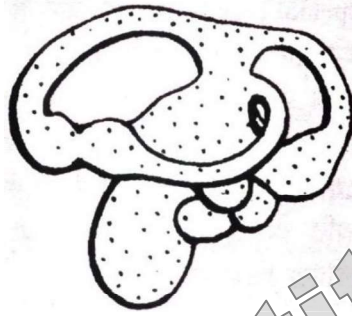


Comparative sensory organ

जीव अपने पर्यावरण के अनेक प्रभावों के आधीन होते हैं। पर्यावरण के बाहरी और भीतरी समस्त परिवर्तन उद्दीपन (stimuli) कहलाते हैं। शरीर के वे अंग जो इन परिवर्तनों या उद्दीपनों को ज्ञात करते हैं ग्राही या संवेदी अंग (receptors or sense organs) कहलाते हैं। ग्राही अंग पर्यावरण से ऊर्जा के रूप में यांत्रिक, रासायनिक, वैद्युत, ऊष्मीय या विकिरणी सूचना प्राप्त करते हैं तथा उसको तंत्रिक आवेगों में परिवर्तित करते हैं जो मस्तिष्क या स्पाइनल कॉर्ड को उनसे जुड़े अभिवाही (afferent) या संवेदी | तंत्रिका तंतुओं द्वारा संचारित होती हैं।

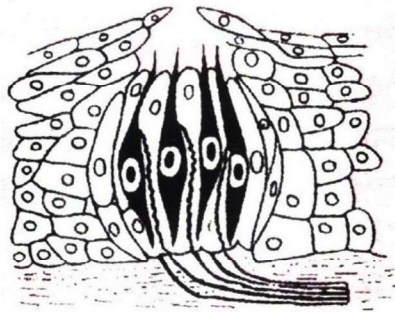


इस प्रकार संवेदी अंगों के दो कार्य होते हैं : (i) पर्यावरण के परिवर्तनों या उद्दीपनों को ज्ञात (detect) करना और (ii) इस सूचना को तंत्रिक आवेगों के रूप में केन्द्रीय तंत्रिका तंत्र को संचारित (transmit) करना । बदले में, केन्द्रीय तंत्रिका तंत्र आवक (incoming) सूचना का समाकलन करता है और अपवाही (efferent) या प्रेरक तंत्रिका तंतुओं द्वारा प्रभावित अंगों को संदेश भेजता है जो समुचित ढंग से प्रतिक्रिया दर्शाते हैं।

सामान्य संवेद (COMMON SENSES)

यद्यपि जीव-वैज्ञानिकों ने अधिक संवेदों को मान्यता प्रदान की है, परन्तु 5 निम्नलिखित सामान्य संवेद हैं :

1. स्पर्श (Touch): इसमें सम्पर्क, दाब, ऊष्मा, शीत आदि होते हैं।
2. स्वाद (Taste) : विलयन में कतिपय पदार्थों के लिए।



3. गंध (Smell) : वायु में वाष्पशील रसायनों और गैसों के लिए।
4. श्रवण (Hearing): वायु, जल या ठोस में कम्पनों के लिए।
5. दृष्टि (Sight) : प्रकाश-तरंगों के लिए।

संवेदी अंगों का वर्गीकरण (CLASSIFICATION OF SENSE ORGANS)

संवेदी अंगों को अनेक प्रकार से वर्गीकृत किया जाता है।

(A) सामान्य और विशेष ग्राही (General and special receptors)

अनेक सूक्ष्म संवेदी अंग विस्तृत रूप से शरीर के अन्दर या बाहर, विशेषतया त्वचा में, वितरित रहते हैं। ये त्वक (cutaneous) संवेदी अंग सामूहिक रूप से सामान्य ग्राही (general receptors) कहलाते हैं क्योंकि उनके ठीक-ठीक कार्य स्पष्ट नहीं हैं तथा उनमें से कोई भी किसी एक ही संवेदन (sensation) से सम्बन्धित नहीं हो सकता।

दूसरी ओर, जिह्वा, नासिका, नेत्र और कर्ण विशेष ग्राही (special receptors) कहे जाते हैं। वे केवल अल्प क्षेत्रों में, विशेषकर शरीर के सिर वाले छोर पर, संकेन्द्रित होते हैं। वे विशेष प्रकार के उद्दीपनों या विशेष संवेदों के प्रति प्रतिक्रिया दिखाते हैं तथा उनके कार्यों को भी बेहतर समझा जाता है। तालिका 1 में प्राप्त उद्दीपनों के प्रकार तथा शरीर में उनकी स्थिति के अनुसार मुख्य ग्राहियों अथवा संवेदी अंगों को सूचीबद्ध किया गया है।

(B) उद्दीपनों के अनुसार प्रकार (Types according to stimuli)

मोटे तौर पर, उन उद्दीपनों के आधार पर जिनके प्रति - वे संवेदनशील होते हैं, हम निम्नलिखित प्रकार के संवेदी अंगों को मानते हैं :

1. यांत्रिकग्राही (Mechanoreceptors) : ये स्पर्श और दाब (त्वचा), कम्पनों या ध्वनि और सन्तुलन (कर्ण) द्वारा उत्तेजित होते हैं।
2. रसोग्राही (Chemoreceptors) : ये गंध, अर्थात् वायु में उपस्थित रासायनिक पदार्थों या गंधों के प्रति (नासिका) एवं स्वाद, अर्थात् विलयन में पदार्थों (जिह्वा) के प्रति संवेदनशील होते हैं।
3. प्रकाशग्राही (Photoreceptors) : ये प्रकाश तरंगों या दृष्टि (नेत्र) के प्रति संवेदनशील होते हैं।
4. ऊष्माग्राही (Thermoreceptors) : ये ऊष्मा और शीत के लिए संवेदी (त्वचा) होते हैं।
5. तंत्रिका छोर (Nerve endings) : पीड़ा के लिए संवेदी (त्वचा) होते हैं।

(C) स्थिति के अनुसार प्रकार (Types according to location)

उद्दीपन की स्थिति के अनुसार भी ग्राही अंग वर्गीकृत किये जा सकते हैं :

1. बाह्यग्राही (Exteroceptors) : ये जीव के बाहर से पर्यावरणीय उद्दीपनों को प्राप्त करते हैं और शरीरतल के बारे में (स्पर्श, दाब, स्वाद, ऊष्मा आदि) सूचना प्रदान करते हैं। इनमें नेत्र, कर्ण, नासिका, स्वाद कलियाँ और त्वक् संवेदी अंग सम्मिलित होते हैं। बाह्यग्राही जीव को भोजन, साथी या शत्रु के विषय में सूचना प्रदान करते हैं।
2. स्वांतरग्राही (Proprioceptors) : ये पेशियों, संधियों, कंडराओं, संयोजी और कंकाल ऊतकों में उपस्थित तनन (stretch) ग्राही होते हैं। वे संतुलन (equilibrium) और स्थिति-निर्धारण (orientation) की तथाकथित गतिबोधात्मक संवेद (kinesthetic sense) के विषय में सूचना प्रदान करते हैं।

3. आंतरग्राही (Interoceptors) : ये विभिन्न आन्तरिक अंगों में स्थित होते हैं। ये शरीर के आन्तरिक वातावरण, जैसे CO₂ सान्द्रण, रुधिर संघटन, पीड़ा एवं पूर्णता (fullness) आदि के विषय में सूचना प्रदान करते हैं। वे जीव की निरन्तर उत्तरजीविता के लिए आवश्यक उचित आन्तरिक पर्यावरण बनाये रखने के लिए उत्तरदायी होते हैं।

(D) दैहिक और अंतरंग ग्राही

(Somatic and visceral receptors)

बाह्यग्राही और स्वांतरग्राही सोमैटिक, कायिक या दैहिक ग्राही भी कहलाते हैं। उसी प्रकार आंतरग्राही विसरल या अंतरंग ग्राही भी कहलाते हैं।

कुछ संवेदी अंगों का दुहरा कार्य होता है। उदाहरणार्थ नासिका और स्वाद कलियों की संवेदी एपिथीलियम दैहिक (बाह्यग्राही) के साथ-साथ अंतरंग ग्राही (आंतरग्राही), दोनों की भाँति कार्य करती है।

पाठक इस पाठ्य पुस्तक के आरम्भिक अध्यायों में विभिन्न कशेरुकियों जैसे डॉगफिश (Scoliodon), मेंढक (Rana), छिपकली (Uromastix), कबूतर (Columba) और खरगोश (Oryctolagus) में पाये जाने वाले विविध ग्राहियों या संवेदी अंगों का पहले ही अध्ययन कर चुके हैं। उनका सबका यहाँ

तालिका 1. उद्दीपनों (Stimuli) और स्थिति (Location) के अनुसार ग्राहियों (Receptors) या संवेदांगों (Sense Organs) के प्रकार।

संवेदी अंग या ग्राही (Sense Organs or Receptors)	उद्दीपन के प्रकार (Type) के अनुसार	उद्दीपन की स्थिति (Location) के अनुसार	उद्दीपन (Stimuli)	कार्य (Functions)
1. त्वचा (Skin) त्वक् (cutaneous)	यांत्रिकग्राही (mechanoreceptors) ऊष्माग्राही (thermoreceptors)	बाह्यग्राही (exteroceptors)	सम्पर्क (contact) तापक्रम (temperature)	स्पर्श, गरम और ठंडे का ज्ञान आदि प्राप्त करना
2. पेशियाँ (Muscles) गतिबोधक (kinesthetic)	यांत्रिकग्राही (mechanoreceptors)	स्वांतरग्राही (proprioceptor)	यांत्रिक तनन (mechanical stretch)	दाब का अनुभव और माप
3. जिह्वा (Tongue) रससंवेदी (gustatory)	रसग्राही (chemoreceptor)	बाह्यग्राही (exteroceptor)	घुलित रसायन	स्वादन (tasting)
4. नासिका (Nose) घ्राण (olfactory)	रसग्राही (chemoreceptor)	बाह्यग्राही (exteroceptor)	वायु में वाष्पशील रसायन और गैसों प्रकाश	सूंघना (smelling)

5. नेत्र (Eyes) दृश्य (visual)	प्रकाशग्राही (photoreceptors)	बाह्यग्राही (exteroceptor)		देखना (seeing)
6. कर्ण (Ears) श्रवण (auditory)	संतुल-ध्वनिक (statoacoustic)	बाह्यग्राही (exteroceptor)	ध्वनि और गुरुत्व (gravity)	सुनना और संतुलन
7. विसरल (Visceral)	—	आन्तरग्राही (interoceptors)	पीड़ा, पूर्णाता, CO ₂ स्तर, रुधिर संगठन आदि	आन्तरिक देह पर्यावरण का अनुरक्षण

पुनः वर्णन करना पूर्वलिखित की मात्र एक पुनरावृत्ति होगी। इसके बजाय, निम्नलिखित वर्णन कशेरुकियों के विभिन्न वर्गों में समान ग्राहियों के कुछ अधिक महत्वपूर्ण अन्तरों को इंगित करने का प्रयास करेगा।

कशेरुकियों में घ्राण अंग . (OLFACTORY ORGANS IN VERTEBRATES)

घ्राण अंग गंध के संवेद से सम्बंधित विशेष अंतरंग रसोग्राही होते हैं। इनमें सिर के अग्रछोर पर स्थित एक जोड़ी गुहायें, घ्राण या नासिका कोष (olfactory or nasal sacs), होती हैं। उनके बाह्य द्वार नासाछिद्र या नासारंध्र (nares or nostrils) कहलाते हैं। साइक्लोस्टोम्स में एक बाह्य नासाछिद्र-युक्त केवल एकल अंध या बंद घ्राण कोष होता है, परन्तु घ्राण तंत्रिकाएँ दो होती हैं। मछलियों में घ्राण कोष बंद होते हैं। लेकिन पालि-पखित (lobe-finned) मछलियों और डिप्नोई में आन्तरिक नासाछिद्र होते हैं। समस्त वायु-श्वासी जन्तुओं या चतुष्पादों में, प्रत्येक घ्राण कोष का एक बाह्य नासारंध्र तथा एक आन्तरिक नासारंध्र होता है। दूसरे ग्राहियों से भिन्न, घ्राण-कोशिकाओं के प्रवर्ध सीधे मस्तिष्क तक पहुँचते हैं जिससे उनको तंत्रिका-संवेदी कोशिकाएँ (neuro-sensory cells) कहा जाता है।

घ्राण संवेद मछलियों और स्तनधारियों में भली-भाँति विकसित होता है। परन्तु कीवी (kiwi) को छोड़कर पक्षियों में इसका लगभग अभाव होता है। यह प्रयोगों द्वारा प्रदर्शित किया गया है कि नासाकोष बन्द किए जाने पर सामन मछलियाँ अंड-निक्षेपण के लिए अपने गृह प्रदेश की सहायक नदियों (river tributaries) को खोजने में असमर्थ होती हैं। यह कहा जाता है कि मनुष्य सात प्राथमिक गंधों (कर्पूरी, कस्तूरीय या मुश्की, पुष्पीय, पिपरमिटी, इथरीय, तीखी और सडियल) में भेद कर सकती है। अधिकतर वर्टिब्रेट समूहों में प्राणबोध भोजन, परभक्षी, यौनसाथी और यहाँ तक कि गृह-पथ को खोजने के लिए महत्वपूर्ण सूचना देता है।

अधिकतर चतुष्पादों में पाए जाने वाले जैकब्सन अंग (organs of Jacobson) या सीरिका-नासा अंग (vomeronasal organs), नासागुहा के नीचे स्थित स्वतंत्र कक्ष होते हैं, यद्यपि ये कभी-कभी अवशेषी होते हैं।

कशेरुकियों में रससंवेदी अंग (GUSTATORY ORGANS IN VERTEBRATES)

ग्राही कोशिकाओं के समूहों अर्थात् स्वाद-कलिकाओं (taste buds) द्वारा प्राप्त घुलित पदार्थों का ज्ञान स्वाद (taste) या स्वादन (gustation) कहलाता है। स्वाद कलिकाएँ सब कशेरुकियों में पाई जाती हैं और संरचना में बहुत एकरूप होती हैं। निम्न कशेरुकियों, जैसे मछलियों में, स्वाद कलिकाएँ मुख और फेरिक्स के अनेक भागों, यहाँ तक कि सिर की त्वचा पर भी पाई जाती हैं। कैट-फिशों में वे गलगुच्छों पर बहुतायत से पाई जाती हैं। तल-भोजियों या अपमार्जकों में वे सम्पूर्ण शरीर-तल पर पाई जाती हैं।

चतुष्पादों में, स्वाद-कलिकाएँ जिह्वा, तालु और फेरिक्स तक सीमित रहती हैं। वे स्तनधारियों में सर्वाधिक परन्तु पक्षियों में न्यूनतम होती हैं। स्वाद कलिकाओं की आपूर्ति V, VII, IX, और X कपाल तंत्रिकाएँ करती हैं। मनुष्य की जिह्वा पर स्थित स्वाद कलिकाएँ 4 प्रकार के मूल स्वादों (मीठा, खट्टा, तीखा और नमकीन) में भेद कर सकती हैं। कुछ स्थितियों में, स्वाद की अनुभूति वास्तव में गंध की अनुभूति के कारण होती है। उदाहरणार्थ, अनेक मसालों का स्वाद अपेक्षाकृत कम होता है, परन्तु वे गंध की ज्ञानेन्द्रिय को बहुत प्रभावित करते हैं। जुकाम के बिगड़ जाने पर, जब नासिका में स्थित घ्राण-अंगों तक का मार्ग अवरुद्ध हो जाता है, तो भोजन स्वादहीन प्रतीत होता है।

प्रकाशग्राही या नेत्र (PHOTORECEPTORS OR EYES)

दृष्टि की अनुभूति नेत्रों के उद्दीपन के कारण होती है। कशेरुकियों में दो प्रकार के नेत्र होते हैं : (i) अयुग्मित मध्यस्थ . (median) और (ii) युग्मित पार्श्व (lateral)।

(A) मध्यस्थ नेत्र (Median eyes)

मध्यस्थ नेत्र अत्यधिक प्राचीन मछलियों, उभयचरों और सरीसृपों में होते थे। ये कुछ जीवित कशेरुकियों में भी पिनियल (pineal) और पैरापिनियल अंगों (parapineal organs) के रूप में होते हैं जो अग्र मस्तिष्क के डाइएनसिफैलॉन के पृष्ठ बहिर्वलनों (evaginations) की भाँति हैं। लैम्प्रेज (साइक्लोस्टोम्स) में वे प्रकाश-संवेदी होते हैं। इनमें एक लेंस और संवेदी तंत्रिकायन होता है परन्तु रेटिना का अभाव होता है जिससे बिम्ब (image) नहीं बना पाते हैं। पिनियल और पैरापिनियल पिंड कदाचित सरीसृपों से ऊपर जन्तुओं में प्रकाश-ग्राहियों का कार्य नहीं करते। सरीसृपों में जब कभी पैरापिनियल मौजूद होता है, जैसे स्फीनोडॉन (Sphenodon) में, तब वह एक पारभासी (translucent) ऊतक से ढका रहता है। यह एक तीसरे नेत्र का कार्य करता है और प्रायः मध्य या पैराइटल नेत्र (parietal eye) कहलाता है।

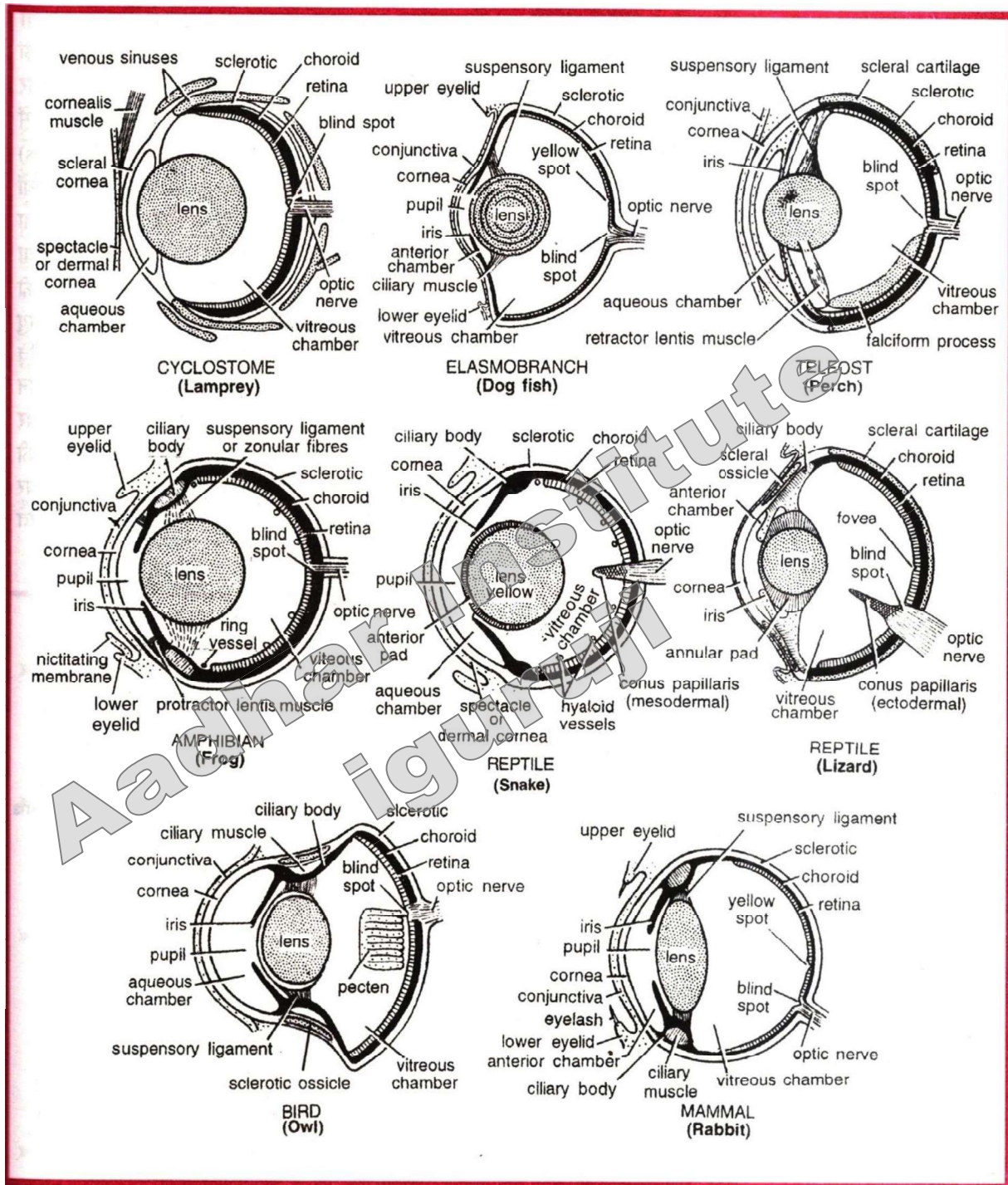
(B) पार्श्व नेत्र (Lateral eyes)

समस्त कशेरुकियों के पार्श्व नेत्र अनिवार्य रूप से समान होते हैं। वे एक कैमरा (camera) के समान होते हैं। उनका लेंस बाह्य वस्तुओं के बिम्बों को फोटोग्राफिक फिल्म की भाँति कार्य करने वाली संवेदी रेटिना पर फोकस करता है। परन्तु जलवासी निम्न कशेरुकियों (मछली और उभयचरों) के नेत्र, स्थलवासी उच्च कशेरुकियों (सरीसृपों, पक्षियों और स्तनधारियों) से, जो जल के बाहर रहते हैं, अनेक महत्वपूर्ण बातों में भिन्न होते हैं। यह जल में दृष्टि से सम्बन्धित समस्याओं का वायु से भिन्न होने के कारण है।

1. पलक और अश्रु ग्रंथियाँ (Eyelids and tear glands) : जल स्वयं नेत्र को साफ़ और गीला रखता है, जिससे मछलियों में चल पलकों और अश्रु ग्रंथियों का अभाव होता है।

2. अपवर्तनांक और कॉर्निया (Refractive index and cornea) : जल और कॉर्निया का अपवर्तनांक लगभग समान होता है। इससे मछली के नेत्र का कॉर्निया प्रकाश-किरणों को नहीं झुकाता। अतः निम्न कशेरुकियों में कॉर्निया चपटा रहता है जबकि उच्च कशेरुकियों में कॉर्निया बाहर को उभरा होता है।

3. लेन्स का आकार (Shape of lens) : मछलियों में अधिकतम अपवर्तन लेंस द्वारा प्राप्त होता है। इसलिए उनका लेन्स गोलाकार होता है जो अपवर्तन में अधिक सक्षम होता है। दूसरी ओर, चतुष्पादों में कम अपवर्तन शक्ति का चपटा या अंडाकार लेन्स होता है।



चित्र 1. विभिन्न कशेरुकियों के नेत्र सममितार्थी काट (sagittal section) द्वारा।

a.c.-anterior chamber, bl.sp.-blind spot, ch.-choroid, cil.b.-ciliary body, cil.m.- ciliary muscle, con. - conjunctiva, cor.-cornea, fo.c.-fovea centralis, i.-iris, l-lens, lo.l-lower lid, ni.m.-nictitating membrane, op.n.-optic nerve, p.c.-posterior chamber, pu.-pupil, re.-retina, scl.-sclerotic, sus.l.-suspensory ligament, up.l.-upper lid, v.c.-vitreous chamber.

