for preservation. If you are not taking them out at the end of the day, then place absorbent cotton soaked in a few drops of the killing agent over the collected material and close the bottle tightly. The specimens remain in a relaxed condition for some days if kept in this way. The bottle may be charged with a few drops of ethyl acetate on each day of collection. Label your killing bottle as POISON and keep it away from the reach of others especially children.

Do not leave the insects for too long in the killing bottle. Remove them from the bottle before they get dirty or damaged. Also do not overcrowd the bottle with insects. Further, you may use separate small killing bottles for collecting a few specimens in each one of them. Overcrowding of bottles with tough and fragile as well as small and large insects may result in the damaging of all of them.

D Relaxing Insects

For proper mounting, the hard-bodied insects must be in relaxed condition. This keeps in the proper dispplay of their body parts of taxonomic importance. If the insects are mounted immediately after they are killed, then there is no need to relax the specimens. But the insects become dry and stiff if left in the killing bottle for a long time. Under these circumstances the insects must be first relaxed in a relaxing box or in a similar apparatus. A plastic container (2' × 1') may be used as a relaxing box. Place at the bottom of the container a thin sheet of synthetic sponge or any other porous material of 2 to 4 cm in thickness. Saturate the sponge with water. In one corner of the container place a cottonwad soaked in 10 to 15 ml of ethyl acetate to prevent the formation of mold. Also you may place a sheet of blotting paper on the inside of the lid of the container to avoid condensed water to fall over the specimens.

Leave the insects in the relaxing box in a petridish or in envelops. The time required for relaxation depends on the size or type of specimens. Most specimens are satisfactorily relaxed by leaving them one night in the box. Do not leave the specimens for too long a period in the relaxation box to avoid damage and discoloration to them.

E Mounting

The hard bodied insects are mounted on entomological pins. These are standard pins made of steel and do not rust. They are available in a variety of sizes and thickness. But these pins are quite expensive and beyond the reach of students. The students can prepare home-made entomological pins with sewing needles and coloured beads. You may buy thin sewing needls, heat the eye end of the needle on a spirit lamp flame and insert the heated end into a coloured bead. The bead forms the head of the needle. You may make 50 such entomological pins.

Mounting can be done by any one of the following methods, depending upon the size structure and group of insects.

(i) *Direct Mounting*

Freshly pinned specimens are best pinned. The pin should pass through the body of the insect without damaging it. Since there are different ways to insert pins through the insects depending on the group to which it belongs, pins should pass through the correct points in the insect body (Table 32.1 and Fig. 32.5). The pin is always inserted vertically through the body or sloping very slightly in such a way that the front part of the body is very slightly raised. The specimen is then pushed up the pin until its back is about $1^1/_2$" from the top so that the pin can be easily grasped with fingers or pinning forceps. Also while handling one should be able to hold the pin freely without the fingers having any direct contact with the insect. Further all the insects should be uniformly mounted so that it becomes easy to compare and examine the specimens as well as it improves the appearance of the insects in the box. Uniform mounting of the insects is done with the help of pinning blocks or step blocks as they are called (Fig. 32.4). A pinning block is made of hard-wood or plastic in which the holes of desired depths are drilled.