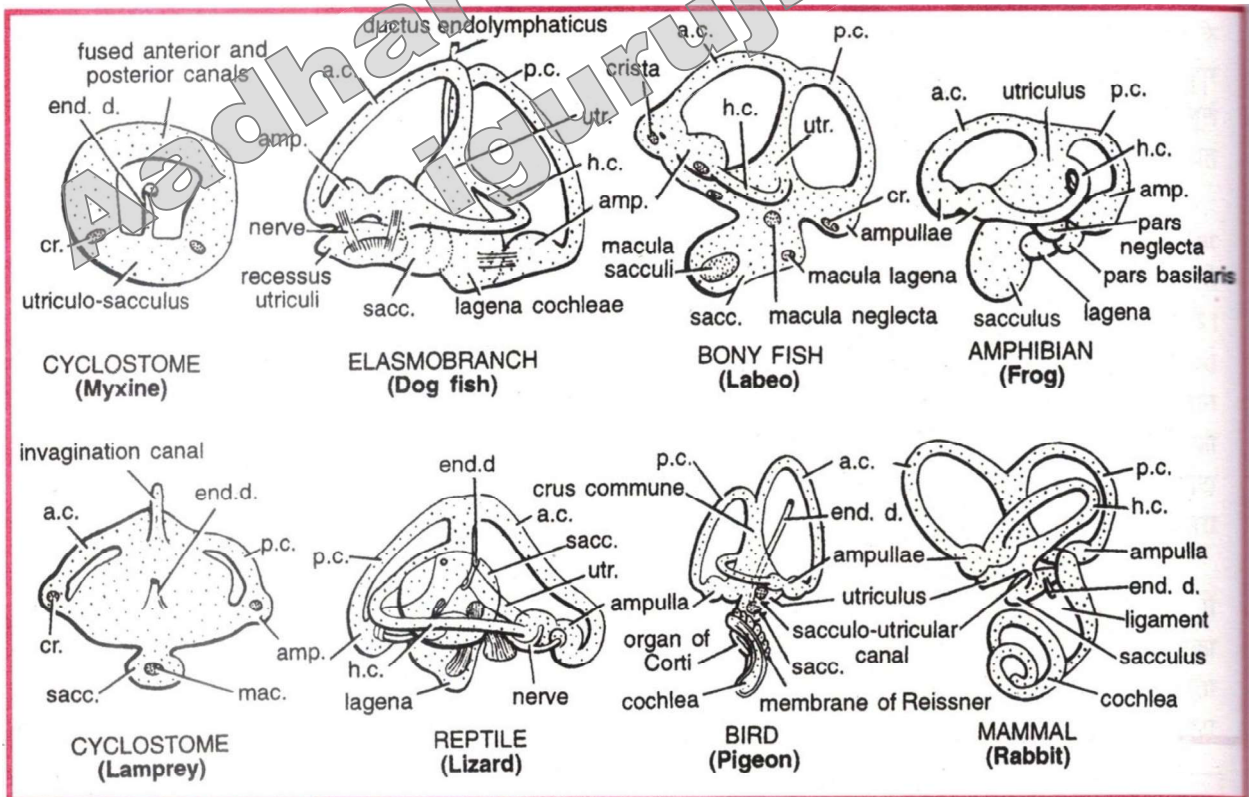
4. समंजन विधि (Method of accommodation) : निम्न और उच्च कशेरुकियों के नेत्रों में समंजन की विधि भी भिन्न होती है। मछलियाँ, उभयचर और सर्प लेन्स को आगे-पीछे खिसका कर फोकस करते हैं, जैसा कि कैमरे में होता है। दूसरी ओर, स्तनधारियों,

पक्षियों और सों के अतिरिक्त अन्य सरीसृपों में दृढ़पटल (sclerotic) कड़ा और लेन्स अचल होता है। परन्तु, उनके लेन्स में प्रत्यास्थ गुण होते हैं जिससे लेन्स का रूप परिवर्तित करके उसकी आवर्धन शक्ति (magnifying power) में परिवर्तन हो जाता है।

संतुल-ध्वनिक अंग या कर्ण (STATOACOUSTIC ORGANS OR EARS)

(A) मछलियों में (In fishes)

सुनने और साम्यावस्था या संतुलन (equilibrium), दोनों की अनुभूतियाँ कर्णों से संबद्ध होती हैं (चित्र 2)। सब कशेरुकियों में करोटि के कर्ण-सम्पुटों (otic capsules) में अंतःस्थापित तथा पश्च-मस्तिष्क के पावों में आन्तरिक कर्णों या कलागहनों (membranous labyrinths) का एक जोड़ा होता है।



चित्र 2. प्रतिनिधि कशेरुकियों के आंतरिक कर्ण।

a.c.—anterior vertical semicircular canal, amp.—ampulla, cr. — crista, end. d. — endolymphatic duct, h.c.—horizontal canal, mac.—macula, p.c.—posterior vertical semicircular canal, sacc.—sacculus, utr.—utricle.

प्रत्येक कलागहन या लेबिरिन्थ में 3 अर्धवृत्ताकार नलियाँ (semicircular canals), लेकिन साइक्लोस्टोम्स में केवल 1 या 2 नलियाँ, एवं एक दृति या यूट्रिक्यूलस (utricle) तथा एक गोणिका या सैक्यूलस (sacculus) होते हैं। मछलियों में सैक्यूलस एक आद्यांगी अंधवर्ध या लैगीना (lagena) बनाता है जो उच्च कशेरुकियों के श्रवण से सम्बन्धित कर्णावर्त या कॉक्लिआ (cochlea) का अग्रज है। साइप्रिनिफॉर्मिज़ गण की टेलिओस्ट मछलियाँ (कैटफिशेज़, सकर्स, कॉर्पस, आदि) एक वायु से भरे तरण आशय को एक जलभाष (hydrophone) की भाँति प्रयोग करती हैं। जल की ध्वनि-तरंगें गैस से भरे आशय में समान आवृत्ति (frequency) की तरंगें उत्पन्न करती हैं। ये तरंगें वेबर अस्थिकाओं (weberian ossicles) नामक छोटी अस्थियों की एक श्रृंखला द्वारा सैक्यूलस को प्रसारित की जाती हैं। वेबर अस्थिकायें प्रथम 4 (कभी 5) धड़ कशेरुकियों के रूपान्तरित अनुप्रस्थ प्रवर्ध होते हैं।

(B) चतुष्पादों में (In tetrapods)

चतुष्पादों में एक मध्य कर्णगुहा और जुड़ जाती है। इसमें स्थित कॉल्यूमेला ऑरिस (columella aures) या स्टेपीज़ (stapes) नामक एक कर्ण अस्थिका ध्वनि-तरंगों को बाह्य कर्णपटह कला से कर्ण-सम्पुट के अंडाकार छिद्र (fenestra ovalis) को प्रसारित करती है। ऐम्नियोट्स में एक बाह्य कर्णनाल या बाह्य कर्णकुहर (external auditory meatus) भी विकसित हो जाता है। मछलियों का लैंगीना उभयचरों में कॉक्लिया नामक पैपिला बन जाता है। उच्च कशेरुकियों में यह उत्तरोत्तर दीर्घित होकर एक कॉक्लियर वाहिनी (cochlear duct) बनाता है जिसमें कॉर्टी के अंग (organ of Corti) नामक वास्तविक ग्राही संरचना होती है। स्तनधारियों का श्रवण उपकरण मूलतः समान परन्तु अत्यन्त जटिल होता है। कॉक्लियर वाहिनी सर्पिलाकार कुंडलित होती है। अधिकतर स्तनधारियों में, बहिःकर्ण (auricle) या कर्णपालि (pinna) नामक एक बाह्य पल्ला ध्वनि-तरंगों को एकत्र और बाह्य कर्णकुहर में निदेशित करता है। एकल कॉल्यूमेला के स्थान पर स्तनधारियों में मध्य कर्णगुहा के आर-पार तीन कर्णस्थियाँ-मुडगदर या मैलियस (malleus), स्थूण या इन्कस (incus) और रकाब या स्टेपीज़ (stapes) होती हैं।

Chordate Adaptations : Scales & Fins

पंखों के प्रकार - (TYPES OF FINS)

मछलियाँ अपने पंखों से तैरती हैं जो भीतर से फ़िनरेज़ द्वारा अवलम्बित, त्वचा के पतले व चौड़े वलन हैं। फ़िनरेज़ अस्थिल, उपास्थिल, तंतुमय अथवा शृंगी होती हैं।

प्राइम मछली के पंख सदा दो प्रकार के होते हैं : (i) अयुग्मित माध्यिक पंख, तथा (2) युग्मित पार्श्व पंख।

1. अयुग्मित माध्यिक पंख (Unpaired median fins) : इनमें मध्य-पृष्ठ रेखा के साथ-साथ 1 या 2 पृष्ठ-पंख (dorsal fins), गुदा या निर्गम (अवस्कर) के पीछे एक अधर गुदा-पंख (anal fin), तथा पूँछ के सिरे के चारों तरफ़ एक पुच्छ-पंख (caudal fin) सम्मिलित हैं। पृष्ठ-पंख एक क्रम में या समानीत या अनुपस्थित होते हैं। गुदा-पंख विशेष रूप से तली-वासियों में अनुपस्थित हो सकता है।

2. युग्मित पार्श्व पंख (Paired lateral fins) : इनमें आगे की ओर अंस-पंख (pectoral fins) तथा पीछे की ओर श्रोणि-पंख (pelvic fins) सम्मिलित हैं।

पंखों के उपयोग (Uses of fins) :

- मछलियाँ मुख्यतः पूँछ तथा पुच्छ-पंख की पार्श्व गतियों द्वारा तैरती हैं। अन्य पंख प्रमुख रूप से परिचालन यन्त्र (steering device) तथा दिक्नियंत्रक (rudder) के रूप में प्रयुक्त होते हैं।
- शरीर की विश्रामावस्था में युग्मित पार्श्व पंख संतुलन बनाये रखते हैं।

पंख अन्य प्रयोजनों के लिये रूपान्तरित भी होते हैं।

- फुफुस-मीन प्रचलन के लिये इनका पाद के रूप में प्रयोग करती हैं।
- उड़न-मीन अपने बड़े एवं विस्तृत अंस-पंखों का प्रयोग विसर्पण (gliding) के लिये करती हैं।
- कुछ नर कॉडिक्थोज़ में श्रोणि-पंख आलिंगकों (claspers) के रूप में बदल जाते हैं।
- रिमोरा (remoras) में अग्र पृष्ठ-पंख सिर पर एक आसंजक डिस्क (adhesive disc) या चूषक (sucker) बनाता है।
- कुछ टीलिओस्ट्स में गुदा-पंख एक प्रवेशी अंग (intromittent organ) या अण्डनिक्षेपक (ovipositor) बनाता है।

पुच्छ-पंखों या पूँछों के प्रकार (Types of Caudal Fins or Tails)

अधिकांश मछलियों में पुच्छ-पंख सुविकसित होता है क्योंकि तैरते समय मछली के आगे की ओर नोदन (propulsion) करने के लिये यह एक महत्वपूर्ण सहयोगी है।

मछलियों में तीन प्रमुख प्रकार की पूँछ या पुच्छ-पंख पाये जाते हैं : द्विसमपालि, विषमपालि तथा समपालि (चित्र 4)।

1. द्विसमपालि (Diphycercal) : अत्यन्त आद्य प्रकार की पूँछ या पुच्छ-पंख द्विसमपालि (diphys = double, दोहरा) अथवा आद्यपालि या प्रोटोसर्कल पुच्छ (protocercal : protos = first or primary, प्रथम या प्राथमिक) कहलाता है। यह अधिक जीवित मछलियों द्वारा प्रदर्शित नहीं होता।

कशेरुक-दंड पीछे पूँछ के सिरे तक फैलकर पंख को सममित तथा समानरूप से पृष्ठ या अधिरज्जुक (epichordal) तथा अधर या अधोरज्जुक (hypochordal) पालियों में विभाजित करता है।

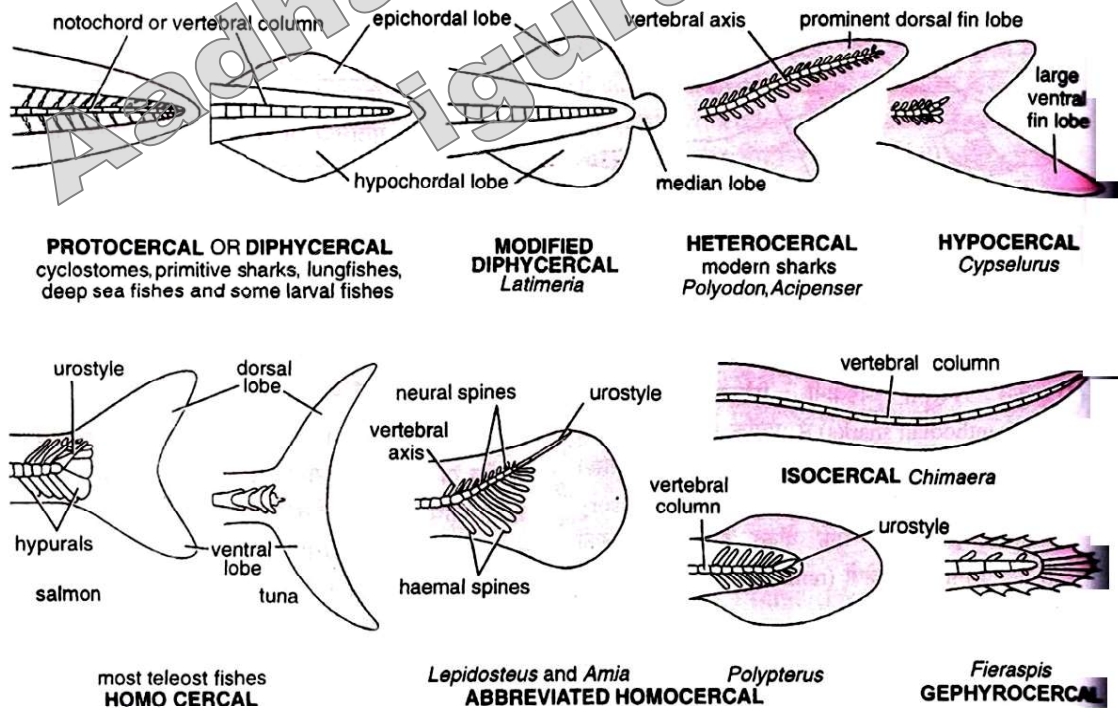
आधुनिक साइक्लोस्टोम्स, आदय शार्को, होलोकेफेलाई (काइमिरा) जीवित डिप्नोई (फुफुस-मीन), जीवित क्रॉसोप्टेरिजिआई, (लैटिमेरिया), अनेक टीलिओस्ट्स की लारवा अवस्थाओं तथा गहरे सागर की मछलियों में द्विसमपालि पुच्छ-पख पाया जाता है।

- लैटिमेरिया तथा विलुप्त सीलाकैन्थस में सुस्पष्ट माध्यिक पालि सहित एक निराली (unique), सममित, 3-पालियुक्त पूँछ होती है।
- काइमिरा तथा कुछ गहरे समुद्रवासी मछलियों में पुच्छ-पख समपालि (isocercal; Gr., iso = equal, बराबर) कहलाता है जो कि अत्यन्त लम्बा तथा सममित होता है।

2. विषमपालि (Heterocercal) : यह एक माध्यमिक प्रकार है जिसमें कशेरुक-दण्ड ऊपर की ओर मुड़कर अधिक उन्नत पृष्ठ-पालि के सिरे तक पहुँचता है। इस प्रकार पुच्छ-पख को स्पष्ट रूप से असममित (Gr., heteros = other, different, भिन्न) बनाता है।

यह आधुनिक elasmobranchs, विलुप्त ऑस्टिओलेपिड (osteolepid) क्रॉसोप्टेरिजियन्स (उदा. ऑस्टिओलेपिस, Osteolepis), विलुप्त डिप्नोअन्स (उदा. डाइप्टेरस, Dipterus) तथा जीवित होमोस्टीअन्स (उदा. एसिपेन्सर, पॉलिओडॉन) का अभिलक्षक (typical) है।

विषमपालि पुच्छ-पख अधर-मुख वाली तथा वाताशय-विहीन अधस्तल भोजियों (bottom feeders) की विशेषता है। तैरते समय अपेक्षाकृत बड़ी पृष्ठ-पालि के प्रहार (strokes) मछली को तली की ओर निदेशित करते हैं।



चित्र मछलियों में विभिन्न प्रकार की पूँछ और पुच्छ-पख।

यह उड़न-मीन (flying fish) *Exocoetus*, कुछ आदय मछलियों तथा ऑस्ट्रैकोडम्स की विशिष्टता है। अपेक्षाकृत बड़ी अधरपालि उड़न-मीन (सिपसेल्यूरस) को जल को छोड़ते ही विसर्पण (glidings) के लिये अधिकतम वेग प्राप्त करने में सहायता करती है।

3. समपालि (Homocercal) : यह अग्रजी (advanced) तथा अति सामान्य प्रकार है (Gr., homos = common, alike, सामान्य, समरूप) तथा अधिकांश उच्च अस्थिल मछलियों (टीलिओस्ट्स) की विशिष्टता है।

यह बाह्य रूप से सममित परन्तु आंतरिक रूप से असममित होती है। इस प्रकार में मूल पृष्ठ-पालि या अधिरज्जुक (epichordal) समाप्त हो जाती है।

मछलियों के शल्क (SCALES OF FISHES)

- अनेक कशेरुकियों में शरीर का बाह्य कंकालीय आवरण दो प्रकार के शल्कों द्वारा निर्मित होता है : अधिचर्म या एपिडर्मल (epidermal) तथा चर्म या डर्मल (dermal)।
- अधिचर्म शल्क अधिचर्म के मैलपीगी स्तर के शृंगित (cornified) व्युत्पन्न हैं। यह स्थलीय कशेरुकियों जैसे रेप्टाइल्स, पक्षियों तथा स्तनियों में सुविकसित होते हैं।
- चर्म शल्कों की उत्पत्ति मेसेन्काइमा से होती है तथा ये मछलियों में विशेष रूप से विकसित होते हैं।

मछलियों में पाँच प्रकार के चर्म शल्क पहचाने गये हैं : कॉस्मॉइड, प्लैकोइड, गैनॉइड, साइक्लोइड तथा टीनॉइड

1. कॉस्मॉइड शल्क (Cosmoid scales) : यह जीवित मछलियों में नहीं पाये जाते। यह कुछ ऑस्ट्रैकोडर्मस, प्लैकोडर्मस तथा विलुप्त सारकोप्टेरिजियन्स (सपालि पखित तथा फुफ्फुस मछलियों) के विशिष्ट लक्षण हैं।

2. प्लैकोइड शल्क (Placoid scales) : यह केवल elasmobranchs मछलियों की विशिष्टता हैं। प्रत्येक प्लैकोइड शल्क में डर्मिस में धंसी एक गोलाकार या चतुष्कोणीय (Thomboidal) आधारी प्लेट से निकला और पीछे की ओर दिष्ट कटक या शूल होता है। प्लैकोइड शल्क त्वचा में पास-पास फिट होकर इसको एक रेगमाल (sand paper) समान विशेषता प्रदान करते हैं।

3. गैनॉइड शल्क (Ganoid scales) : गैनॉइड शल्क कॉन्ड्रोस्टीअन्स (पॉलिप्टेरस, ऐसीपेन्सर) तथा होलीस्टीअन्स (लेपिडोस्टीअस) की विशिष्टता हैं। इसी कारण यह प्रायः गैनॉइड मछलियाँ कहलाती हैं।

4. साइक्लोइड शल्क (Cycloid scales) : लगभग गोलाकार, केन्द्र में अपेक्षाकृत मोटे तथा अनेक संकेन्द्रित (concentric) वृद्धि रेखाओं द्वारा चिह्नित (marked) होते हैं जो मछली की आयु का निर्धारण करने के लिए प्रयोग की जा सकती हैं।

यह परस्पर कोरछादी होते हैं। साइक्लोइड शल्क फुफ्फुस-मीनों, कुछ होलीस्टीअन्स (ऐमिया) तथा निम्न टेलिओस्टीअन्स जैसे कार्प (carps), कॉड (cods) आदि में पाये जाते हैं।

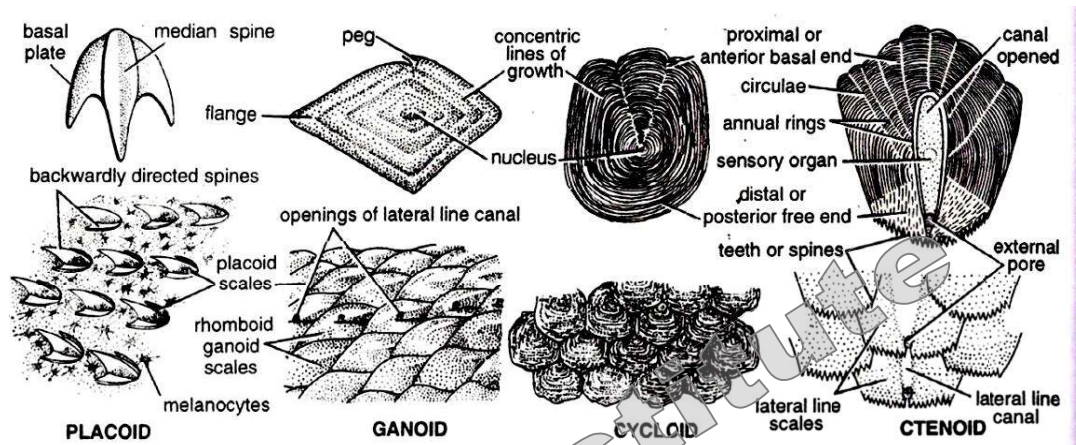
5. टीनॉइड शल्क (Ctenoid scales) : यह आधुनिक उच्च टेलिओस्टीअन्स जैसे पर्य, सनफ़िश आदि की विशिष्टता हैं।

- इनके अनावरित (exposed) स्वतंत्र पश्च भाग, जो कोरछादी नहीं होते, पर असंख्य छोटे कंधी जैसे दाँत या शूल (Gr., ctenos = comb, कंधा) होते हैं।
- साइक्लोइड तथा टीनॉइड शल्कों के बीच के माध्यमिक प्रकार भी मिलते हैं। कुछ मछलियों, जैसे फ़्लाउण्डर्स (flounders), में दोनों प्रकार के शल्क, पृष्ठीय टीनॉइड शल्क तथा प्रतिपृष्ठीय साइक्लोइड शल्क हो सकते हैं।

शल्कों के रूपान्तर (Modifications of scales) :

- कुछ मछलियाँ पूर्णतया शल्क-विहीन या नग्न होती हैं, जैसे टॉरपीडो (इलेक्ट्रिक रे) तथा अशल्क-मीन (catfishes)
- कुछ मछलियों (काइमिरा) में यह स्थानिक (localized) हो जाते हैं।
- ग्लोब-मीन (टैट्रोडॉन) तथा सेही-मीन (डायोडॉन) के शल्क बड़े-बड़े सुरक्षात्मक शूलों में विकसित होने के कारण इनको निगलना अत्यन्त कठिन होता है।

- आरा-मीन (प्रिस्टिस) के लम्बे रोस्ट्रम पर पाये जाने वाले दाँत प्लैकोइड शल्कों द्वारा बने होते हैं।
- करंज या बास्किंग शार्क (सेटोराइनस) में असंख्य प्लैकोइड शल्क क्लोम-कर्षणों (gill rakers) में रूपांतरित हो गये हैं।



श्वसन (RESPIRATION)

श्वसन जन्तुओं के लिये एक आवश्यक जैविक क्रिया है। श्वसन के अन्तर्गत जन्तु बाहरी वातावरण से ऑक्सीजन ग्रहण करते हैं।

- ऑक्सीजन कोशिकाओं में खाद्य पदार्थों का ऑक्सीकरण करके ऊर्जा मुक्त करती है। इस ऑक्सीकरण के फलस्वरूप कार्बनडाइऑक्साइड मुक्त होती है। इस प्रकार O_2 व CO_2 का आदान-प्रदान होता है।
- जन्तुओं के शारीरिक संगठन में जटिलता के बढ़ने के साथ-साथ श्वसन तन्त्र में भी जटिलता आती है।
- अधिकांश जलीय अकशेरुकों में O व CO_2 का आदान प्रदान जल व शरीर की सतह के बीच होता है। अनेक जलीय जन्तुओं में O_2 व CO_2 के आदान-प्रदान के लिये विशेष श्वसनीय सतह का विकास हो जाता है जैसे नेरीज में पेरापोडिया, प्रॉन, यूनियो व पाइला में गिल्स, तारा मछली में चर्मिल गिल्स आदि।
- स्थलीय अकशेरुक वातावरण से O_2 ग्रहण करते हैं। स्थलीय श्वसन के लिये कीटों में ट्रेकिया व पाइला में पल्मोनरी सेक का विकास हुआ। अकशेरुकीयों में श्वसन का अध्ययन निम्न प्रकार से किया जा सकता है

I. साधारण देह सतह (General body surface)

प्रोटोजोआ के सदस्य एक कोशिकीय होते हैं। यह अधिकांशतया जल में निवास करते हैं। इनमें प्लाज्मालेमा श्वसनीय सतह का कार्य करती है। जल में घुली O_2 ग्रहण की जाती है व CO_2 का त्याग किया जाता है।

(i) यूग्लीना में श्वसन (Respiration in Eugleno) - यूग्लीना जलीय जन्तु है। इसमें श्वसन शरीर की सामान्य सतह द्वारा होता है।

प्लाज्मालेमा के बाहर तनुत्वक (Pellicle) का आवरण पाया है। तनुत्वक से होकर जल में घुली O_2 विसरण द्वारा भीतर ग्रहण कर ली जाती है। खाद्य के ऑक्सीकरण द्वारा शरीर में CO_2 उत्पन्न होती है। ऐसा माना जाता है कि प्रकाश की उपस्थिति में इस CO का उपयोग प्रकाश संश्लेषण में हो जाता है। अंधेरे में CO_2 विसरण द्वारा बाहर निकाल दी जाती है।

(ii) नेरीज में श्वसन (Respiration in Neries) - नेरीज समुद्रीय जन्तु है। इसमें श्वसन के लिये विशिष्ट अंग अनुपस्थित होते हैं। नेरीज में श्वसन निम्न दो रचनाओं द्वारा होता है-

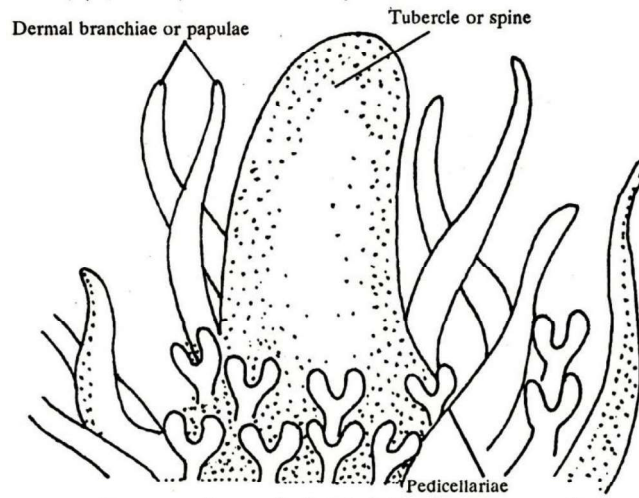
(a) शरीर सतह द्वारा (By Body Surface) - नेरीज की देहभित्ति पतली होती है। इसमें रक्त केशिकाओं का जालक पाया जाता है। जल में घुली O_2 देहभित्ति से होकर विसरण द्वारा रक्त में पहुँच जाती है। इसके रक्त में हीमोग्लोबिन प्लाज्मा में घुलित अवस्था में पायी जाती है। हीमोग्लोबिन श्वसनीय वर्णक है। इसकी सहायता से O_2 का परिवहन होता है। देहभित्ति की रक्त केशिकाओं द्वारा CO_2 का त्याग भी विसरण द्वारा हो जाता है।

(b) पेरापोडिया द्वारा (Through Parapodia) - नेरीज में खण्डों के पार्श्वों में अतिवृद्धि के रूप में पेरापोडिया पाये जाते हैं। इनमें भी रक्त केशिका जालक पाया जाता है। इस जालक द्वारा O_2 व CO_2 का आदान-प्रदान विसरण द्वारा होता है।

(iii) हिरुडिनेरिया में श्वसन (Respiration in hirudinaria) - जोंक में विशिष्ट प्रकार के श्वसन अंगों का अभाव होता है।

- देहभित्ति ही श्वसन अंग की भाँति कार्य करती है।
- देहभित्ति में अत्यधिक मात्रा में हीमोसीलॉमिक द्रव का संचरण पाया जाता है। आक्सीजन व कार्बन डाईऑक्साइड का आदान प्रदान एपिडर्मिस द्वारा होता है। इस कार्य के सफल सम्पादन के लिये त्वचा का नम बना रहना आवश्यक होता है। चारों ओर पाया जाने वाला जल इसे नम बनाये रखने में सहायता करता है व श्लेष्म (Mucous) त्वचा को शुष्क होने से रोकता है।
- ऑक्सीजन का परिसंचरण करने के लिये हीमोसीलॉमिक द्रव में घुलित अवस्था में हीमोग्लोबिन पाया जाता

(iv) तारा मछली के चर्मिय क्लोम या गिल (Dermal branchiae or gills of Asterias) - चर्मिय गिल मुख तल व अपमुख तल दोनों पर पाये जाते हैं। इन्हें पेप्युली (Papulae) भी कहा जाता है। यह छिद्रों द्वारा बाहर निकले रहते हैं, जिन्हें चर्मिय छिद्र (Dermal pores) कहते हैं। गिल अपेलियों के समान, खोखले, व आंकुचनशील होते हैं। यह छिद्रों से होकर बाहर व भीतर गति करते रहते हैं। इसमें पायी जाने वाली गुहा सीलॉम का ही आवर्धन है। यह श्वसन व उत्सर्जन का कार्य करते हैं।



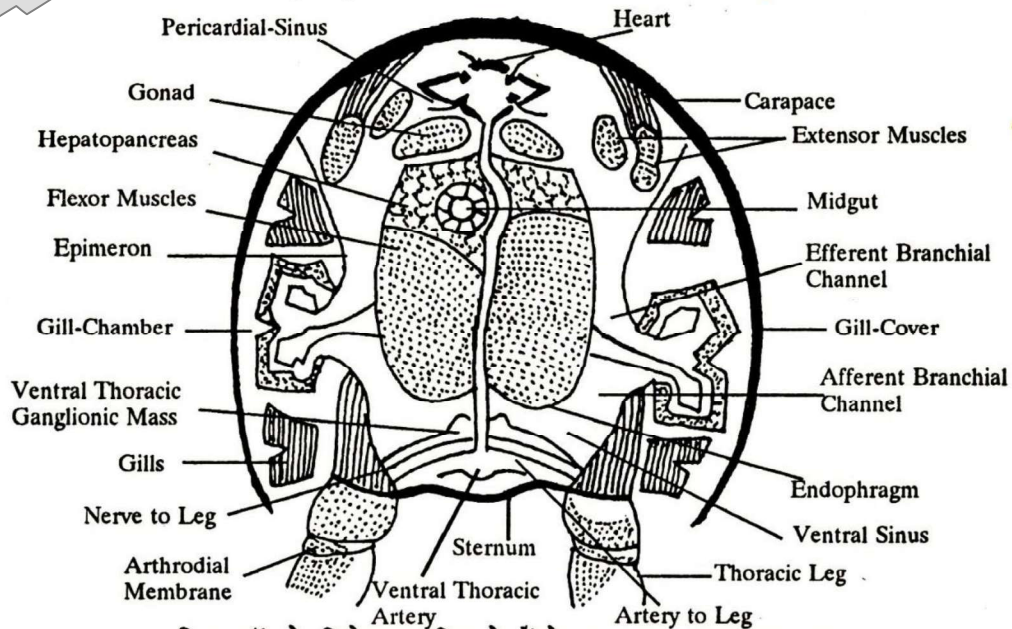
चित्र — समुद्री तारा के पेडिसिलेरिआई, शूल व क्लोम

(v) प्रॉन में श्वसन (Respiration in Prawn)

प्रॉन में पूर्ण विकसित श्वसन तंत्र पाया जाता है। इसके श्वसन तंत्र में निम्न अंग पाये जाते हैं

- (1) क्लोमावरक व गिलावरक (Branchiostegites)
- (2) क्लोम (Gills)
- (3) एपीपोडाइट (Epipodites)

(1) क्लोमावरक व गिलावरक (Branchiostegites) - सिरोकक्ष (cephalothorax) के पार्श्वों में एक एक गिल कोष्ठ (gill chamber) पाया जाता है। गिल्स, गिल कोष्ठों में स्थित होते हैं। गिल कोष्ठ, अंग, पश्व व अधर से खुले होते हैं। गिल कोष्ठ में भीतरी दीवार एपिमिरोन (Epimeron) द्वारा निर्मित होती है व बाहरी दीवार ब्रेन्कियोस्टीगाइट या केरापेस द्वारा निर्मित होती है। ब्रेन्कियो-स्टीगाइट्स का भीतरी स्तर झिल्लीमय होता है। यह झिल्लीमय स्तर संवहनीय (vascular) भी होता है। यह संवहनीय व झिल्लीमय परत श्वसनीय सतह (respiratory surface) की तरह कार्य करती है। इस सतह पर आक्सीजन व कार्बन-डाई-आक्साइड का आदान प्रदान होता है। प्रॉन जल में घुली हुई आक्सीजन का प्रयोग करता है।



चित्र : प्रॉन के सिरोकक्ष व गिलकोष्ठों से गुजरता हुआ अनुप्रस्थ काट

(2) **एपीपोडाइट** (Epipodites) - प्रॉन में तीन जोड़ी एपीपोडाइट पाये जाते हैं। यह तीन जोड़ी मैक्सीलीपीड्स के कॉक्सा की बाहरी सतह पर स्थित होते हैं। यह पत्ती के समान, अत्यधिक संवहनीय अध्यावरणी प्रवर्ध है। यह गिल कोष्ठों के अग्र भाग में स्केफोगनैथाइट के नीचे स्थित होते हैं एपीपोडाइट पर भी आक्सीजन व कार्बन-डाई-आक्साइड का आदान प्रदान होता है।

गिल्स (Gills) - प्रत्येक ओर के गिल कोष्ठ में 8 गिल्स पाये जाते हैं, इस प्रकार प्रॉन में आठ जोड़ी गिल्स पाये जाते हैं। गिलावरक को हटाने पर केवल 7 गिल्स ही दिखाई देते हैं।

गिल्स के प्रकार (Types of gills) - गिल्स को संलग्न स्थल व उत्पत्ति के आधार पर तीन श्रेणियों में वर्गीकृत किया जाता है

(1) पोडोब्रेन्क (podobranch)

(2) आर्थ्रोब्रेन्क (Arthrobranch)

(3) प्लूरोब्रेन्क (pleurobranch)

(1) **पोडोब्रेन्क** (Podobranch) - ऐसा गिल जो उपांग के **काक्सा** (coxa) पर जुड़े रहते हैं, इसे **पोडोब्रेन्क** (podobranch) कहते हैं। यह द्वितीय मैक्सीलीपीड के काक्सा की बाहरी सतह पर पायी जाती है। प्रॉन में पोडोब्रेन्क की संख्या एक जोड़ी होती है।

(2) **आर्थ्रोब्रेन्क** (Arthrobranch) - वक्ष एवं उपांग को जोड़ने वाली **सन्धि कला** (arthroidial membrane) पर पाये जाने वाले गिल को आर्थ्रोब्रेन्क कहते हैं। यह तृतीय मैक्सीलीपीड पर पाये जाते हैं। इनकी संख्या दो जोड़ी होती है।

(3) **प्लूरोब्रेन्क** (Pleurobranch) - यह वक्ष के पार्श्व में पाये जाते हैं। जिसे चलन उपांग (walking legs) जुड़े रहते हैं। यह प्रथम से पाँचवे जोड़ी चलन उपांग युक्त खण्डों पर पाये जाते हैं। इनकी संख्या 5 जोड़ी होती है।

गिल सूत्र (Branchial formula) -- प्रत्येक गिल कोष्ठ में पाये जाने वाले **एपिपोडाइट्स** व **गिल्स** को एक सूत्र के रूप में व्यक्त किया जा सकता है, इसे **ब्रेन्कियल सूत्र** (Branchial formula) कहते हैं।

उपांग (Appendages)	एपिपोडाइट (Epipodite)	पोडोब्रेन्क (Podobranch)	आर्थ्रोब्रेन्क (Arthrobranch)	प्लूरोब्रेन्क (Pleurobranch)	योग (Total)
1. प्रथम मैक्सीलीपीड (First Maxillepede)	1	—	—	—	1
2. द्वितीय मैक्सीलीपीड (Second maxillepede)	1	1	—	—	2
3. तृतीय मैक्सीलीपीड (Third maxillepede)	1	—	2	—	3
4. प्रथम चलन टांग (I walking leg)	—	—	—	1	1
5. द्वितीय चलन उपांग (II walking leg)	—	—	—	1	1
6. तृतीय चलन उपांग (III walking leg)	—	—	—	1	1
7. चतुर्थ चलन उपांग (IV walking leg)	—	—	—	1	1
8. पाँचवा चलन उपांग (V walking leg)	—	—	—	1	1
योग (Total)	3	1	2	5	11

सामर्थ्य (Competence)

भ्रूणीय कोशिकाओं में दूसरी भ्रूणीय कोशिकाओं को कोई संरचना बनाने के लिए प्रेरित करने की क्षमता होती है।

प्रेरण induction के विषय में दो प्रश्न उठाए जा सकते हैं

1. क्या प्रेरक inducer हर किसी उतक को वही संरचना बनाने के लिए प्रेरित करता है?
2. क्या प्रेरक का प्रभाव समय से निर्पेक्ष है यानि क्या संगठक को गैस्ट्रुला के बहुत बाद की अवस्था में प्रतिरोपित करने पर भी वह द्वितीयक अक्ष का प्रेरण कर पाएगा?

प्रयोगों से ज्ञात हुआ कि प्रेरक हर कोशिका पर हर समय प्रेरण नहीं कर पाता है। जिस प्रकार किसी विशिष्ट कोशिका समूह में प्रेरण करने की क्षमता होती है उसी प्रकार किन्हीं विशिष्ट कोशिकाओं में प्रेरित होने की क्षमता होती है।

साथ ही उपयुक्त समय निकल जाने पर वही कोशिका या उसकी संततियां प्रेरित नहीं हो पाती हैं। यानि प्रेरण से कोई भी उतक हर किसी समय प्रभावित नहीं होता है।

दूसरे शब्दों में प्रेरक के प्रति कोई विशेष प्रकार उतक ही संवेदनशील या अनुक्रिय होता है और वह भी किसी विशिष्ट समयावधि में ही।

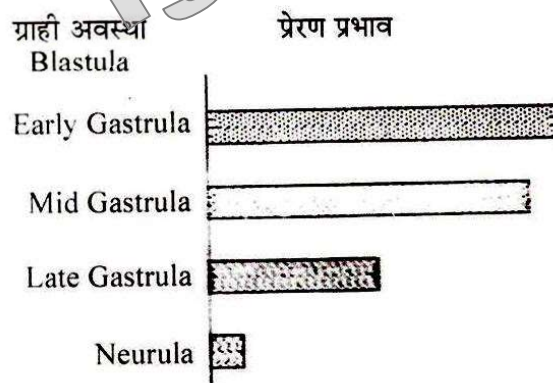
भ्रूण की इस विशिष्टता को वेडिंग्टन (C.H. Waddington, 1905-1975) ने 1932 में **कॉम्पेटेन्स (Competence)** नाम दिया।

इस प्रकार जैसे प्रेरक में प्रेरित करने की क्षमता होती है वैसे ही अनक्रिय उतक में प्रेरित होने की सामर्थ्य होती है। यदि यह न हो तो वह प्रेरित भी नहीं होगा। इस प्रकार भ्रूण के किसी भाग की 'प्रेरित' हो सकने की क्षमता सामर्थ्य कहलाती है। **(Competence is the ability of a part of the embryo to be induced)।**

दूसरे शब्दों में सामर्थ्य भ्रूणीय उतक की वह कार्यात्मक अवस्था है जो इसे किसी नियंत्रक उद्दीपन (determinative stimulus or induction) के प्रति विशिष्ट प्रकार के संरचना विकास करने को अनुमत करती है।

Machemer द्वारा किए गए प्रयोग :- यह एक स्वीकार्य तथ्य है कि अधिकांश कशेरुकियों ने प्रारम्भिक गैस्ट्रुला के कोरक रन्ध्र का DORSAL LIP एक्टोडर्म कोशिकाओं के विभेदन की क्षमता रखता है तथा इसे स्पीमेन ने संगठक या प्राथमिक संगठक (Primary Organizer) नाम दिया।

- एक प्रयोग में प्रारम्भिक गैस्ट्रुला अवस्था से DORSAL LIP निकाल कर विभिन्न अवस्थाओं के भ्रूणों में प्रतिरोपित किए गए। इस प्रयोग से ज्ञात हुआ कि यदि ग्राफ्ट प्राथमिक व मध्य गैस्ट्रुला में प्रतिरोपित किया जाए तो यह प्रेरण कर पाता है (यानि ग्राही कोशिकाओं को विभेदन के लिए प्रेरित कर पाता है) यदि ग्राही उत्तर-गैस्ट्रुला (Late gastrula) हो तो प्रेरण बहुत कम होता है।
- यदि DORSAL LIP को न्यूरुला या उसके बाद की अवस्था में प्रतिरोपित किया जाए तो प्रेरण अप्रभावी होता है (यानि सिर्फ इक्की-दुक्की कोशिकाएँ ही तन्त्रिकीय कोशिकाओं के रूप में विभेदित होती हैं)।



चित्र DORSAL LIP ग्राफ्ट को भ्रूण की विभिन्न अवस्थाओं में प्रतिरोपित करने पर प्राप्त प्रेरण सफलता को प्रदर्शित करता ।

- यदि प्रारम्भिक गैस्ट्रुला से निकाले DORSAL LIP को कोरक या ब्लास्टुला (blastula) अवस्था के भ्रूण में प्रतिरोपित कर दिया जाए तब भी तुरन्त कोई विभेदन नहीं देखा जा सकता है। यह विभेदन ऐसे भ्रूण में तभी देखा जाता है जब यह गैस्ट्रुला अवस्था तक पहुंच जाता है।

इस प्रयोग से यह स्पष्ट होता है कि प्रेरण समय पर निर्भर एक परिघटना है। इसी कारण लोवट्रप (Lovtrup, 1974) ने कोशिकाओं को सामर्थ्य की दृष्टि से तीन अवस्थाओं में बांटा है

(i) सामर्थ्य पूर्व अवस्था (Precompetence stage of cell)

(ii) सामर्थ्य अवस्था (Competence stage)

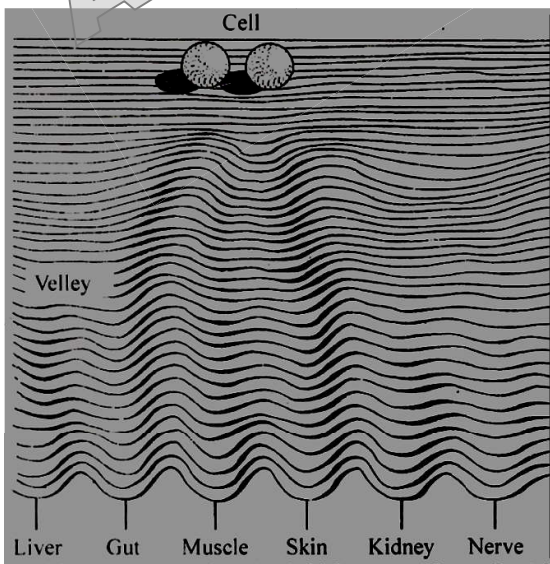
(iii) सामोत्तर अवस्था (Post competence stage)

उपरोक्त वर्णन के आधार पर यह निष्कर्ष नहीं निकलना चाहिए कि

- गैस्ट्रुला अवस्था के उपरान्त सभी प्रकार की कोशिकाओं की सामर्थ्य प्रेरण के लिए समाप्त हो जाती है। सामर्थ्य को सदैव किसी विशिष्ट प्रेरक के सन्दर्भ में ही व्यक्त किया जाता है। उपरोक्त वर्णन प्राथमिक संगठक के सन्दर्भ में है। यह संगठक तन्त्रिकीय प्रेरण करता है अतः इससे सम्बन्धित सामर्थ्य को तन्त्रिकीय सामर्थ्य (Neural Competence) कहा जाता है।

- इस प्रकार गैस्ट्रुला अवस्था के बाद भ्रूण की एक्टोडर्म को मीजोडर्म या DORSAL LIP के प्रति संवेदनशील नहीं रहती है परन्तु उसके कुछ अन्य ऊतकों या कोशिकाओं में अब नए प्रेरकों के प्रति प्रतिक्रिया करने की सामर्थ्य उत्पन्न हो जाती है (जो पहले नहीं थी और कुछ समय बाद भी नहीं रहेगी)।
- उदाहरणार्थ न्यूरोला अवस्था में एपिडर्मिस (जो एक्टोडर्म से बनी है) तन्त्रिकीय सामर्थ्य प्रकट नहीं करती परन्तु नेत्र पुटिका (Eye Vesicle) के प्रेरण से यह लैन्स (Lens), पश्चिमस्तिष्क के प्रेरण से कर्ण पुटिका (Ear Vesicle) तथा अग्र मस्तिष्क के प्रेरण से यह नासागर्त (Nasal Pit) में यह (Epidermis) विभेदित हो सकती है।
- प्रारम्भ में दिए गए वर्णन से यह स्पष्ट नहीं किया गया है कि किसी प्रेरण की विशिष्ट कोशिकाएँ ही प्रेरण के प्रति अपनी प्रतिक्रिया प्रदर्शित करती हैं (क्योंकि इन्हीं में किसी विशिष्ट समयावधि में प्रतिक्रिया करने का सामर्थ्य होता है)।