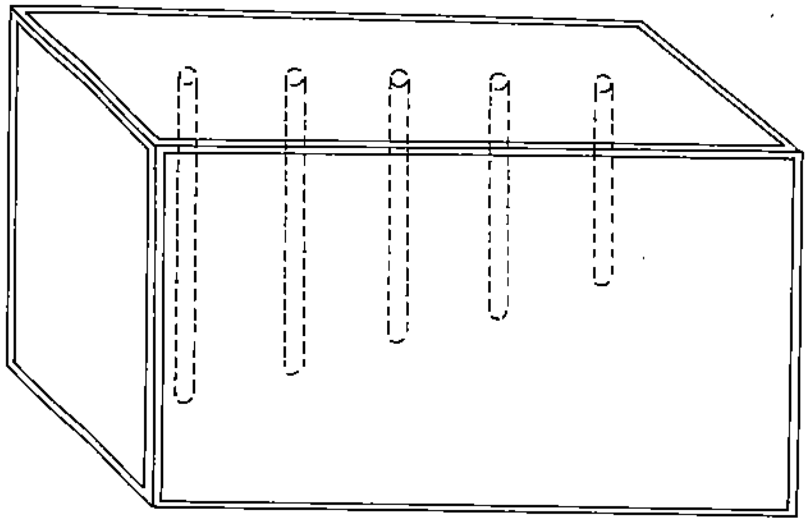


Fig. 32.4 : A pinning block.

Table 32.1: Method of pinning of insects belonging to different orders.

Insects	Point of pinning
1. Orthoptera	Insert pin through the right side of the pronotum near its posterior edge; long axis of the body should be nearly at right angles to the pin but with the head of the insect downward; set the abdomen drooping below the wings (Fig. 32.5a and b).
2. Dermaptera (Earwigs)	Insert pin through the anterior part of right elytron (Fig. 32.5c).
3. Phasmida (stick insects)	Insert pin through posterior most part of the metanotum in the midline (Fig. 32.5d).
4. Odonata (Dragonflies)	Insert pin in the midline of the thorax between the bases of hindwings (Fig. 32.5e).
5. Hemiptera (Bugs)	For those specimens having large scutellum, insert pin through scutellum near its anterior margin just to the right side of the midline; but in those with small scutellum or covered by the enlarged pronotum (e.g., Notonectidae), it is inserted through pronotum near its anterior margin just to the right of midline: (Fig. 32.5f)