- उदाहरणार्थ DORSAL LIP के प्रेरण से भ्रूण का सिर्फ बाह्य जनस्तर (Ectoderm) ही प्रभावित होता है मध्य जनस्तर (Mesoderm) व अन्तःजनस्तर (Endoderm) पर इसका कोई प्रभाव नहीं पड़ता है।



सामर्थ्य का महत्व

वेडिंग्टन ने कोशिकाओं की सामर्थ्य व विभेदन के विषय में यह विचार रखा है कि इस प्रकार समयबद्ध सामर्थ्य सम्भवतः भ्रूण का सामान्य रूप से परिवर्धित करने में सहायता कर यदि भ्रूण के ऊतक सदैव सब तरह के प्रेरणों के लिए संवेदनशील रहें तो वातावरणीय कारणों या अन्य असामान्य परिस्थितियों के कारण कितने ही भ्रूण असामान्य परिवर्धन करेंगे।

कोशिकाओं के भविष्य को वे एक अमूर्त 'एपिजेनेटिक लैण्डस्केप' से प्रदर्शित करते हैं जिसमें कोशिकाओं को एक ऊंचे स्थान पर रखी गोल गेन्दों के समान दर्शाया गया है।

1. उसका मानना था कि प्रेरक इन कोशिकाओं को किसी एक मार्ग पर प्रेरित करने (धकेलने) का कार्य करते हैं। एक बार किसी एक घाटी में लुढ़कने पर जैसे गेन्द किसी निश्चित स्थान पर जाकर ही रुकेगी उसी प्रकार एक बार प्रेरण के प्रभाव से एक कोशिका किसी नियत रूप को प्राप्त करके ही रहेगी। उनके अनुसार इस मार्ग पर एक बार बढ़ने के बाद उसके लिए पीछे हटने की सम्भावना खत्म हो जाती है (परन्तु इसके अपवाद आप पुनरुद्भव व क्लोनिंग के अध्यायों में पढ़ेंगे)।
2. आगे चल कर मार्ग की कुछ कोशिकाएँ पुनः अलग-अलग मार्ग (बाह्य प्रेरण से) पर विभेदित हो सकती हैं तथा इस प्रकार सामान्यतः कम विविधता रखने वाला भ्रूण धीरे-धीरे विविध कोशिकाओं युक्त हो जाता है।
3. इस प्रकार भावी एक्टिन्यूरोडर्म या तो मीजोडर्म या एन्डोडर्म या तन्त्रिकीय कोशिकाओं में विभेदित हो सकती है।
4. प्रेरण के बिना यह अधिचर्मीय कोशिकाओं (Epidermal Cells) में बदलेगी (यदि नीचे संयोजी ऊतक उपस्थित हों)। एपिडर्मल कोशिकाएँ पुनः लैन्स, कर्णपुटिका आदि किसी एक मार्ग पर विभेदित हो सकती हैं।
5. **वेडिंग्टन के अनुसार प्रेरक पदार्थ तो अविशिष्ट (Nonspecific) होता है परन्तु उसे विशिष्टता (Specificity) कोशिकीय सामर्थ्य में मिलती है।** प्रयोगों में भी यह पाया गया कि अनेक प्रकार के प्राकृतिक एवं अप्राकृतिक पदार्थ प्रेरण कर सकते हैं यानि प्रेरक अविशिष्ट होते हैं परन्तु अनुक्रिया विशिष्ट कोशिकाएँ ही दर्शाती हैं। इस तरह प्रेरक का कार्य किसी कोशिका को सम्भावित मार्गों में से किसी एक मार्ग पर 'धकेलना' है।

सामर्थ्य के निम्न प्रकार पहचाने जा सकते हैं-

(a) कोशिका विशिष्ट सामर्थ्य (Cell-Specific Competence) - यदि कोई विशिष्ट कोशिका ही एक प्रेरक संकेत के प्रति अनुक्रिया दिखाए शेष कोशिकाएँ नहीं तो इसे कोशिका विशिष्ट सामर्थ्य कहते हैं -

(b) अवस्था विशिष्ट सामर्थ्य (Stage-Specific Competence) - जब प्रेरक किसी समय विशिष्ट या एक विशिष्ट भ्रूणीय अवस्था पर ही प्रभावी हो तो इसे अवस्था-विशिष्ट सामर्थ्य कहते हैं।

(c) जाति-विशिष्ट सामर्थ्य (Species-Specific Competence) - जब एक जाति विशेष की कोशिकाएँ प्रेरक संकेत के प्रति क्रिया दर्शाती हैं तो जाति-विशिष्ट सामर्थ्य कहते हैं।

मेंढक की भ्रूणिकी (EMBRYOLOGY OF FROG)

रानी टाइगीना (*Rana tigrina*) में जनन काल मानसून या वर्षा ऋतु में जुलाई से सितम्बर तक पाया जाता है।

- जनन काल के दौरान नर मेंढक के अग्र पाद पर मैथुन गद्दियों (copulatory pads) का निर्माण हो जाता है। इसके द्वारा नर मेंढक मादा की पीठ पर लद जाता है। मेंढक में मैथुनी अंग (copulatory organs) नहीं पाये जाते हैं। इस प्रकार के मैथुन को मिथ्या मैथुन (pseudocopulation or Amplexus) कहते हैं।
- नर मादा को वाक कोष द्वारा ध्वनि उत्पन्न करके आकर्षित करता है।
- नर व मादा द्वारा एक साथ स्खलन (ejaculation) व अण्ड निक्षेपण (oviposition) होता है।
- मादा द्वारा अण्डों का त्याग एक समूह के रूप में किया जाता है जिसे स्पॉन (Spawn) कहते हैं। रानी टाइगीना के एक स्पॉन में 3000-4000 तक अण्डे पाये जाते हैं। एक जनन काल में स्पॉन की संख्या भिन्न-भिन्न जाती में भिन्न-भिन्न होती है। यह 1000 से 10,000 तक होती है। टोड में अण्डों का त्याग एक या दो श्रृंखलाओं में व्यवस्थित अण्डों के रूप में होता है।
- मेंढक के अण्डे में निम्न चार विशेषण पाये जाते हैं

पीतक की मात्रा के आधार पर - मध्य पीतकी

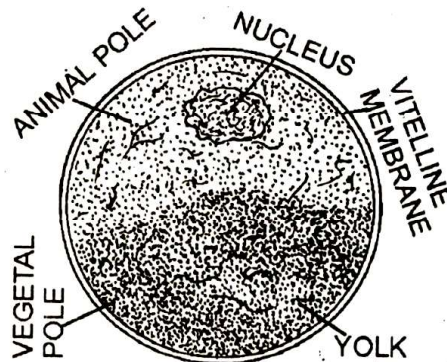
पीतक के वितरण के आधार पर - गोलार्द्ध पीतकी

कवच के आधार पर - अकोशी

परिवर्धन के आधार पर - अनिर्धारी

2. निषेचन (Fertilization)

- मेंढक एक अण्डज (oviparous) प्राणी है व इसमें बाह्य निषेचन (external fertilization) पाया जाता है।
- इसमें तृतीयक अण्डावरण के रूप में जैली पायी जाती है, उसके बावजूद बाह्य निषेचन पाया जाता है, क्योंकि शुक्राणु जैली के फूलने के पूर्व ही भीतर प्रवेश कर जाते हैं।
- निषेचन के प्रारम्भ में अण्डा द्वितीय असाइट अवस्था में पाया जाता है।
- शुक्राणु सक्रिय ध्रुव (Animal pole) से भीतर प्रवेश करता है।
- भेदन स्थल से वर्णक कणिकाएँ भी शुक्राणु के साथ-साथ भीतर प्रवेश करती हैं, इससे भेदन मार्ग स्पष्ट दिखाई देता है।
- निषेचन के दौरान सक्रिय ध्रुव की ओर विषुव रेखा (equator line) पर एक हल्के भूरे रंग की रचना का निर्माण होता है जिसे ग्रे क्रिसेण्ट (Gray crescent) कहते हैं। इस भाग द्वारा भविष्य में कोरक रन्ध (blastopore) के पृष्ठ ओष्ठ (dorsal lip) का निर्माण होता है जो आगे चलकर मीसोडर्म व नोटोकोर्ड का निर्माण करता है।



चित्र—24.1 निषेचित अण्डा

- निषेचन के दौरान निम्न प्रमुख घटनाएँ होती हैं

(i) पीतक झिल्ली का उपर उठना व अण्डे का घूर्णन (Lifting of vitelline membrane and rotation of egg)

(ii) निषेचन झिल्ली का निर्माण (formation of fertilization membrane)

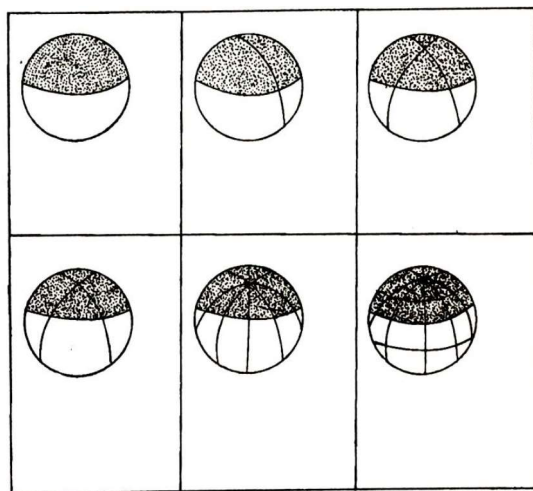
(iii) परिपक्वन विभाजन का पूर्ण होना (completion of maturation division)

(iv) उभयमिश्रण (amphimixis)

(v) द्विपार्श्व सममिति की स्थापना (Bilateral symmetrization)

3. विदलन (Cleavage)

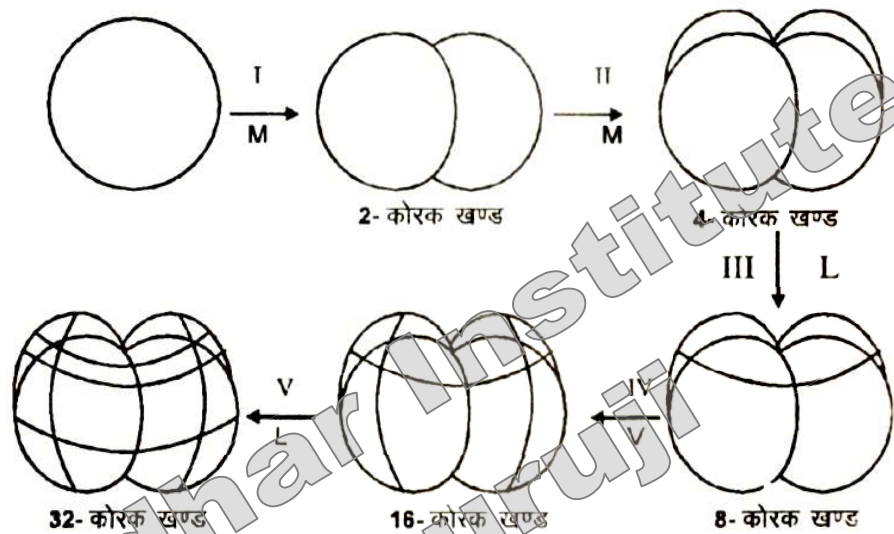
- मेंढक में पूर्ण भंजी असमान विदलन (holoblastic unequal division) पाया जाता है।
- मेंढक में I व II विदलन समान होते हैं व इसके बाद असमान विदलन प्रारम्भ हो जाते हैं।
- प्रथम विदलन निषेचन के लगभग 2½ घण्टे बाद शुरू होता है।



चित्र-24.2 मेंढक में विदलन

क्रम संख्या	विदलन	विदलन तल	समय	कोरक खण्डों की संख्या
1.	Ist	रेखांशिक (Meridional)	निषेचन के 1-2 घण्टे बाद	2
2.	IIInd	रेखांशिक (Meridional)	प्रथम विदलन के 15-30 मिनट बाद	4
3.	IIIrd	अक्षांशीय (Lattitudinal)	II विदलन के 15-30 मिनट बाद	8
4.	IV (डबल)	उदग्र (Vertical)	III विदलन के 15-20 मिनट बाद	16
5.	V (डबल)	अक्षांशीय (Lattitudinal)	IV विदलन 15-20 मिनट बाद	32

- IV व V विदलन खांच दोहरे (double) होते हैं।
- III विदलन खांच के फलस्वरूप सक्रिय ध्रुव की ओर लघु कोरक (micromeres) व अक्रिय ध्रुव की ओर गुरु कोरक (megamere) का निर्माण हो जाता है।
- V वें विदलन के बाद विदलन अनियमित हो जाते हैं। लघुकोरक की ओर



विदलन दर अधिक व गुरुकोरक की ओर विदलन दर कम होती है।

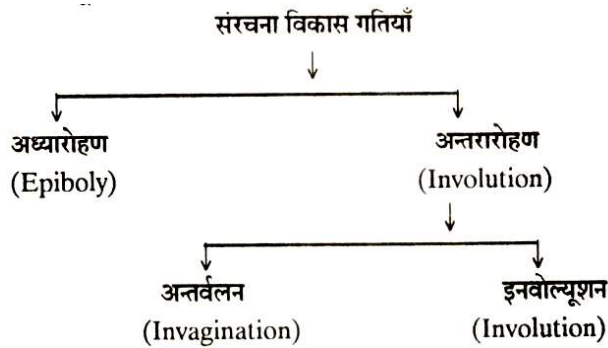
M = रेखांशिक L = अक्षांशीय V = उदग्रयो भार

4. कोरका (Blastula)

- राना टाइग्रिना में मोरुला (morula) अवस्था अनुपस्थित होती हैं।
- कोरक एक खोखली गेंद के समान रचना है। इसमें पायी जाने वाली गुहा को कोरक गुहा (blastocoel) कहते हैं। यह गुहा सक्रिय ध्रुव की ओर पायी जाती है।
- मेंढक के कोरक को एम्फीब्लास्टूला (amphiblastula) कहते हैं।

5. कन्दुकन या गैस्ट्राभवन (Gastrulation)

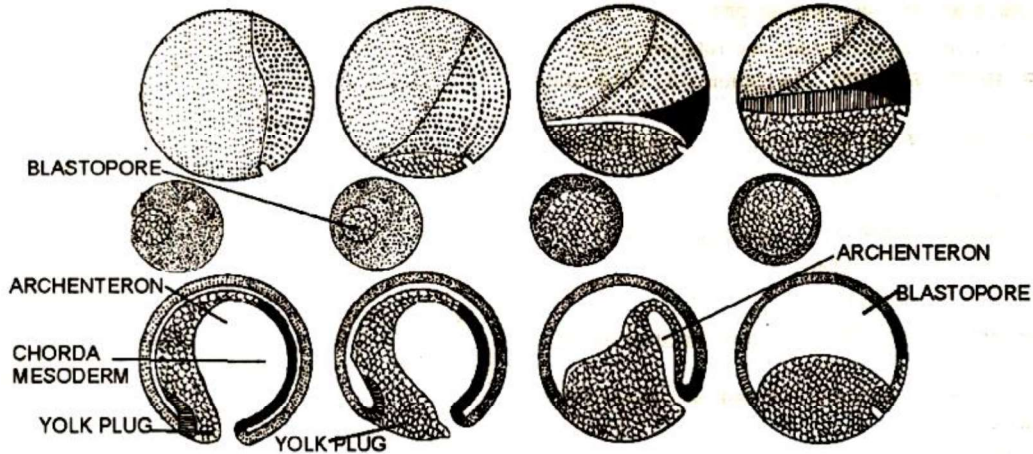
- कन्दुकन में निम्न प्रमुख परिवर्तन होते हैं
 - (i) संरचना विकास गतियाँ द्वारा तीन जनन स्तरों का निर्माण होता है व यह अपने निर्धारित स्थानों पर पहुँच जाती है।
 - (ii) आद्यांत्र (archenteron) गुहा का निर्माण होता है।
 - (iii) कोरक गुहा का विलोपन हो जाता है।
 - (iv) गैस्ट्राभवन के दौरान निम्न संरचना विकास गतियाँ पायी जाती हैं :



(i) अध्यारोहण (Epiboly)

- सक्रिय ध्रुव पर लघुकोरकों (micromeres) में तीव्र विभाजन होते हैं जिसके फलस्वरूप यह अक्रिय ध्रुव की ओर गति करते हैं। इस गति को अध्यारोहण (epiboly) कहते हैं।

- लघुकोरक भविष्य की एकटोडर्म है। इस प्रकार एकटोडर्म अध्यारोहण द्वारा सम्पूर्ण भ्रुण को घेर लेती है।



चित्र-24.4 मेंढक में गैस्ट्रेशन

- यह कोशिकाएँ कोरक रन्ध्र तक गति करती हैं।

(ii) अन्तर्वलन (Invagination)

- इस दौरान अक्रिय ध्रुव पर स्थित गुरुकोरक कोशिकाएँ भीतर की ओर धंसने लगती हैं।
- इससे आद्यान्त्र (archenteron) का निर्माण आरम्भ हो जाता है। आद्यान्त्र के बड़ा होने के साथ-साथ कोरक गुहा छोटी होती जाती है व अंत में विलुप्त हो जाती है।
- आरकेन्ट्रोन एण्डोडर्म द्वारा अस्तरित होती है। इससे भविष्य की आहारनाल का निर्माण होती है।

(iii) इनवोल्यूशन (Involution)

- मेंढक में अन्तर्वलन के साथ-साथ इनवोल्यूशन होता है। इस दौरान नोटोकार्डल कोशिकाएँ (कोरडामीसोडर्म) व मीसोडर्मल कोशिकाएँ वर्तन (rolling) प्रदर्शित करती हैं। कोशिकाओं की गति इस प्रकार होती है कि यह कोरक रन्ध्र से होकर भीतर प्रवेश करके अपने ही नीचे वर्तन (rolling) कर लेती हैं।

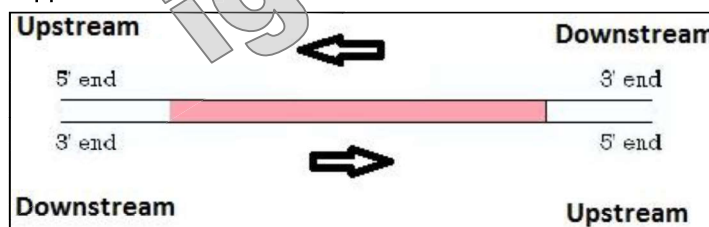


चित्र-24.5 इनवोल्यूशन

- इनवोल्यूशन में दो चरण पाये जाते हैं-अभिसरण (convergence) अपसरण (divergence)
- कोरडामीसोडर्म व मीसोडर्म कोशिकाओं का गति करते हुए कोरक रन्ध्र पर एकत्रित होना अभिसरण (convergence) कहलाता है। कोरक रन्ध्र से होकर यह कोशिकाएँ भीतर लुढ़ककर पुनः एक दूसरे से दूर जाने लगती हैं। इसे अपसरण (divergence) कहते हैं।
- कोरक रन्ध्र के पृष्ठ ओष्ठ (dorsal lip) पर पहले कोरडामीसोडर्म कोशिकाएँ एकत्रित होती हैं व इनवोल्यूशन द्वारा भीतर प्रवेश करके आद्यान्त्र (archenteron) का निर्माण करती हैं।
- कोरक रन्ध्र के अधर व पार्श्व पर मीसोडर्म कोशिकाएँ एकत्रित होती हैं जो इनवोल्यूशन द्वारा भीतर प्रवेश कर जाती हैं।

difficult to figure out the restriction map. By randomly breaking it into smaller fragments and mapping those, a master restriction map could be deduced.

24. **Shotgun sequencing:** एक larger DNA fragment के sequence का पता लगाया जाता है। इसमें larger fragment को sequenced clone किया जाता है फिर smaller clone की sequencing की जाती है। उस जगह का पता करके जहां subclone overlap करते हैं, larger piece की sequence पता कर ली जाती है। Note that some of the regions will get sequenced several times just by chance.
25. **Solution hybridization:** यह method RNase protection जैसा ही है। इस method द्वारा RNA की complex population में **EK specific mRNA species का level** पता लगाया जाता है। इसमें भी specific radiolabelled probe को RNA से hybridize करवाया जाता है। फिर single-strand specific nuclease enzyme का उपयोग करके बचे हुए unhybridized probe और RNA को खत्म कर दिया जाता है। फिर protected probe को इस mixture से अलग कर लिया जाता है फिर जो radioactivity मिलती है वो mRNA के amount के बराबर होती है। यह बहुत sensitive detection method है।
26. **Stringency:** यह term hybridization की स्थिति का वर्णन करता है। इसमें स्थितियां परिवर्तित करके (salt concentration और temperature vary करके) probe को उसके ठीक complement से hybridize करवाया जाता है। Temperature increase करके या salt concentration decrease करने पर hybridization reaction की selectivity को बढ़ा देती है। इस तरह stringency परिशुद्धता बढ़ती है।
27. **Transfection:** इसके द्वारा experimental DNA को cultured mammalian cells में डाला जाता है। ये experiments usually coding sequences और control regions (promoters, etc) रखने वाले cloned DNA को उपयोग करके किया जाता है। ये प्रयोग मुख्यतः यह जाँच करने के लिए किया जाता है कि क्या cloned DNA में किया गया modification gene को कार्य को प्रभावित कर रहा है?
28. **Transient transfection:** Cultured cells में डालने के बाद DNA 2-3 days तक वहाँ रुक सकता है इसके बाद वो खत्म हो जाता है। इन 2-3 दिनों तक DNA functional होता है और future में इसकी हर functional gene express की जानी होती है Investigators take advantage of this transient expression period to test gene function.
29. **Upstream/Downstream:** RNA में किसी भी reference point के 5' end की ओर का part "upstream" कहलाता है उस point से। यह orientation mRNA synthesis और translation की direction को show करता है। DNA में यह situation थोड़ी जटिल होती है। DNA में 2 strands होते हैं जिसमें से एक strand जो RNA का duplicate होता है। इसीलिए 5' to 3' ends respectively upstream downstream का decide करते हैं। Genome में 2 adjacent genes अलग-अलग strands पर present हो सकती है और opposite direction में हो सकती है।



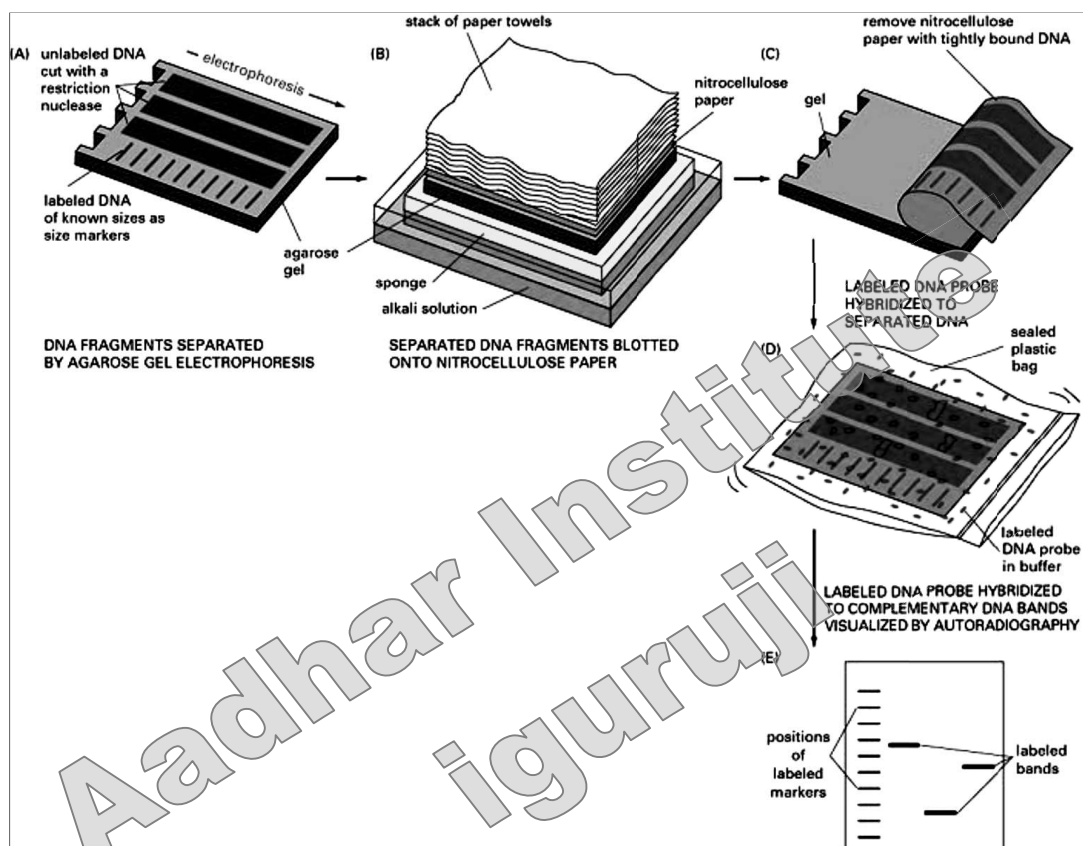
30. **Western blot:** एक particular type की protein की size, presence, abundance पता करने का method. यह Southern या Northern blotting जैसा होता है, लेकिन इसमें (1) acrylamide gel पर protein mixture electrophoresed करवाया जाता है, और (2) antibody, "probe" के तौर पर use की जाती है, जो radioactive secondary probe (जैसे कि ^{125}I -protein A) द्वारा follow की जाती है।

SOUTHERN HYBRIDIZATION

इस technique का नाम इसके inventor, E.M. Southern के नाम से, derive किया गया है:

- DNA-DNA hybridization जो इसका आधार बनाता है। यह Southern blotting भी कहलाता है क्योंकि gel से nitrocellulose filter पर DNA के transfer की प्रक्रियां blotting से समान होती है।

- यह technique RNA (northern blotting) और proteins analysis (western blotting) के लिए extend की गई है। ये नाम केवल शब्दजाल हैं, i.e., Southern का reverse, northern बन जाता है और किसी historical या functional significance को reflect नहीं करते।
- Southern hybridization में अलग अलग sizes के fragments रखने वाले DNA sample को polyacrylamide या agarose gel के प्रयोग से electrophoresis के अधीन किया जाता है। Fragments generate करने के लिए DNA sample को mechanical shearing या restriction endonuclease digestion किया जाता है।
- Agarose gel कुछ hundred से 20 kb तक की size के DNA fragments को अलग करने के लिए उपयोगी है, जबकि polyacrylamide smaller fragments के लिए पसन्द किया जाता है। 1000-2000 kb तक के बहुत long DNA fragments को pulsed electrical field या field inversion द्वारा agarose gel में separate किया जाता है।



- Gel polymeric molecules का एक complex network उपलब्ध करता है जिसके द्वारा DNA fragments गति करते हैं, यह उनकी size पर निर्भर करता है और एक electric field में होता है क्योंकि DNA molecules negatively charged होते हैं।
- Smaller DNA molecules, larger ones के तुलनात्मक रूप से तेज गति करते हैं।
- Known size के marker DNA fragments एक separate lane में दौड़ाये जाते हैं, यह interpolation द्वारा unknown DNA की size के सही निर्धारण को सम्भव करता है।
- Gels को intercalating dye ethidium bromide से stain किया जाता है जो UV light द्वारा gel के illumination पर visible fluorescence देता है, इस dye के प्रयोग से एक band में कम से कम 0.05 µg DNA को भी detect किया जा सकता है।
- यह approach उपयोगी है जब ठीक लम्बाई के कुछ DNA fragments को पृथक किया जाता है और अध्ययन किया जाता है। यह approach एक single DNA molecule के closed circular (supercoiled), nicked (relaxed) या linear configurations को भी पृथक कर सकता है।

कई situations में, एक sample में DNA fragments को ज्ञात करना और पहचान करना कठिन होता है, जो दी गई DNA sequence के लिए complementary है e.g., प्रश्न में दिये गये transgenics में gene की उपस्थिति को दर्शाने के लिए, RFLP (restriction fragment

length polymorphism) को ज्ञात करने के लिए etc. यह Southern hybridization के द्वारा प्राप्त किया जाता है, जहां निम्नलिखित steps किये जाते हैं: -

1. Agarose gel में उपस्थित DNA के restriction fragments (electrophoresis के बाद) को alkali treatment के द्वारा single-stranded form में denature किया जाता है।
2. फिर इन्हें एक nitrocellulose filter membrane पर transfer किया जाता है; यह एक buffer से saturated filter paper पर gel को स्थित करके किया जाता है, फिर gel के शीर्ष पर nitrocellulose filter membrane को रखा जाता है और अन्ततः इस membrane पर कुछ dry filter papers रखे जाते हैं। Capillary action के कारण buffer bottom filter paper से gel के द्वारा move करता है और gel में उपस्थित denatured DNA को अपने साथ ले जाता है; DNA nitrocellulose membrane में फंस जाता है, जैसे ही buffer इसके द्वारा गुजरता है। इस प्रक्रिया को blotting कहा जाता है और यह पूर्ण होने में कई घंटे लेता है। Membrane पर bands की सापेक्ष स्थितियां gel की तरह ही होती हैं और resolution (sharpness) का minimal loss होता है।
3. Blotting stack से अब nitrocellulose membrane हटा दिये जाते हैं और membrane को *in vacua* (यानी निर्वात में) 80°C पर bake करके DNA को permanently immobilize किया जाता है।
4. Nitrocellulose filter membrane के लिए single-stranded DNA high affinity रखता है (Note कीजिए कि यह affinity RNA में नहीं होती है)। इसलिए baked membrane को एक solution के साथ treat किया जाता है। जो Ficoll (sucrose का एक artificial polymer), poly-vinyl-pyrrolidone और bovine serum albumin प्रत्येक का 0.2% रखता है; इस mixture को अक्सर एक असंगत nucleic acid के साथ supplement किया जाता है, जैसे tRNA (pretreatment)। यह treatment radioactive probe की nonspecific binding को prevent करता है (जो next step में उपयोग किया जाएगा) probably membrane की सभी free binding sites पर macromolecules को जोड़ के अक्सर उपर दिया गया mixture hybridization reaction में समावेशित होता है।
5. Pretreated membrane को एक ऐसे solution में रखा जाता है जो radioactive, single-stranded DNA या एक oligodeoxynucleotide (एक DNA segment जो कुछ nucleotides से कई nucleotides तक रखता है) जिसे probe कहा जाता है, रखता है। **Name probe यह signify करता है कि यह DNA molecule gel/membrane में ऐसे DNA fragment को detect और identify करने के लिए use किया जाता है जो probe के लिए complementary है।** इस step के समय स्थितियां इस प्रकार चुनी जाती हैं कि probe lowest non-specific binding के साथ membrane पर complementary DNA से bind करता है, इस step को hybridization reaction कहा जाता है।
6. Usually hybridization की high rate पर करने के लिए initial hybridization reaction, hybridization की low stringency की स्थितियों में किया जाता है; यह increasing stringency के post-hybridization washes की एक series से अनुसरण होता है। i.e. higher temperature या more commonly, lower ionic strength, related sequences से radioactive probe की pairing अलग करने के नजरिये से और केवल सटीक complementary pairing को करने के लिए।
7. Hybridization reaction के बाद, अलग किये गये probes हटाने के लिए membrane को wash किया जाता है। Membrane अब एक X-ray film के साथ निकट सम्पर्क में रखा जाता है और इच्छित period के लिए incubate किया जाता है, यह radioactive probes को film पर images बनाने के लिए सहायक होता है। Distinct bands को जाहिर करने के लिए film को विकसित किया जाता है, यह gel में DNA fragments की स्थितियों को प्रदर्शित करता है, जो अध्ययन के लिये इस्तेमाल किये गये radioactive probes के लिए complementary है।
 - यह दिमाक में रखा जाना चाहिए कि sheared या restricted DNA का electrophoresis एक धब्बा बनाता है, जहां fragments उनकी size के अनुसार एक श्रृंखला में वितरित होते हैं और कोई अलग bands नहीं होते हैं। Distinct bands gel में उपस्थित एक या कुछ fragment sequences के साथ selected probe के hybridization reaction से उत्पन्न होते हैं।
 - Southern blotting technique बहुत ज्यादा sensitive है। यह किसी genome (even man का) में एक single copy gene sequence के चारों तरफ restriction sites को map करने के लिए उपयोग की जा सकती है। यह DNA finger printing के लिए, RFLP maps की तैयारी के लिए, transgenic individuals में transferred genes के ज्ञात करने और identification etc. के लिए उपयोग की जाती है।

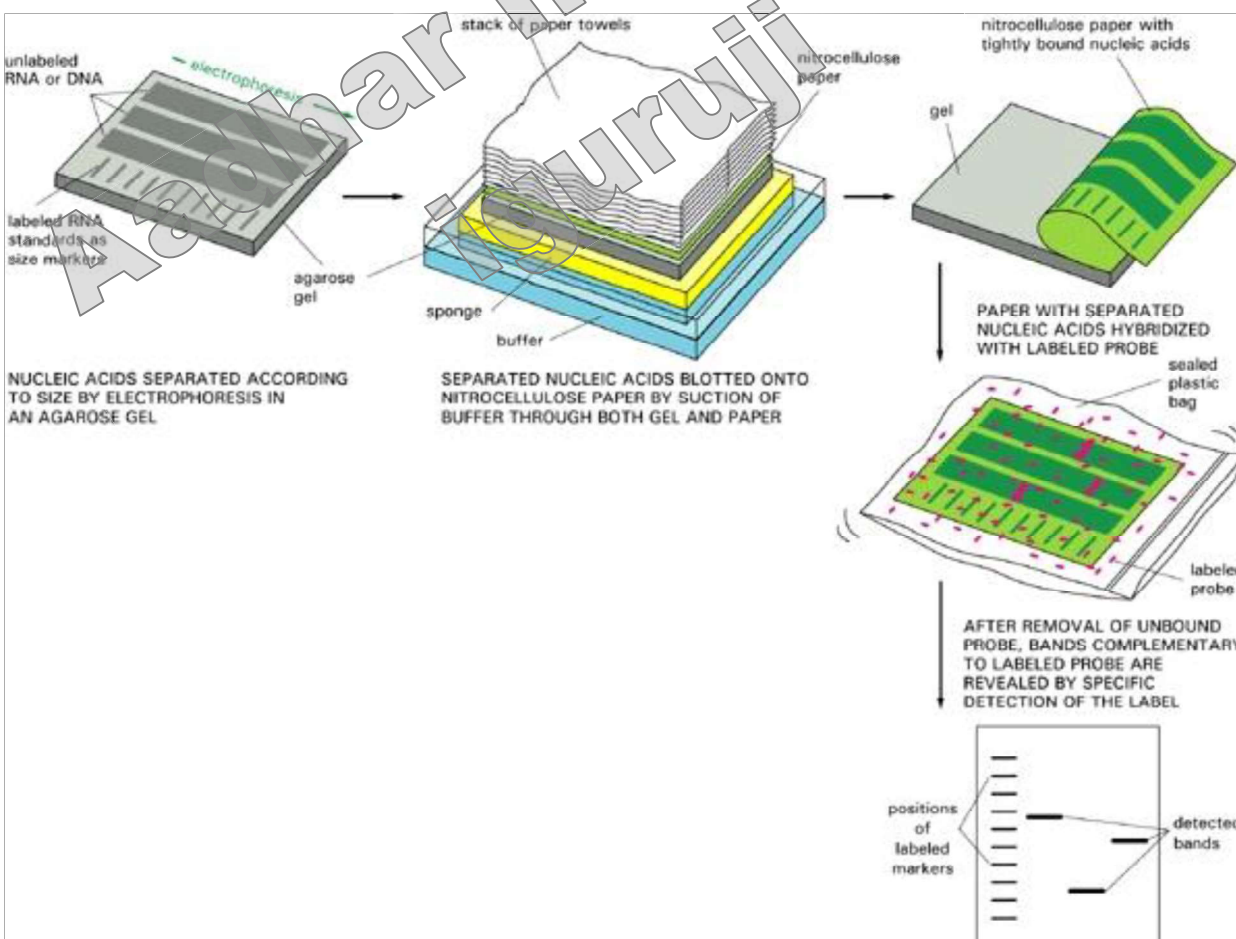
अभी हाल ही में, कुछ नये membrane materials, e.g., nylon membranes विकसित किये गये हैं जो निम्नलिखित फायदेमंद features रखते हैं: - (1) वे nitrocellulose filter membranes के मुकाबले में physically मजबूत हैं, (2) UV light के brief exposure से RNA और DNA दोनों ही cross-link हो जाते हैं, यह (3) *in vacua* baking के लिए आवश्यक समय को बचाता है, जो nitrocellulose membrane के case में आवश्यक है, और (4) same membrane blot, e.g., एक membrane जिस पर एक gel से DNA/RNA

transfer किया गया है और UV-exposure से cross-link किया गया है, एक से ज्यादा probe की खोज के लिए उपयोग की जा सकती है, यदि प्रारम्भ में probe को high temperature या किसी दूसरे denaturing procedure से remove कर दिया जाये; दूसरे शब्दों में nylon membranes फिर से काम में लेने योग्य है।

NORTHERN HYBRIDIZATION

इस technique में gel electrophoresis द्वारा अलग किये गये RNA bands को एक उपयुक्त membrane पर transfer किया जाता है e.g., diazobenzylxymethyl (DBM) paper या nylon membranes और immobilized किया जाता है, bands को radioactive single-stranded DNA probes के hybridize किया जाता है और hybridization show करने वाले bands को autoradiography द्वारा ज्ञात किया जाता है।

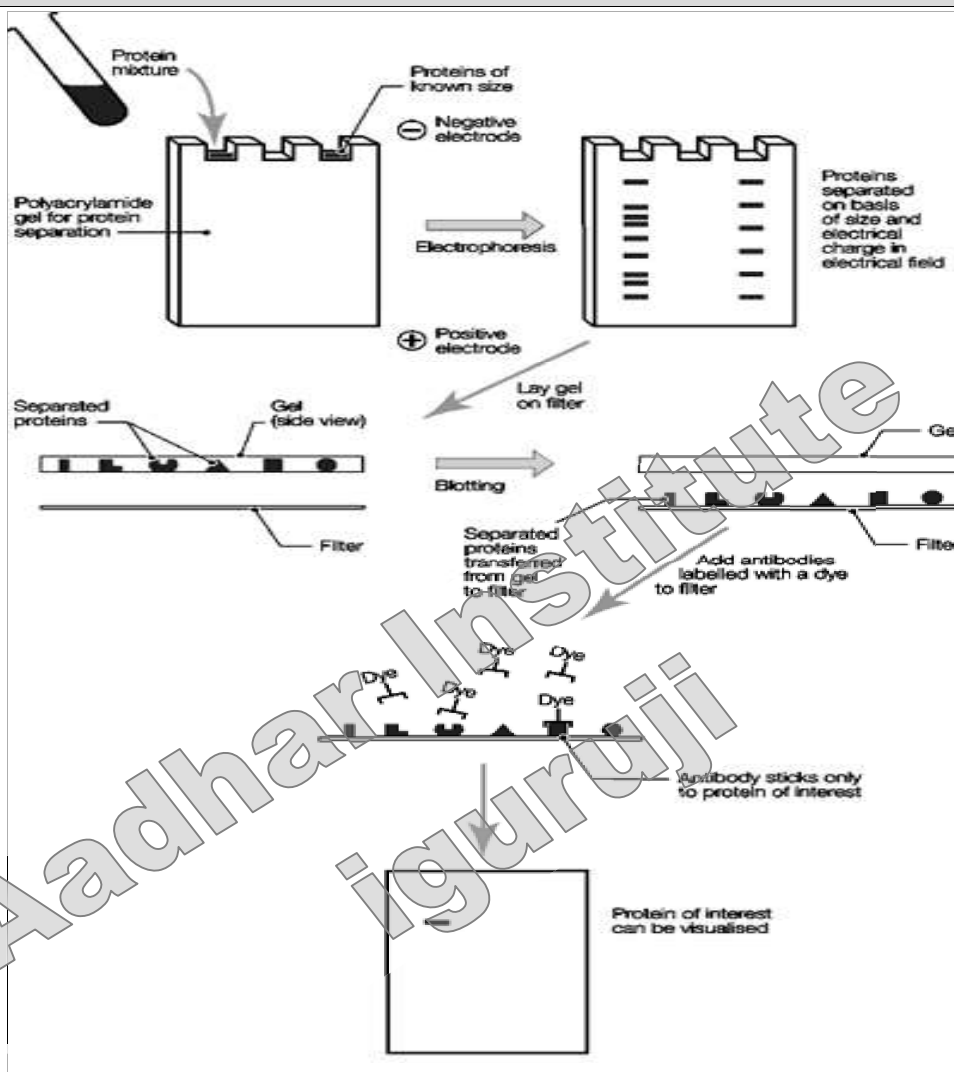
साफ रूप से, northern blotting hybridization, Southern blotting technique का सामान्य विस्तार है। जबकि, दोनों तकनीकें निम्नलिखित अन्तर प्रदर्शित करती हैं: (1) Southern hybridization में gel electrophoresis द्वारा DNAs को अलग किया जाता है जबकि northern blotting में RNAs को अलग किया जाता है। (2) एक परिणाम के अनुसार, Southern hybridization में blotting से पहले DNA को denature किया जाता है, जबकि northern hybridization में इस step की आवश्यकता नहीं होती है; (3) Nitrocellulose membrane ज्यादातर northern hybridization के लिए उपयोग नहीं की जाती, जबकि यह Southern hybridization के लिए अक्सर उपयोग की जाती है; और अन्ततः (4) Probe के साथ hybridization Southern में DNA : DNA hybrid molecules produce करता है लेकिन northern hybridization में RNA : DNA molecules produce करता है।



Initially, northern blotting के लिए विशेष रूप से बनाया गया paper (diazobenzylxymethyl, DBM, paper जो aminobenzylxymethyl paper के diazotization से prepare किया गया है) उपयोग किया गया क्योंकि RNA nitrocellulose membrane से bind नहीं करता। RNA, DBM paper से covalently bound हो जाता है, जिसके कारण ये blot transfers reusable होता है। DBM, denatured DNA से bind करने के लिए भी समान रूप से प्रभावी है, और small DNA fragments से bind करने के लिए nitrocellulose से ज्यादा सक्षम है। आज कल विकसित nylon membranes DBM paper के उपयोग को हटा चुकी है, वे मजबूत

है और पुनर्पयोगी है और UV light के brief exposure से RNA से bind (by cross-linking) करती है। Northern hybridization RNA के identification और separation के लिए useful है जो एक specific DNA probe के लिए complementary है, यह एक DNA sequence के transcription के detection के लिए sensitive test है जो probe की तरह उपयोग किया जाता है।

WESTERN BLOTTING



Western blotting में, proteins का एक polyacrylamide gel में electrophoresis किया जाता है, nitrocellulose या nylon membrane (जिससे वे strongly bind करते हैं) पर transfer किया जाता है और protein bands को antibodies, lectins या दूसरे compound के साथ उनके specific interaction से ज्ञात किया जाता है। इस technique के कई steps नीचे दर्शाये गये हैं:-

1. Polyacrylamide gel electrophoresis द्वारा protein bands को अलग किया जाता है।
2. Protein bands को एक nitrocellulose या nylon membrane पर transfer किया जाता है, प्रारम्भ में यह Southern blotting (capillary blotting) की तरह capillary movement से प्राप्त होता था, लेकिन आजकल यह सामान्यतः electrophoresis (electrophoretic blotting) के द्वारा किया जाता है। Electrophoresis Southern और northern hybridization के blotting step के लिए भी लागू किया जाता है, इन cases में low ionic strength का buffer (electrophoresis के समय overheating को avoid करने के लिए) और nylon membranes (क्योंकि nucleic acids केवल high ionic strength की conditions में ही nitrocellulose membranes से bind करते हैं) को उपयोग किया जाता है। **Proteins और nucleic acid दोनों की electrophoretic blotting capillary blotting से ज्यादा तेज और प्रभावी है।**
3. Specific protein bands को कई तरीकों से identify किया जा सकता है:-

- (i) Specific antigens को detect करने के लिए antibodies को most commonly probes की तरह use किया जाता है।
- (ii) Glycoproteins के identification के लिए lectins को probes की तरह उपयोग किया जाता है। ये probes खुद radioactive हो सकते हैं या इनसे एक radioactive molecule tag किया जा सकता है। अक्सर पहचानने की प्रक्रिया एक 'sandwich' reaction पर आधारित होता है।

इस प्रकार के approach में एक species-specific secondary antibody या *Staphylococcus aureus* का protein A (protein A IgG antibodies की कुछ subclasses से bind करता है) या streptavidin (यह biotinylated antibodies से bind करता है), protein bands से bound antibodies से bind करने के लिए उपयोग किया जाता है।