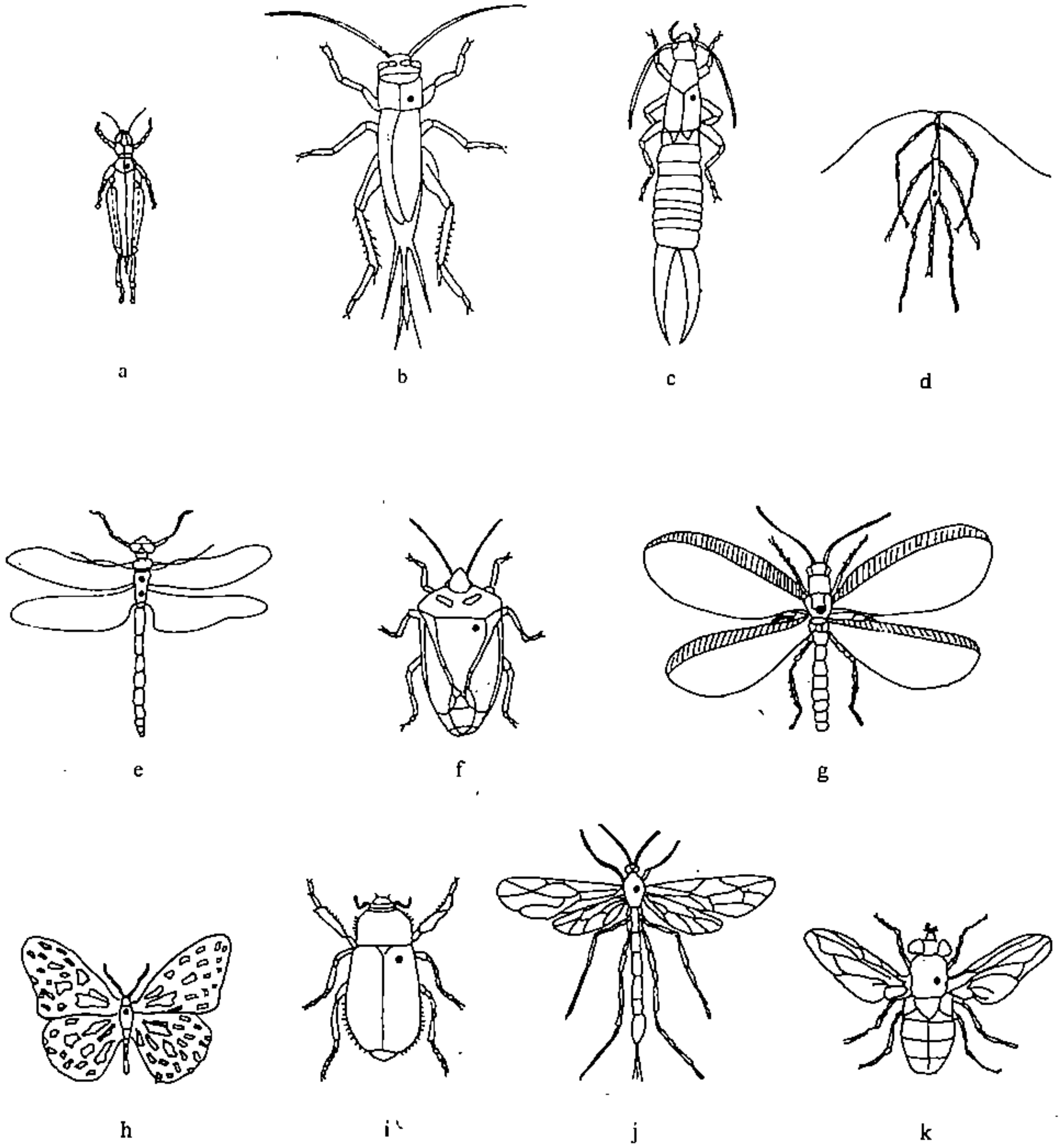


Fig. 32.5 : Correct method of pinning insects. (a) and (b) Orthoptera (c) Dermaptera (d) Phasmida (e) Odonata (f) Hemiptera (g) Neuroptera (h) Lepidoptera (i) Coleoptera (j) Hymesoptera (k) Dipter.

6.	Neuroptera (Antlions)	Insert pin vertically through the middle of the thorax. Mecoptera and Trichoptera are also similarly pinned (Fig. 32.5g).
7.	Lepidoptera (Butterflies and moths)	Insert pin vertically through the middle of the thorax (Fig. 32.5h).
8.	Coleoptera (Beetles)	Insert pin near base towards inner edge of right elytron (Fig. 32.5i).
9.	Hymenoptera (Ants, Bees,Wasps)	Insert pin directly through thorax to the right of midline (Fig. 32.5j).
10.	Diptera	Insert pin at the right of the midline of thorax near base of wings with its point emerging in front of right mid coxa (Fig. 32.5k).

(ii) *Point mounts*

You may display the small dried insects by the procedure of point mounting. You may either attach the specimen to the tip of a small triangle of thin card using a small quantity of adhesive and then support the broad end of the card with an entomological pin. Prepare thin stiff cards by cutting it to the shape of a triangle (6 mm long, 2 mm wide at base and 0.5 mm wide at its apex), but the size may vary depending on the size of the insect. Quick-fix is a quick drying adhesive that can be used for mounting small and medium sized insects. The insects are best attached to the points at the side of the thorax below the wings or margin of the tergum and above or between the bases of the legs. This kind of attachment allows the study of all important taxonomic characters.

iii) *Spreading*

The best mounts of insects are those which make the taxonomic study of all important body parts quick and easy. For this purpose, you have to display the head, wings, legs and abdomen of the insect properly. You may have to provide supports for keeping certain body parts in proper order till the specimens are dried and retained in the desired condition. This is best done in freshly killed specimens when their internal parts are soft to take the pin and appendages are pliable. The wings of insects are spread into the desired position with the help of a spreading board (Fig. 32.6). The spreading board is also used for setting other insects. You can use their paper strips to press the wings on the spreading board and the specimens are allowed to remain in this condition till they get dried and retain the desired position.

Do not leave the spread insects in the open. They will be damaged by other insects such as ants. Leave the spreading board in empty insect boxes or other containers. The drying of the specimens is also necessitated to prevent the growth of fungus over them.