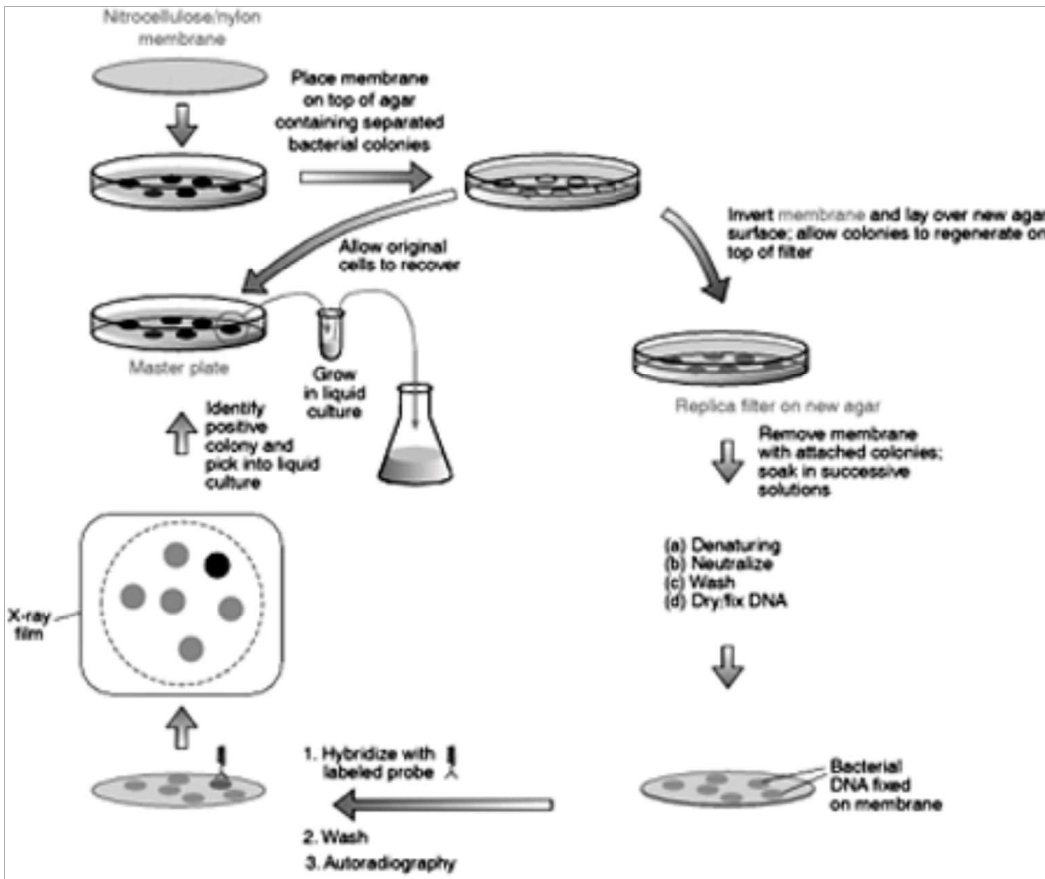
ये secondary antibody molecules radioactive, enzyme या fluorescent tags से labelled हो सकते हैं; इन labelled molecules की एक single preparation को अलग अलग probes के लिए general detector की तरह काम में लिया जा सकता है।

COLONY HYBRIDIZATION

यह technique एक plate में उन bacterial colonies को पहचानने के लिए उपयोग की जाती है जो एक specific DNA sequence रखती हैं। ये bacterial colonies उन bacteria के द्वारा प्राप्त की जाती हैं जिनमें यह sequence genetic engineering के द्वारा प्रेरित की गई थी। जिनमें यह sequence hybridization experiment में काम में लिया गया probe के द्वारा प्रदर्शित किया जाता है। Colony hybridization के procedure को नीचे संक्षिप्त वर्णन किया गया है: -

1. Transformation के लिए काम में ली जाने वाली bacterial cells को एक उपयुक्त agar की plate पर plate किया जाता है, यह master plate है।
2. Master plate की colonies को एक nitrocellular filter membrane पर replica plate किया जाता जो agar medium पर रखी गई है। Replica plating के लिए, master plate के लिए उपयुक्त व्यास का एक लकड़ी का या cork का block velvet cloth से ढक दिया जाता है। इस block को sterilize किया जाता है और master plate में नीचे तक किया जाता है, जब तक velvet सभी colonies को touch करता है, block को हटा लिया जाता है और धीरे से nitrocellulose filter पर रख दिया जाता है, इस प्रकार velvet पर sticking bacterial cells filter पर transfer हो जाते हैं, बाद में उपयोग करने के लिए इस master plate को ऐसे के ऐसे रखा जाता है। Master plate और replica plate दोनों पर एक reference point लगाया जाता है जो बाद में तुलना करने को सुविधा जनक करता है।
3. Colonies appear होने के बाद filter agar plate से हटा दिया जाता है और bacterial cells को lyse करने के लिए alkali के साथ treat किया जाता है। यह इन cells से released DNA को भी denature करता है।
4. Filter को proteinase K के साथ treat करके proteins को digest किया जाता है और remove किया जाता है; denatured DNA filter से bound रहता है।
5. DNA को fix करने के लिए filter को अब 80° C पर bake किया जाता है; यह समान relative positions पर bacterial colonies के DNA-print प्राप्त करता है, जो master plate पर colonies के लिए है।
6. Filter को अब radioactive probe के साथ hybridize किया जाता है; probe transformation के लिए used DNA segment को represent करता है। Unhybridized probe को बार बार धोने के द्वारा remove किया जाता है।
7. जिन colonies के DNA probe के साथ hybridize हो जाते हैं, वे autoradiography के द्वारा detect किये जाते हैं, केवल ये colonies autoradiographs में दिखाई देती हैं।

Autoradiograph में दिखाई देने वाली colonies की positions को masterplate के साथ तुलना की जाती है, उन colonies को पहचान करने के लिए DNA segment को रखती है। Colonies को आगे अध्ययन के लिए उठा लिया जाता है। इस प्रक्रिया का एक और रूप phage plaques पर भी प्रयुक्त किया जाता है।



DOT BLOT TECHNIQUE

यह technique non-fractional gel electrophoresis के लिए लागू नहीं किया गया है। DNA में दिये हुए DNA/RNA sequence की उपस्थिति को जानने के लिए उपयोग की जाती है। एक single test run में कई tissues/individuals से sample DNA's को test किया जा सकता है। Dot blots कई संदिग्ध transgenic individuals में transfer की गई sequence की उपस्थिति को ज्ञात करने के लिए उपयोगी है और इस प्रकार के कई individuals में या एक single individual के अलग अलग tissues में specific mRNA की उपस्थिति को ज्ञात के लिए। Dot blot का सामान्य प्रक्रिया छोटे रूप में नीचे बताई गई है:-

1. Different individuals या tissues के sample DNAs (या RNAs) को एक nitrocellulose filter पर dots के रूप में transfer किया जाता है, कई samples को एक single filter पर dot-blot किया जाता है। एक sample DNA या RNA एक individual या tissue से extracted total DNA या RNA है।
2. DNA को पहले denature कर लिया जाता है और फिर filter पर DNA को अच्छी तरह से स्थाई करने के लिए 80°C पर सेका जाता है। Filter से probe की non-specific binding को रोकने के लिए, filter को अब सही तरीके से pretreat किया जाता है।
3. Filter को फिर hybridization favour करने वाली परिस्थितियों में उचित radioactive single-stranded DNA probe के साथ treat किया जाता है। Free probe हटाने के लिए filter को अब बार बार धोया जाता है।
4. उचित DNA या RNA sequence रखने वाले dots radioactive probes के साथ hybridize करेंगे। ये dots autoradiography के द्वारा ज्ञात किये जाते हैं, autoradiograph में dot की तीव्रता sample में DNA या RNA की मात्रा को प्रदर्शित करता है।
5. Autoradiograph में दिखाई देने वाले dots उन individuals या tissues को दिखाते हैं जिनमें probe के अनुसार ही DNA या RNA sequence प्रदर्शित होती है। Transgenic individuals के case में, Southern hybridization को dot blot positive individuals के लिए और अधिक सटीक जानकारी प्राप्त करने के लिए उपयोग किया जा सकता है कि प्रश्न में दी गई sequence genome में integrate होती है या नहीं और कहां integrate होती है।

CHAPTER : 5

CHROMATOGRAPHY

Mikhail Tswett ने 1906 में discover किया जिन्होंने plant pigments की separate किया।

Archer Martin और R.L.M Singe को 1952 में partition chromatography की प्रक्रिया develop करने के लिए Nobel Prize मिला।

सिद्धान्त:- two phases- stationary & mobile – Mass distributed adsorbed on material particle or absorbed into pores of particles.

- **Rate of travel of individual solute molecule through a column or thin layer of sorbent is directly related to partition of molecular between the mobile phase and stationary phase.**

$R_f \text{ value} = \frac{\text{Distance traveled by solute front}}{\text{Distance traveled by mobile (solvent) front.}}$

Partition Chromatography (PC)

Partition coefficient: दो phase में solution की concentration का ratio.

Partition chromatography में mobile phase (solvent) स्वयं को sorbent में पूरे column में समान रूप से वितरित कर लेती है। लेकिन solute का वितरण partition coefficient के अनुसार होता है।

Partition chromatography

Stationary phase	Mobile phase
1. Water	Alcohols – (n-butanol, isobutanol)
2. Water + Acid/alkali	Hydrocarbon
3. Aquatic alcohol	Ethyl acetate
4. Alcohol	Ethylene glycol monomethyl ether pyridine.
5. Glycols (ethylene, propylene glycols)	

Compounds को पहचानने और विश्लेषण के तरीके :

1. Coloured components को आसानी से देखकर पहचाना जा सकता है।
2. अगर वे रंगहीन है तो UV. Lamp द्वारा।
3. Chemical treatment (phenol may be developed by ferric chloride and vice versa) से।
4. Viscosity, density और Refraction index में आने वाले परिवर्तनों को पहचान कर।
5. Radio isotopic तरीकों से।

ADSORPTION CHROMATOGRAPHY

Stationary phase solid होता है और mobile phase या तो liquid होता है या gas components का separation differential absorption के कारण होता है जो distribution coefficient पर निर्भर करता है।

$$K = \frac{\text{Amount of solute per unit of stationary phase A}}{\text{Amount of solute per unit of mobile phase B}}$$

यह ज्यादातर substance के temperature और concentration पर depend करता है। A और B के बीच खींचा गया graph मुश्किल ही linear होता है ज्यादातर यह concave या convex रहता है। क्योंकि adsorption coefficient पर निम्न का प्रभाव पड़ता है:-

- मिलने वाले substance की concentration
- System में दूसरे components का दबाव।

सन्तोषजनक adsorbent के लिए आवश्यकता:-

- वह examine करने वाले solution और elution में प्रयोग किये गये solvent में घुलनशील नहीं होना चाहिए।
- वह रंगहीन होना चाहिए।
- Chemically inert होना चाहिए।

Because adsorption coefficient is affected by

- Concentration of substance sought.
- Pressure of other components in the system.

Requirement of satisfactory adsorbent are:-

- It should not be soluble with the solution under examination and with the solvent used for elution.
- It is desirable to be colorless.
- Should be chemically inert.

कुछ प्रमुख adsorbent $\Rightarrow$ Sucrose, Cellulose, Starch, CaCO_3 , CaSO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaO , Charcoal.

Mobile phase का चयन करने से पहले दो बातें ध्यान रखनी चाहिए:-

- Solvent should satisfy the practical factors such as suitable viscosity, stability comparability with detection solubility with respect to the sample.
- कम समय में ज्यादा से ज्यादा resolution provide करायें।

Column की efficiency निम्न कारणों से प्रभावित होती है:-

- Column की dimension
- Column packing की particle size
- Adsorbent की activity
- Column का तापमान
- Solvent की quality
- Column की packing

Column chromatography की सफलता निम्न कारकों पर निर्भर करती है:-

- Adsorbent का nature
- Solvent का nature
- Column में solvent के flow की दर
- Column की dimension
- Adsorbent की particle size
- Separation के दौरान column का temperature

ADSORPTION CHROMATOGRAPHY के लाभ और कमियां

- Partition chromatography से easy होता है।
- चूंकि एक solid और एक mobile phase use की जाती है इसलिए यह विधि ज्यादा uniform और reproducible होती है।
- एक जैसे molecules के mixture के separation के लिए यह विधि काम में ली जाती है।
- ज्यादा मात्रा में sample के होने पर यह partition chromatography से ज्यादा suitable है।
- उन components के mixture के separation में use की जाती है जो polarity और structure में widely differ करते हैं।

PARTITION CHROMATOGRAPHY के लाभ और कमियां :-

- Adsorption chromatography से ज्यादा resolution देते हैं।
- Mixture के low concentration के लिए use की जाती है।

3. चूंकि molecular weight में कम अन्तर भी partitioning को affect करता है। इसलिए homologous series के separation के लिए यह एक अच्छी विधि है। Adsorption non-polar या कम polar molecules के लिए use किया जाता है जबकि partition polar molecules के लिए।

Elution:- Columns तीन तरीकों से elute किये जाते हैं:-

1. सबसे simple तरीके में एक single solvent column में लगातार flow करता है। यह ion exchange और gel chromatography में use किया जाता है।
 2. Stepwise या Batch elution $\Rightarrow$ Preparatory purpose के लिये काम में लिया जाता है। एक के बाद दूसरा solvent use किया जाता है और इस तरह स्थितियों को arrange किया जाता है कि कम volume में भी material elute किया जा सके।
 3. Gradient elution $\Rightarrow$ इसमें या तो दो solvents का ratio change किया जाता है या solvent के components में एक या दो की conc. घटाई या बढ़ाई जाती है।
1. Support of columns and its character sties define the type of marks that can be done by them. Their size is described as **mesh size**. Size of particle that can pass through standard sieve.
- 50 – 100 mesh $\Rightarrow$ Preparative application के लिए high flow rate.
- 100-200 mesh $\Rightarrow$ Analytical work के लिए standard material.
- 200 – 400 mesh $\Rightarrow$ ज्यादा resolution वाले analytical work के लिए।
- > 400 mesh $\Rightarrow$ बहुत ज्यादा resolution जैसे कि HPLC के लिये।
- * जितना ज्यादा particle छोटा होगा surface to volume ratio उतना ही ज्यादा होगा।
- अगर flow rate बहुत ज्यादा हो तो separation कम होगा क्योंकि mobile phase के molecules को stationary phase के molecules के साथ equilibrium बनाने के लिये पर्याप्त समय नहीं मिलेगा।

PAPER CHROMATOGRAPHY

- Matrix specially बनाया गया filter paper होता है।
- Result of difference because of partition coefficient

Procedure = paper पर drop डाली जाती है और close chamber में migration करवाया जाता है।

Chamber ascending है $\rightarrow$ mobile phase ऊपर की तरफ जाएगी।

Chamber descending है $\rightarrow$ mobile phase नीचे की तरफ जाएगी।

Chamber Radial है $\rightarrow$ तो central spot से बाहर की तरफ flow होगा।

= यह सब कुछ paper की capillary action के कारण होता है।

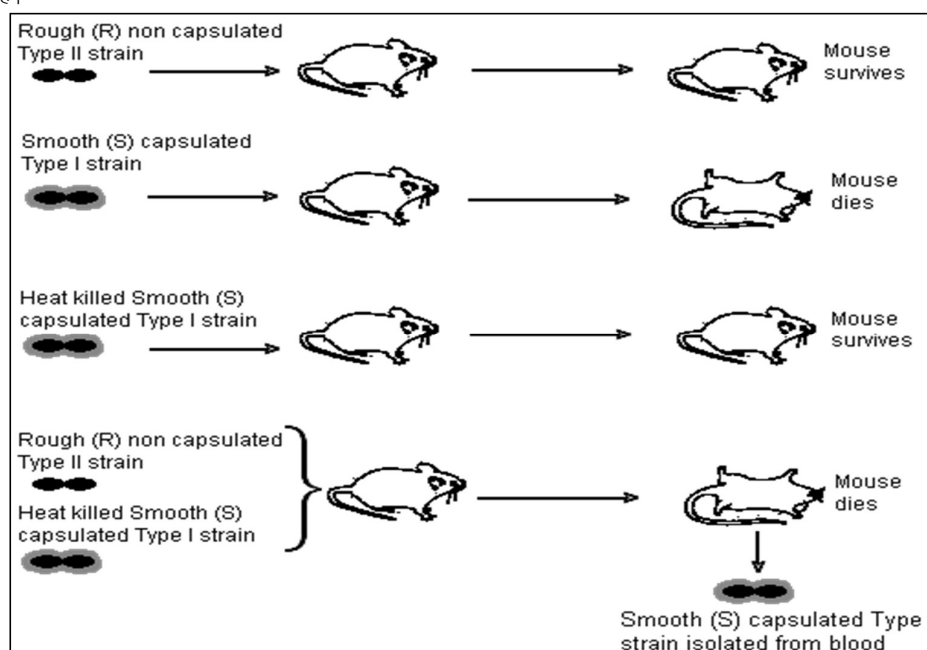
$$R_f \text{ value} = \frac{\text{Distance traveled by component from origin line}}{\text{Distance traveled by the solvent from origin line}}$$

CHAPTER : 6

BACTERIAL GENETICS

TRANSFORMATION

Transformation में एक recipient द्वारा दिये गये, free naked DNA को donor अपने अन्दर ग्रहण कर लेता है। ये bacteria में genetic exchange का पहला example था। पहली बार 1928 में Griffith ने इसे प्रायोगिक रूप से सिद्ध किया था। उन्होंने पाया कि जिन *Pneumococci* bacteria में capsule होती है वो smooth (S) appearance strain के होते हैं और जिन pneumococci में capsules नहीं होते वो rough (R) strain माने जाते हैं।

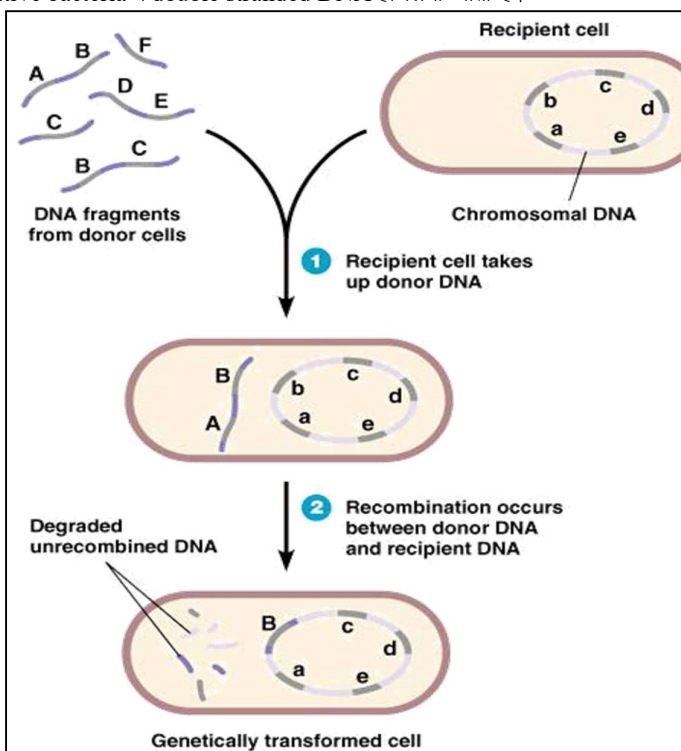


- ii. Type I/Smooth capsuled pneumonia, virulent या जानलेवा पाये गये और उनके infection से mouse की मृत्यु हो जाती है, परन्तु rough strain pneumococci (type II) हानिरहित पाये गये।
- iii. Griffith ने यह भी पाया कि जब mouse में live non-capsulated (R, type II) strains और heat killed capsulated (S, type I) strains का mixture inject किया जाता है तो भी mouse की death हो जाती है।
- iv. अगर इन दोनों bacterias को अकेले inject किया जाता है तो mouse की death नहीं होती परन्तु इनका mixture घातक होता है। Capsule के साथ कुछ live S strains को isolate किया गया, animal के blood में से जिससे पता लगा कि dead S cells के कुछ factors R strain को S type में convert कर देते हैं। Factor जिसकी वजह से ये transformation हुआ वो DNA है, ये **Avery, McLeod और McCarty ने 1944 में बताया।**

Transformation एक प्रकार का gene transfer है जो कि donor cell द्वारा दिये गये DNA का recipient cells द्वारा uptake करने की वजह से होता है। कुछ bacteria (जैसे: *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pneumococcus*) environment में से DNA ले सकते हैं और लिया गया DNA recipient के chromosome में incorporate हो जाता है।

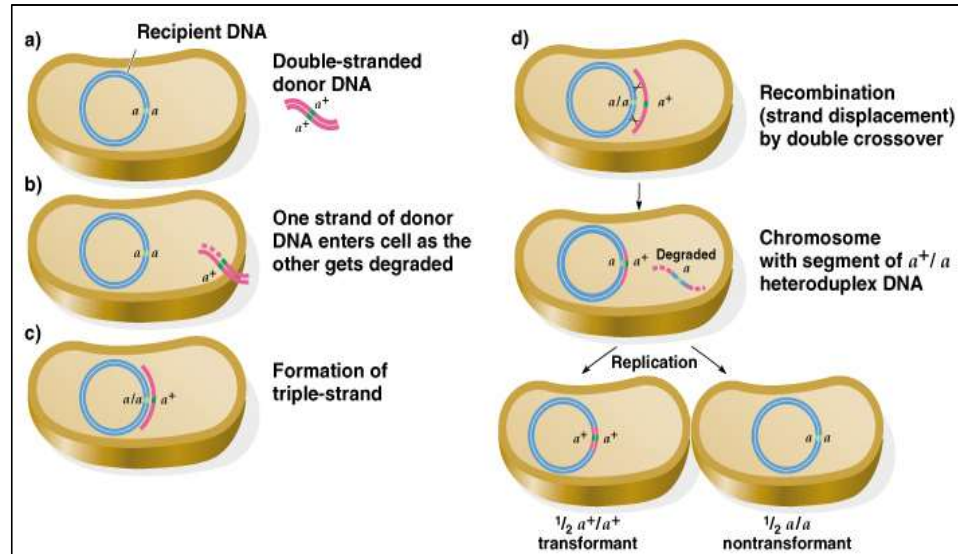
ऊपर दिये हुए **Transformation में निम्न steps** निहित होती हैं:

1. जब Donor bacterium मर जाता है और degrade होने लगता है।
2. Dead donor bacterium का एक DNA fragment (ज्यादातर 20 genes long होते हैं) DNA binding proteins से bind हो जाता है जो component living cell की cell wall पर उपस्थित होते हैं।
3. फिर nuclease enzymes bound DNA को fragments में काट देता है।
4. एक strand नष्ट कर दी जाती है और दूसरी recipient bacterium में प्रवेश हो जाती है।
5. Rec A protein, donor DNA के fragment और recipient's DNA के बीच में genetic exchange (recombination) बढ़ावा देता है। कुछ bacteria, naturally ही DNA ले लेते हैं, परन्तु ये bacteria अपनी growth cycle (log phase) के particular time पर ही DNA ले सकते हैं जब वो एक specific protein competence factor उत्पन्न करते हैं। Gram positive और gram negative द्वारा DNA का uptake different होता है। Gram positive bacteria में DNA एक single stranded molecule की तरह लिया जाता है और complementary strand, recipient में ही बनाई जाती है, परन्तु Gram negative bacteria में double stranded DNA ही लिया जाता है।



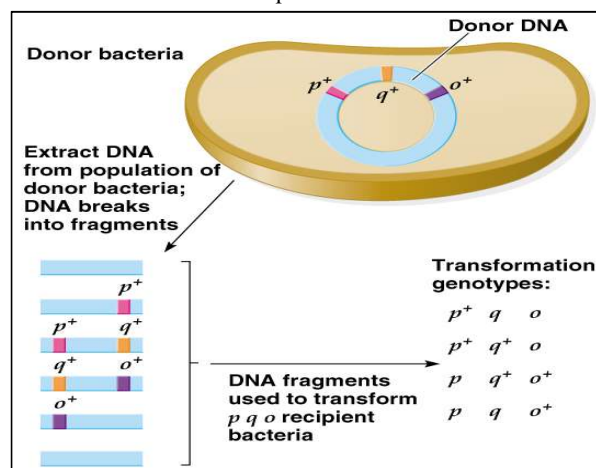
Mapping by Transformation: Transformation mapping की जानकारी से हम known genotype के bacterial strain के DNA को दूसरे known genotype के strain में जोड़ते हैं, परन्तु ये इनके 2 या ज्यादा loci पर different allele होंगे। हम फिर देखेंगे कि donor allele का recipient strain के bacteria में समावेश (incorporation) हो सकता है क्या? जितना ज्यादा, 2 loci के alleles host में साथ-साथ समावेश (incorporate) होते हैं, उतने ही ज्यादा ये loci एक दूसरे के पास होते हैं। इसीलिए हम index of co-occurrence जो कि map distance के साथ विपरीत संबंध में है, का उपयोग कर सकते हैं। जितनी ज्यादा co-occurrence होगी, उसने ही ज्यादा 2 loci पास होंगे।

1. सबसे पहले, हमें DNA लेना होगा – हम ये किसी अच्छे से bacteria isolate करके कर सकते हैं। Transformation द्वारा mapping उन स्थितियों में की जाती है जबकि conjugation या transduction द्वारा यह संभव नहीं होता।
 - i. Donor DNA को निकाल कर purify करके fragments में तोड़ा जाता है जो recipients के साथ incubate करने पर उसमें चला जाता है। इससे donor और recipient में पहचाने जाने योग्य phenotypic (genotypic भी) अन्तर दिखने लगते हैं।
 - ii. अगर DNA fragment अन्दर जाकर recipient chromosome के साथ homologous recombination करता है तो recipient एक नए phenotype को दिखाएगा जिसे अलग अलग testing द्वारा पता लगाया जा सकता है।
2. कुल cells जिन्हे एक नए DNA से expose किया जाता है उनका बहुत कम प्रतिशत ही complete transformation कर पाता है।



3. Transformation experiments यह सुनिश्चित करने के लिए किए जाते हैं कि

- genes linked तो नहीं हैं
 - Transformation छोटे DNA fragments जिनमें कुछ ही genes होते हैं के साथ सबसे अच्छा काम करता है।
 - Co-transformation दो genes के एक दूसरे के पास होने का indication है इसे गणितीय रूप से analyse किया जा सकता है।
 - प्रायोगिक रूप से दो genes अगर बहुत पास हैं तो co-transformation की संभावनाएँ हमारी आशाओं से भी ज्यादा होगी।
 - यदि co-transformation का rate genes के अलग-अलग transformation rate के बराबर है तो इसका मतलब है कि वे genes linked हैं।
- Genetic map पर genes का order निकालना
 - माना कि दो genes (p+q) co-transform होते हैं और linked हैं इनमें से एक (माना q) gene o के साथ co-transformation show करता है तो उनके बीच का distance उनकी co-transformation frequency के अनुसार analyse किया जाता है जैसे कि gene p और o rarely co-transform होते हैं तो gene order होगा p-q-o
 - अगर p और o frequency co-transform होते हैं तो gene order होगा p-o-q
- Genes के बीच का map distance recombination frequencies द्वारा निकाला जाता है।



CONJUGATION:

Bacterial conjugation, DNA का एक **living donor** bacterium से **living recipient** bacterium में transfer को कहते हैं।

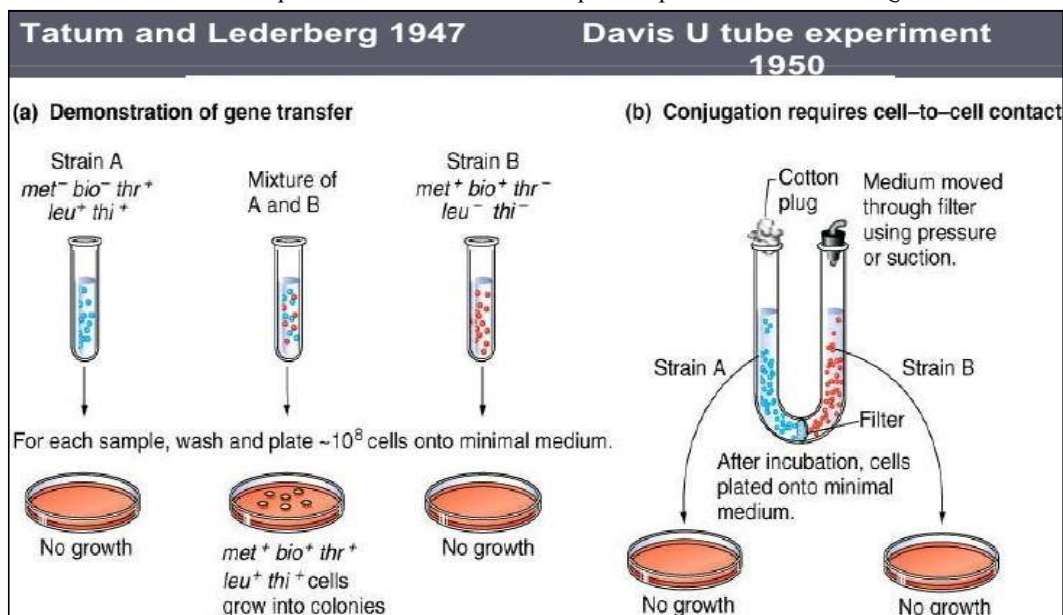
Leiderburg and Tatum ने E-coli के दो auxotrophic mutant का प्रयोग करते हुए conjugation की खोज की।

- Strain A's genotype $\text{met}^- \text{bio}^- \text{thr}^+ \text{leu}^+ \text{thi}^+$ था। यह methionine और biotin द्वारा supplement किये हुए minimal media पर grow करता था।
- Strain B's genotype $\text{met}^+ \text{bio}^+ \text{thr}^- \text{leu}^- \text{thi}^-$ था। यह threonine, lucine और thymine द्वारा supplement किये हुए minimal media पर grow करता था।

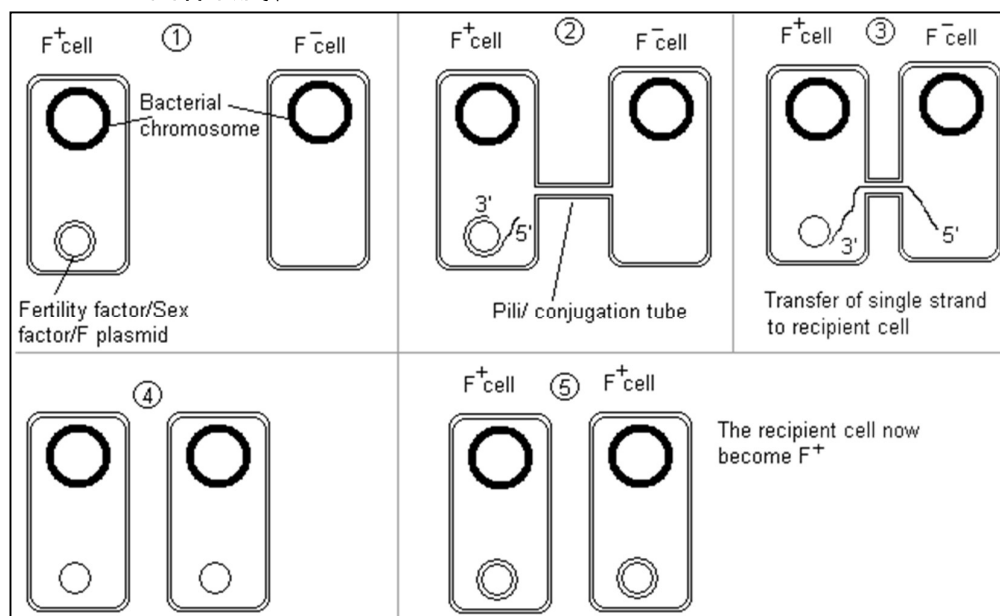
- c) strain a और b को mix किया गया और minimal media पर plating करने से $1/10^6$ cells met^+ , bio^+ , thr^+ , leu^+ , thi^+ phenotype वाली प्राप्त हुई।
- d) ना तो strain a और ना ही strain b minimal media पर grow कर सकता था। इससे सिद्ध हुआ कि यह नया phenotype recombination की वजह से पैदा हुआ था।

a) Davis ने यह जॉच की कि cell to cell contact की आवश्यकता है या नहीं।

- A. इसके लिए उन्होंने strain a को filter के एक तरफ और strain b को दूसरी तरफ रखा। इस filter के आर पार molecules तो गुजर सकते थे लेकिन cells नहीं।
- B. जब cells को minimal media पर plate किया गया तो किसी तरह की prototrophic colonies प्राप्त नहीं हुई।



- b) Plasmids double-stranded circular DNA का एक small autonomously replicating circular piece होता है। Conjugation में plasmid का एक donor bacterium से recipient bacterium में transfer होता है। Gram-negative bacteria में plasmid का transfer bacteria के same strain या closely related strains में ही होता है। कुछ plasmids को F factor (F plasmid, fertility factor या sex factor) कहा जाता है क्योंकि इनमें ऐसे genes होते हैं जो खुद के transfer में मदद करते हैं।



- c) एक cell में F factor स्वतंत्र रूप से replicate करता है। ये **genes sex pilus** और जरूरी **enzymes** के लिए **code** करते हैं। जिन **cells** में **F plasmids**, **F⁺** होता है वो **male** होते हैं और **donors** की तरह कार्य करते हैं। जिन **cells** में ये plasmid अनुपस्थित होता है वो **F⁻** (female) होते हैं और **recipient** की तरह कार्य करते हैं। वे सभी plasmids, जिनकी वजह से उनकी **host cell**, conjugation के दौरान **donor** की तरह कार्य करती है, वो **transfer factor** कहलाते हैं। हर **F⁺** Gram negative bacterium में 1 से 3 sex pili होते हैं, जो कि **recipient bacteria** पर उपस्थित विशेष **outer membrane protein** से जुड़ते हैं और **mating** की शुरुआत करते हैं। फिर **sex pilus**, वापस खींच लिया जाता है जिससे दोनों **bacteria** संपर्क में आ जाते हैं और दोनों, **cells** में सीधे **envelop to envelop** संपर्क हो जाता है।
- d) Gram-positive bacteria में कुछ चिपचिपे **surface molecules** स्त्रावित होते हैं, जो कि दो **bacteria** को पास (contact) में लाते हैं। Gram-positive donor bacteria, **adhesins** produce करता है जो कि उन्हें इकट्ठा करवाता है और इस दौरान **sex pili** शामिल नहीं होते। फिर **DNA**, donor से recipient में स्थानांतरित हो जाता है।
- e) Plasmid-mediated conjugation, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus lactis* और *Enterococcus faecalis* में पाया जाता है और Gram-positive bacteria में Gram-negative bacteria की तुलना में कम पाया जाता है।

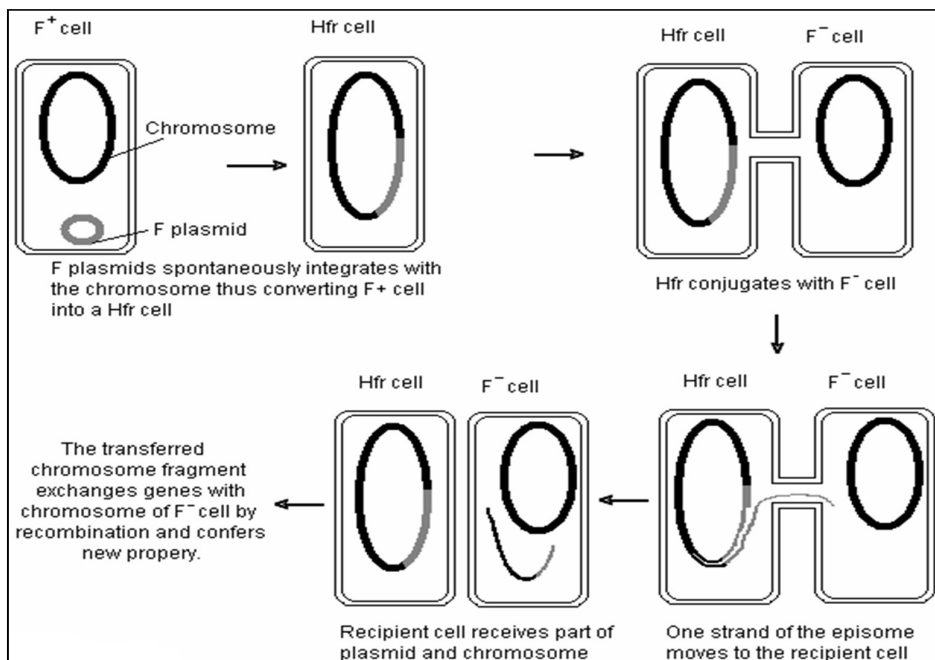
F⁺ conjugation:

इसकी वजह से एक **F⁺** plasmid (जो सिर्फ sex pilus के लिए coding करता है) का donor bacterium से female recipient bacterium में स्थानांतरित होता है लेकिन **chromosomal DNA** का नहीं। Plasmid की दोनों strands separate हो जाती हैं और एक **strand recipient bacterium** में प्रवेश हो जाता है और **5' से 3' direction** में बढ़ता जाता है लेकिन एक **strand donor** में ही रहती है। दोनों **donor** और **recipient cells** दोनों में **complimentary strand** संश्लेषित हो जाते हैं। फिर recipient भी एक **F⁺** male बन जाता है और sex pilus बना सकता है। Conjugation के दौरान सिर्फ **DNA** ही donor से recipient में pass होता है, ना कि **cytoplasm** या कोई **cell material**।

Mating pairs को force द्वारा ही अलग किया जा सकता है जिससे conjugation रुक जाता है अर्थात् **mating pairs** बहुत थोड़े समय के लिए ही जुड़े रहते हैं। Conjugation के बाद, **cells** अलग हो जाती है। अगर **successful conjugation** होता है तो **recipient F⁺** बन जाता है और **donor F⁺** बना रहता है।

Hfr (high frequency recombinant) conjugation:

- a) जब किसी recombination event के द्वारा Plasmids, bacterial chromosome के साथ integrate हो सकता है,
- b) यह integration दोनों DNA के बीच की **homology** पर निर्भर करता है। Integration के बाद दोनों plasmid और chromosome, एक **single unit** की तरह replicate करते हैं। एक plasmid जो किसी chromosome में integrate(जुड़ने) करने में सक्षम होता है उसे **episome** कहते हैं। अगर F-plasmid chromosome में integrate(जुड़ जाता है) होता है तो उसे **Hfr cell** कहते हैं। Integration के बाद, दोनों chromosome और plasmid को recipient cell में conjugally transfer किया जा सकता है। इन्हे **Hfr cell** इसीलिए कहलाते हैं क्योंकि वे **chromosomal genes** को **high frequency** से recipient cells में conjugally transfer कर सकते हैं।



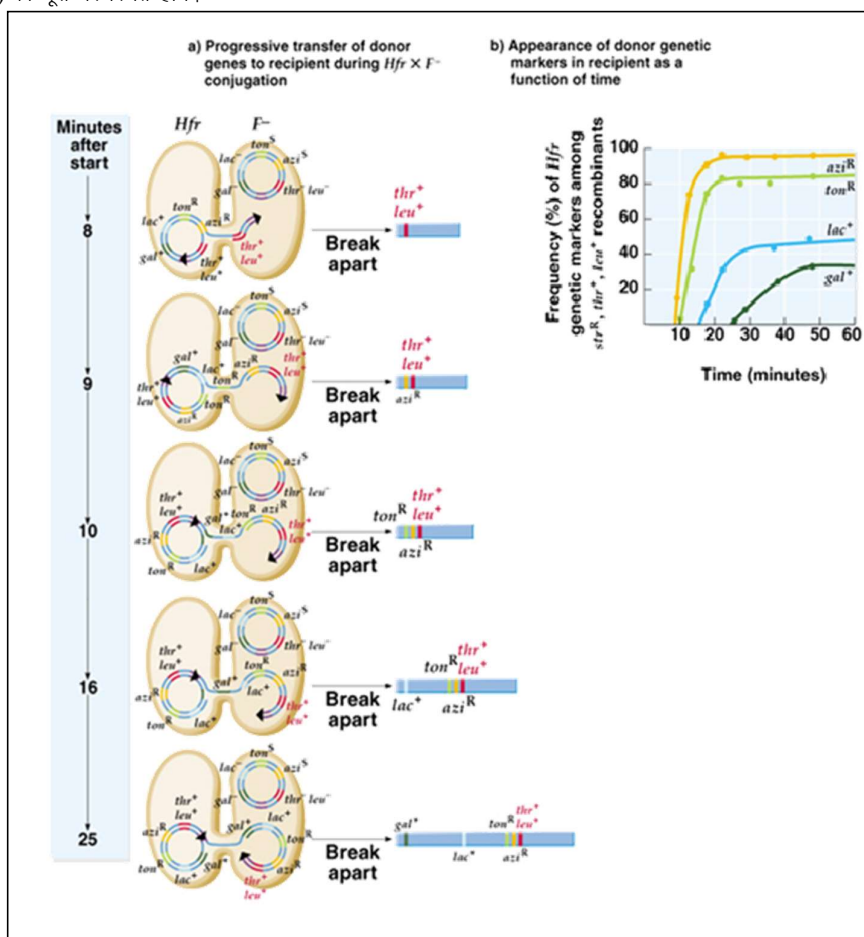
- c) DNA को origin of transfer पर काटा किया जाता है और फिर DNA replicate होता है। एक DNA strand, F^- cell में cytoplasmic bridge के द्वारा pass होती है, जहाँ complementary strand का संश्लेषित होता है। Integrated plasmid के साथ ही, chromosome भी F^- cell में जाता है। पूरा ही chromosome के transfer होने से पहले ही bacterial connection टूट जाता है। इसलिए F^+ plasmid का बचा हुआ कभी कभी ही recipient में प्रवेश हो पाता है। ज्यादातर Hfr chromosome के साथ साथ plasmid का सिर्फ एक छोटा हिस्सा ही, conjugation के दौरान recipient cell में transfer होता है। इसलिए recipient cell पूरा F factor receive नहीं कर पाते।
- d) Conjugation के बाद Hfr cell, Hfr ही रहती है और F^- negative cell भी F^+ नहीं बनता और F^- ही बना रहता है, परन्तु transferred chromosome का fragment, F^- cell के chromosome से recombine हो जाता है जिसकी वजह से recipient cell में कुछ नई properties transfer हो जाती है।

जब chromosomal material recipient cell में होता है, तो recombination हो जाता है:

- Recombination, double stranded होता है।
- Donor genes, recipient cell में recombine होते हैं।
- Recipient cell के corresponding genes, chromosome के बाहर recombine होते हैं और फिर cell में reabsorb हो जाते हैं।

Interrupted Mating Mapping

- 1 Conjugation start होने के साथ ही जो genes origin of replication site (replication की दिशा में) के पास होते हैं वो pili में से सबसे पहले move होते हैं।
2. एक set time के बाद, conjugation अवरुद्ध हो जाता है, जो genes origin of replication के close से, सिर्फ वही conjugate करेंगे। जितना लम्बा समय, उतनी ही ज्यादा उनकी conjugate करने की ability होगी।
3. Notice करो कि कौन से genes recombine हुए, और जो genes recombine हुए वो origin of replication से X distance (conjugation time-distance) की दूरी पर स्थित होंगे।



F-plasmids के different strains और interrupted mating technique, उपयोग करके हम chromosome पर genes का क्रम निर्धारित कर सकते हैं।

इकोटोन तथा एज प्रभाव (Ecotone and Edge Impact)

इकोटोन वह स्थान है जहाँ दो समुदाय आपस में मिलते हैं तथा एक दूसरे से प्रभावित क्षेत्र होते हैं इस क्षेत्र में दोनों समुदाय के कारक उपस्थित रहते हैं व इनकी वानस्पति भी दोनों से भिन्न पायी जाती है। जैसे जलाशय व स्थलीय समुदाय जहाँ मिलते हैं वहाँ के पादप दोनों से भिन्न पाये जाते हैं इसी प्रकार पहाड़ों की तराई क्षेत्र में भी विशिष्ट प्रकार के पादप मिलते हैं। इकोटोन में मिलने वाले पादप अनुकूलन की दृष्टि से अच्छी तरह से अनुकूलित होते हैं। इन क्षेत्रों में पादपों की संख्या सामान्यतः अधिक मिलती है जिसे लियोपोल्ड (1933) में ने एज प्रभाव (Edge effect) का नाम दिया। इकोटोन में अधिक संख्या में पादपों की उपस्थिति इसी एज प्रभाव के कारण रिपोर्ट की गयी। पेटन (Patton) (1975) के अनुसार इसका प्रभाव दोनों समुदाय के समान (common) क्षेत्र का फैलाव, लम्बाई व प्रकृति पर निर्भर करता है। केनोपी कवर (Canopy cover)- यह जमीन पर प्रतिशत रूप में पादप द्वारा घेरा गया स्थान केनोपी कहलाती है यह लीफ एरिया इन्डेक्स (Leaf area index) द्वारा निकाला जाता है।

$$LAI = \frac{\text{कुल पत्तियों का क्षेत्र (एक स्तरीय भाग)}}{\text{जमीनी इकाई क्षेत्र}}$$

$$= \frac{\text{Total leaf area (one surface only)}}{\text{Unit ground area}}$$

जैव विविधता सूचकांक (Biodiversity Index)

समुदाय की जैव विविधता घनत्व द्वारा निम्न विधियों द्वारा ज्ञात की जाती है

(i) शेनन विवर सूचकांक (Shannon weaver index)

$$H = 1 - \sum \frac{H1}{n}$$

यहाँ H-एकल जाति की विविधता सूचकांक है

H1 = एक जाति की खुद का घनत्व

n = सभी जातियों का कुल घनत्व

(ii) सिम्पसन सूचकांक (Simpson index)

$$D = 1 - \sum (p_i)^2$$

D सूचकांक संख्या, S जाति के सदस्यों की संख्या $p_i = i$ जाति के सभी सदस्यों का अनुपात यदि किसी समुदाय में जाति A के 4 सदस्य हैं तथा जाति B के 1 सदस्य है तो

(iii) ओडम का सूचकांक (Odum index)

$$\text{Odum Index} = \frac{\text{नमूने में जाति के सदस्यों का नम्बर}}{\text{सभी जातियों के सदस्यों की कुल संख्या}}$$

विविधता का आंकलन (Measurement of diversity)

किसी पारिस्थितिकी तंत्र की विविधता ज्ञात करने के लिये सर्वप्रथम किसी सर्वप्रथम समुदाय की पादप जातियों की संख्या को ज्ञात करते हैं तथा घनत्व निकालते हैं तत्पश्चात शेनन

विविधता इन्डेक्स इस प्रकार निकाला जा सकता है।

पारिस्थितिक तंत्र	I	II	III
(1) केशिया जाति	30	80	2
(2) एकेशिया जाति	20	60	120
(3) टेफ्रोशिया जाति	10	60	60
(4) एनोजीसस जाति	40		
बहुलता (Richness)	4	3	3
समानता	0.92	0.88	0.99
विविधता (H)	0.56	0.39	0.47

$H = - \sum p_i \log p_i$, $p_i = n_1/n$ जहाँ n_1 प्रत्येक जाति का घनत्व तथा n सभी जातियों का घनत्व है।

ECOLOGICAL SUCCESSION

ECOLOGICAL SUCCESSION IN A COMMUNITY

Hult (1885) ने जब Southern Sweden की communities का अध्ययन किया तब “Succession” की term को पहली बार प्रयोग किया। However, succession की authentic study को **Cowles** (1899) और **Clements** (1907) ने America में शुरू किया।

परिभाषा : किसी क्षेत्र विशेष में, एक निश्चित समय के लिये अलग अलग प्रजातियों की एक क्रमबद्ध श्रृंखला को succession कहते हैं।

SERE: यह plant-succession का विशेष उदाहरण है। शब्द sere को plant communities की श्रृंखला के अध्ययन हेतु वर्णन करते हैं।

As: In water - **Hydroseres**;
 In dry condition **Xeroseres**;
 On rock surface **Lithoseres**.