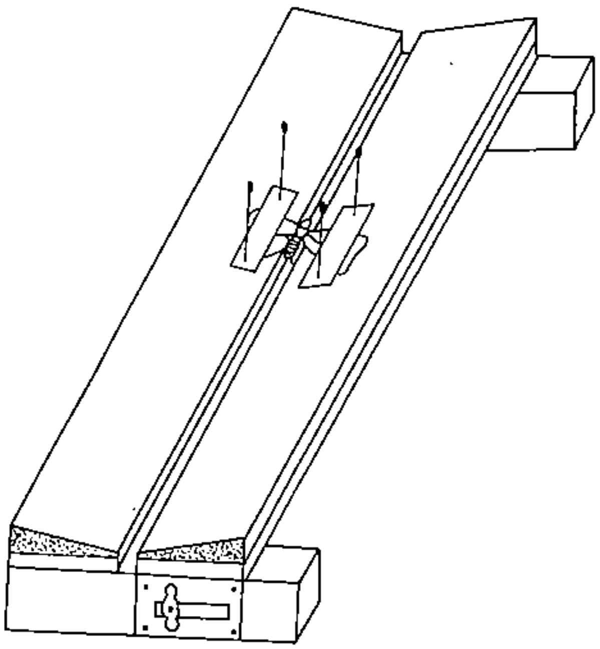


Fig. 32.6 : Spreading board

F Methods of Identification

Once you have collected the insects and sorted them out, tentatively identify them up order. You have to take the help of your academic counsellor for identifying insects. He will help you to identify them upto generic level if possible. There are different methods employed for identifying an organism. The important methods are

(i) From literature

(ii) Use of taxonomic keys

(iii) Pictures

(iv) Direct Comparison

(v) Combination of different methods.

i) *From Literature*

The basic function of an identifier is to compare the specimens with the published descriptions of the species. This is a very tedious task involving hundreds and thousa of comparisons. There is need to skip over the great bulk of the species which are no closely similar to the specimen which is being identified. This is further facilitated if keys are available in the group.

ii) *Keys*

This is one of the most commonly used methods of identification. A key is essentiall printed information-retrieval system into which one puts information regarding a specimen-in-hand and from which ones gets an identification of the specimen to whatever level the key is designed to reach. In the absence of the originally identified specimens of the species utilised for comparisons, the published description becomes t only tool. In larger groups with many species, it is the most tedious task to compare specimens with hundreds or thousands of published descriptions. This task can be solv if the keys to the main group are available. The main purpose of the key is to facilita identification. It is a tabular device designed for rapid identification and based on the most convenient characters which are usually arranged dichotomously. You may refer LSE-07 (Taxonomy & Evolution Course) for a discussion on taxonomic keys.

Preservation of Identified Insects

Some of the important tips are mentioned below and which, if followed will certainly minimise the risk of their damage.

i) The insects should be correctly set and labelled. These should then be kept in wooden boxes (size according to requirement). Care should be taken that the cork sheet which is used as a base for pinning the insects to the box is thick enough to hold the pins deep and firmly attached to the bottom of the box. The larger specimens should be supported on either side with ordinary pins to avoid their possible damage due to swinging.The specimens on double mounts should have o additional pin passing through the pith, a little behind the specimen and the points should be supported by two pins, one on either side of the triangle, to prevent the damage due to circular motion.

   Do not overcrowd the specimens in a box as it always increases the chances of th damage.

ii) A sheet of cardboard cut to fit the inside of the box should be kept over the top o the pinned specimens and the space between this and the lid of the box should be filled with cotton.

iii) The box containing pinned insects must be fumigated. The most effective fumigan is prepared by dissolving 10 gm of naphthalene powder in 50 ml of petrol to whic is then added 0.1 ml of phenol to prevent growth of mould. A cotton swab soake in little quantity of this fumigant is firmly fixed in one corner of the insect box.

   Loose naphthalene crystals should not be kept in the insect box as they can dama the specimens on striking.

For this Project Work

NOTE: Collect a minimum of twenty insects belonging to various orders and identif them correctly.