Sere शब्द plant communities की sequence का वर्णन करने के काम आता है। Ecological succession से सम्बन्धित महत्वपूर्ण सिद्धान्त

Important General Principles Associated with Ecological Succession

1. एक विशिष्ट स्थान में कौन सी प्रजाति मौजूद रहेगी, यह वहा का physical environment ज्ञात करता है।
2. **Succession community** नियंत्रित होता है, यानि succession आस पास के physical environment के modification से environment को बदलता है, ताकि environment वर्तमान community से एक अलग community के लिए favorable हो जायें।
3. **Ecological succession directional** होता है - और इसलिये **predictable** होता है।
4. Succession एक स्थापित प्रजाति में खत्म होता है, जिसे ecological climax कहते हैं। यह क्षेत्र विशेष के physical environment के साथ equilibrium में होता है और खुद को स्थिर रखता है।
 - सामान्यतः area के external disturbance, e.g., fire की वजह से वह area पहले की successional stage में चला जाता है। Ecosystem की यह stage, जहाँ वो equilibrium में हो, में रहने की tendency Homeostasis (developing और maintaining stability) का अच्छा उदाहरण है।
5. जितनी ज्यादा diversity होगी उतनी ज्यादा stability होगी

Types of Ecological Succession

1. **Primary Succession**: उस क्षेत्र में शुरू होती है, जो पहले किसी प्रजाति से भरा हुआ नहीं होता, e.g., newly exposed rock. वहाँ कोई मृदा नहीं होती। मृदा, टूटी हुई चट्टानों + organic matter (humus और small living organisms) का मिश्रण है। वहा biological material के उत्पादन साथ साथ primary succession बहुत धीरे धीरे होता है,
2. **Secondary Succession**: उस क्षेत्र पर शुरू होता है जहाँ पहले से ही एक community रहती थी यह पहले से स्थापित soil पर शुरू होता है। इसमें primary succession की तुलना में biological material का उत्पादन बहुत ज्यादा होता है।

Ecological succession में progressive development को निम्न प्रकार बताते हैं:-

- (a) मृदा में मुख्य रूप से विकास के दौरान, गहराई का बढ़ना, कार्बनिक पदार्थ का बढ़ना और अलग अलग सतहों के विभेदन का बढ़ना होता है। Plant communities के strata में origin, height, massiveness & differentiation सभी बढ़ जाते हैं।
- (b) धरातल के पौधों का घनत्व बढ़ता है तो प्रजाति में microclimate को उस प्रजाति की विशेषताओं से ज्ञात करते हैं।

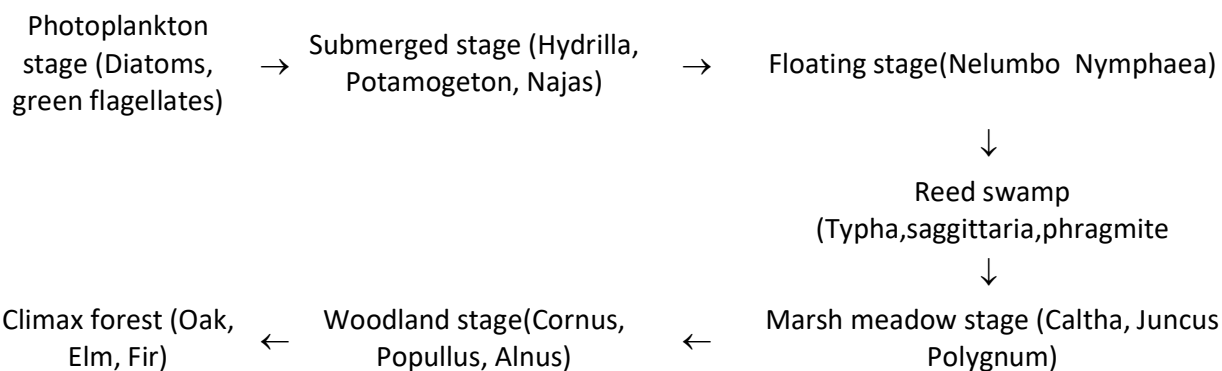
- (c) इसमें species की diversity simple से complex (in early succession) या richer community (of late succession या mature) होती जाती है।
- (d) Pioneer stages की population और density समय के साथ space के gradient के साथ साथ बढ़ती घटती रहती है। interspecific और intraspecific competition के कारण एक दूसरे को replace करती है। Succession के दौरान replacement की rate धीमी होती जाती है, इस प्रकार smaller & ephemeral (short-lived) pioneer species का replacement larger & longer-lived से हो जाता है।
- (e) इसके परिणाम स्वरूप, communities की relative stability बढ़ जाती है और final community जिसे 'climax stage' कहते हैं।

PATTERNS OF SUCCESSION

Succession को habitat के type & moisture की अलग अलग मात्रा के आधार पर निम्न प्रकार से परिभाषित करते हैं: —

HYDROSERE: ये pond में शुरू होते हैं, यह कुछ phytoplanktons के colonization से शुरू होता है, जिसमें ferns pioneer community होती हैं और अनन्त: ये forest या climax community में terminate हो जाते हैं। Hydrosere की अलग अलग stages निम्न हैं:

- (1) Phytoplankton stage:** ये pioneer community को बनाते हैं, pond के primitive medium में कुछ blue green algae, green algae, diatoms और bacteria सबसे पहले colonize करते हैं। Soils की pH 5 से अधिक तक कम नहीं होती है। ये कुछ समय के लिए multiply & grow करते हैं।
- (2) Rooted submerged stage:** Death & decay के परिणाम स्वरूप phytoplanktons का composition और आस पास की भूमि से आने वाला rain water और pond water के wave action से इनकी mixing silt के साथ हो जाती है। ये तालाब के नीचे से soft mud के रूप में विकसित होती हैं। ये एक नया आवास है जो हल्का उथला है और जहां प्रकाश आसानी से प्रवेश नहीं कर सकता है। ये rooted submerged hydrophyte के विकास के लिए उपयुक्त है। जैसे: - Myriophyllum, Elodea, Hydrilla, Potamogeton, Vallisneria और Ultricularia etc. ये plants आगे death & decay से substratum बनाते हैं। इस habitat में इन plants का replacement दूसरे प्रकार के plants हो जाता है जो floating-leaved types के होते हैं।
- (3) Rooted floating stage:** अब पानी की गहराई लगभग 2-6 feet है। ये पौधे rhizomes के द्वारा इस habitat में colonise होते हैं। ये सभी rooted hydrophyte होते हैं, जिनकी बड़ी पत्तियाँ पानी की सतह पर तैरती हैं। Example: - Nelumbo, Nymphaea, Limnathemum, Aponogeton, Monochoria, Trapa etc. कुछ free floating species जैसे Azolla, Lerna, Wolffia, Pistia, Spirodella, Salvinia भी rooted plants के साथ सम्बन्धित हो जाते हैं। अब पानी की सतह बहुत कम होने से तालाब उथला हो जाता है। इन पौधों की मृत्यु से decomposing organic matter प्राप्त होते हैं, जो कि और आगे substratum बनाते हैं। इस प्रकार, इस क्षेत्र से तैरने वाली प्रजाति अभी या बाद में विलुप्त हो जाती है।
- (4) Reed swamp stage:** इसे amphibians stage भी कहते हैं, चूंकि इसमें plant community rooted होती है, पर इनका ज्यादातर तने वाला भाग (assimilatory organ) हवा से expose होता है। इस स्थिति में पौधे जैसे कि Scirpus, Typha, Sagittaria और Phragmites etc. होते हैं। इनका rhizome अच्छी तरह विकसित होता है और ये एक dense vegetation बनाते हैं। अब पानी का स्तर और ज्यादा कम होने के कारण ये अन्ततः इन amphibians species के विकास के लिये अनुपयुक्त हो जाता है।
- (5) Sedge-meadow stage:** Substratum के और आगे परिवर्तन और पानी की स्तर के लगातार कम होने से इस क्षेत्र में Cyperaceae और Gramineae की species जैसे कि Carex, Juncus, Cyperus और Eleocharis etc. विकसित हो जाती हैं। ये तालाब के बीच में इनके branched rhizomatus system के कारण एक जाल जैसी vegetation बनाते हैं। परिणाम स्वरूप, वाष्पोत्सर्जन की दर ज्यादा होने से पानी का ज्यादा नुकसान होता है और कभी ना कभी कीचड़ वायु की ओर expose हो जाता है।

Hydrosere**LITHOSERE**

Lithosere: खुली चट्टानों पर होने वाले Biotic succession को Lithosere कहते हैं।

1. खुली चट्टानों पर स्थापित होने वाले पहले जीव हैं। lichens, जो acid निर्माण करते हैं, जो चट्टान की सतह का क्षरण करता है। Organic remains etc. के समय समय पर जुड़ने से substratum की संरचना में chemical और physical परिवर्तन होते हैं। Pioneer lichens, crustose lichens (Graphis, Rhizocarpon) होते हैं। ये Crustose lichens foliose lichen (Parmelia) से प्रतिस्थापित हो जाते हैं, जिससे चट्टान का बहुत ज्यादा क्षरण होता है।
2. **Moss stage:** Foliose lichen, hardy mosses (large sized, gregarious plant bodies, जिन पर rhizoids पाये जाते हैं, rocks में ज्यादा गहराई तक प्रवेश करते हैं) को रास्ता देते हैं, जो ज्यादा मृदा और organic matter एकत्रित करते हैं।
परिणाम स्वरूप, substratum लम्बे समय तक नम रहता है और अन्ततः चट्टानों का क्षरण शुरू होता है। यह स्थान अब next invasion के लिए तैयार हो जाता है।
3. **Grass stage:** वर्षा ऋतु के दौरान mosses का जाल जो fragmented rock के ऊपर निर्मित होता है, पर्याप्त रूप से नम हो जाता है, और अब इसके बाद घास के बीच अंकुरित (Poa, Heteropogon, Dristida etc.) हो जाते हैं। इनकी जड़ें मिट्टी में गहराई तक चली जाती हैं, जिससे और आगे विखंडन होता है। ज्यादा नमी और मिट्टी के बढ़ने के साथ next succession की stage स्थापित की जाती है।
4. **Shrub stage:** Xerophytic shrubs के बीच rhizomes, grasses (Zizyphus, Rhus, Rubus etc.) से ढके हुए क्षेत्र में प्रवेश करते हैं जिससे shrub गहराई तक penetrate करते हैं, जिससे की बहुत ज्यादा विखंडन होता है।
ये area को ढकते हैं, उसको ज्यादा आर्द्र बनाते हैं और trees और दूसरे organisms को आमंत्रित करते हैं।
5. **Climax stage :** कई hardy और प्रकाश की मांग करने वाले trees, shrubs से ढके हुए क्षेत्र में विकास करते हैं। धीरे धीरे वातावरण बहुत नम और छायादार हो जाता है और climax community क्षेत्र में फैल जाती है।

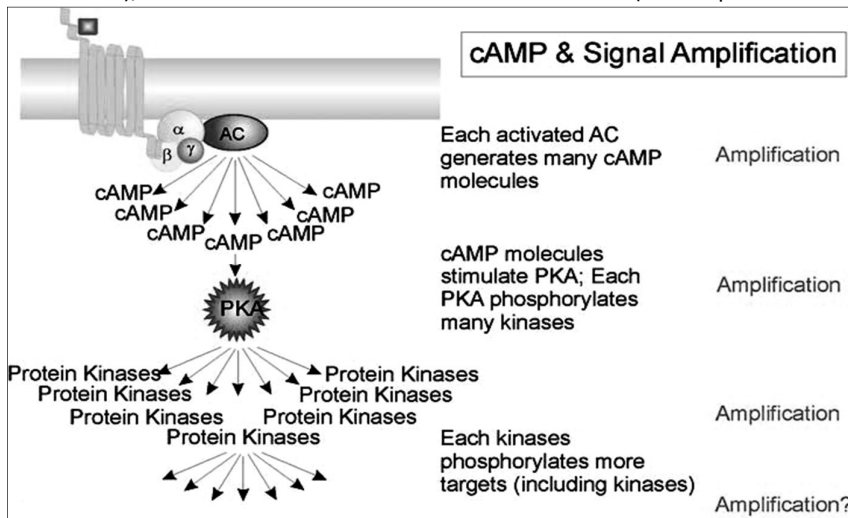
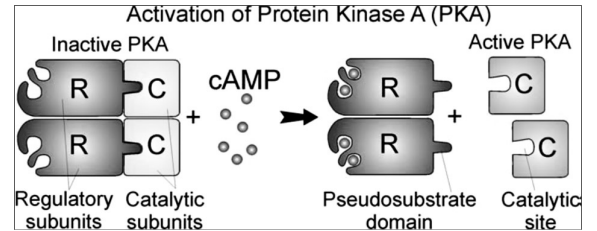
PSAMMOSERE

एक sand sere है: - Sand substratum का एक environment जिस पर ecological succession होता है। Most common psammoseres, sand dune systems होते हैं।

- ▶ Sea-coast psammosere के एक typical succession में, organisms जो sea के सबसे पास होते हैं, वो salt tolerant species होती हैं, जैसे: littoral algae और glasswort.
- ▶ inland की ओर जाते हुए succession में meadow grass, sea purslane, और sea lavender, सम्मिलित होते हैं जो एक typical non-maritime terrestrial eco-system में अनन्त: विलीन हो जाते हैं।
- ▶ Psammoseres तब तक चलता है जब तक कि वो एक climatic climax पर पहुँच जाए, जो कि अनन्त: oak trees, होते हैं ठीक वैसे ही जैसे यदि हम high water mark से दूर चलते जाते हैं, तो ऐसे कई characteristic features होते हैं जो change होते जाते हैं और dunes का natural succession सुनिश्चित करने में सहायता करते हैं।

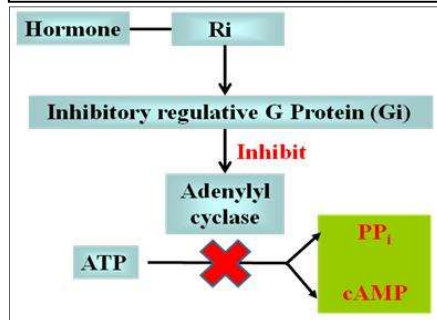
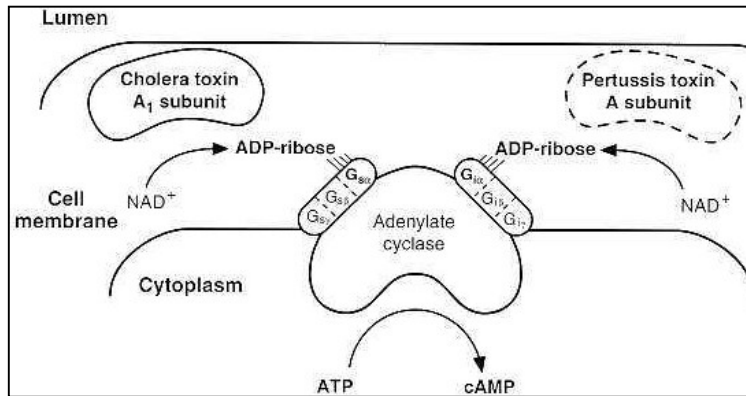
6. cAMP Regulation of PKA

Protein kinase A विभिन्न प्रकार के ऊतकों और सेल प्रकारों में cAMP का एक प्राथमिक लक्ष्य है। इसकी निष्क्रिय अवस्था में दो regulatory subunits एक निष्क्रिय अवस्था में दो सब्सट्रेट बाइंडिंग (उत्प्रेरक) सबयूनिट रखते हैं। regulatory subunits में एक pseudosubstrate डोमेन उत्प्रेरक सबयूनिट के उत्प्रेरक डोमेन को बांधता है। Regulatory subunits के लिए cAMP के बाइंडिंग से pseudosubstrate डोमेन की रचना में परिवर्तन होता है जिसके परिणामस्वरूप अब सक्रिय PKA उत्प्रेरक सबयूनिट्स का disassociation होता है। सक्रिय PKA अब लक्ष्य प्रोटीन फास्फोराइलेट कर सकता है। Glucose mobilization में उस फ़ंक्शन के ऊपर उल्लिखित दो लक्ष्यों के अलावा, phosphorylase kinase, और glycogen synthase, PKA में कई अन्य सब्सट्रेट प्रोटीन हैं जो कि फॉस्फोराइलेट कर सकते हैं। इनमें protein phosphatase-1 (regulation of glucose metabolism), heart muscle troponin (contraction), myosin light chain kinase (muscle contraction), phosphofructokinase (anaerobic metabolism), and CREB (transcription factor) है।



2. G_i: G inhibitory

यह adenylyl cyclase को **inhibit** (i = "inhibitory") करता है, cell में cAMP का level low होता है। G_i somatostatin के receptor से activated होता है।



► **Cholera toxin**, $G_{s\alpha}$ के covalent modification को catalyze करता है। ADP-ribose को NAD^+ से $G_{s\alpha}$ की GTPase active site पर arginine residue पर स्थानान्तरित किया जाता है, ADP-ribosylation $G_{s\alpha}$ द्वारा **GTP hydrolysis रोकता** है। **Stimulatory G-protein permanently activated** होता है। परिणामस्वरूप cAMP का लगातार high levels intestinal epithelium के cells से salts का अत्यधिक नुकसान करते हैं। अत्यधिक मात्रा में water osmosis के साथ बाहर निकलता है, जिसकी वजह से diarrhoea हो जाता है, जो fatal हो सकता है, अगर salts और water जल्दी replace ना किये जायें तो।

► **Pertussis toxin** (whooping cough disease) ADP-ribosylation को $G_{i\alpha}$ के cysteine residue पर catalyze करता है; जिससे inhibitory G_{α} **GDP to GTP से exchange करने में असमर्थ हो जाता है और Inhibitory pathway रुक जाता है**। **ADP-ribosylation** एक सामान्य प्रक्रिया है, जिससे बहुत से proteins की activity नियमित होती है, eukaryotes (including mammals) और यहां तक कि prokaryotes में भी।

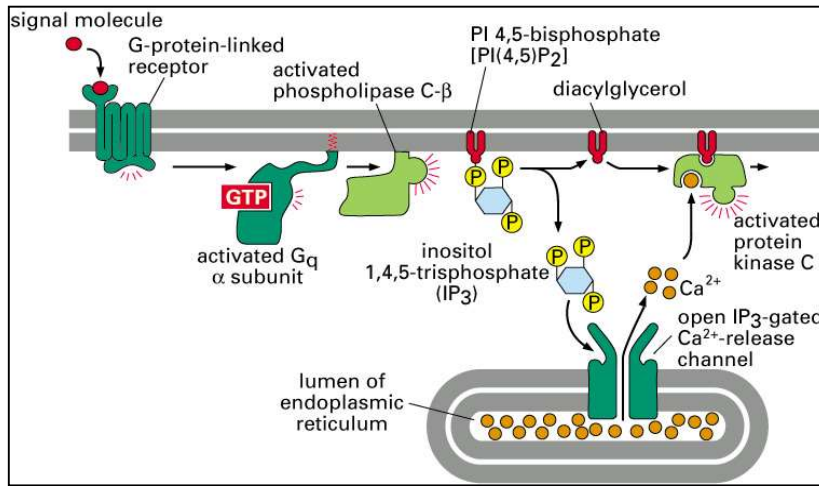
3. G_{α_q}

यह **phospholipase C (PLC)** को activate करता है, जो second messengers को पैदा करता है:

- inositol trisphosphate (IP_3)
- diacylglycerol (**DAG**)

G_{α_q} G proteins में पाया जाता है, coupled to receptors for:

- vasopressin
- thyroid-stimulating hormone (**TSH**) और
- angiotensin



Phosphatidylinositol signal cascades:

1. phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate (PIP₂) प्राप्त करने के लिए Kinases Pi को ATP से inositol ring के 5 & 4 position के hydroxyl group पर sequential transfer को catalyze करते हैं, ।
2. PIP₂ Phospholipase C से cleaved होता है।
 - Phospholipase C की अलग अलग isoforms में विभिन्न regulatory domains होते हैं और इस तरह अलग अलग signals के लिए respond करते हैं।
 - a. एक G-protein, called G_q Phospholipase C की एक रूप को सक्रिय करता है। जब एक particular GPCR (receptor) activate होता है, GTP, GDP के लिए आदान-प्रदान हो जाता है। फिर G_{qα}-GTP Phospholipase C को सक्रिय करता है।
 - Ca²⁺, जो Phospholipase C की activity के लिए चाहिए होता है, negatively charged residues और phosphorylated inositol के phosphate moieties को active site के साथ परस्पर क्रिया करता है।
3. PIP₂ का Phospholipase C द्वारा cleavage से 2 secondary messengers प्राप्त होते हैं: inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃), और diacylglycerol (DG)
4. Diacylglycerol, Ca²⁺ के साथ Protein Kinase C को सक्रिय करता है, जो कई cellular proteins के phosphorylation को catalyze करके, उनकी सक्रियता बदल देते हैं।
5. IP₃ (inositol-1,4,5-trisphosphate), endoplasmic reticulum (ER) membranes में Ca²⁺ release channels सक्रिय करता है। ER में stored Ca²⁺ cytosol में मुक्त होता है। जहाँ ये calmodulin से जुड़ सकता है या Protein Kinase C को सक्रिय कर सकता है।

Protein Kinase C (PKC)

They have following features: -

- ये Ser/Thr Kinases होते हैं। जो कि Ca²⁺, phospholipids and diacylglycerol (DAG) द्वारा सक्रिय होते हैं।
 - सामान्यतः ये cytosol में रहते हैं लेकिन सक्रिय होने पर ये cell membrane पर पहुँचकर कई substrates को Phosphorylate करते हैं जैसे (e.g., Myristoylated Arginine Rich C Kinase Substrate, MARCKS)
- साथ ही ये कई सारे आवश्यक प्रक्रियाओं में जैसे learning & memory, cell division & cancer में भी सम्मिलित होते हैं।

Signal turn-off OH, Ca²⁺-ATPase pumps और IP₃ degradation से cytosol में से Ca²⁺ का removal शामिल करता है: IP₃ (inositol-1,4,5-trisphosphate) के enzyme-catalysed hydrolysis द्वारा sequential dephosphorylation से inositol प्राप्त होता है, जो कि phosphatidylinositol के संश्लेषण का एक substrate होता है।

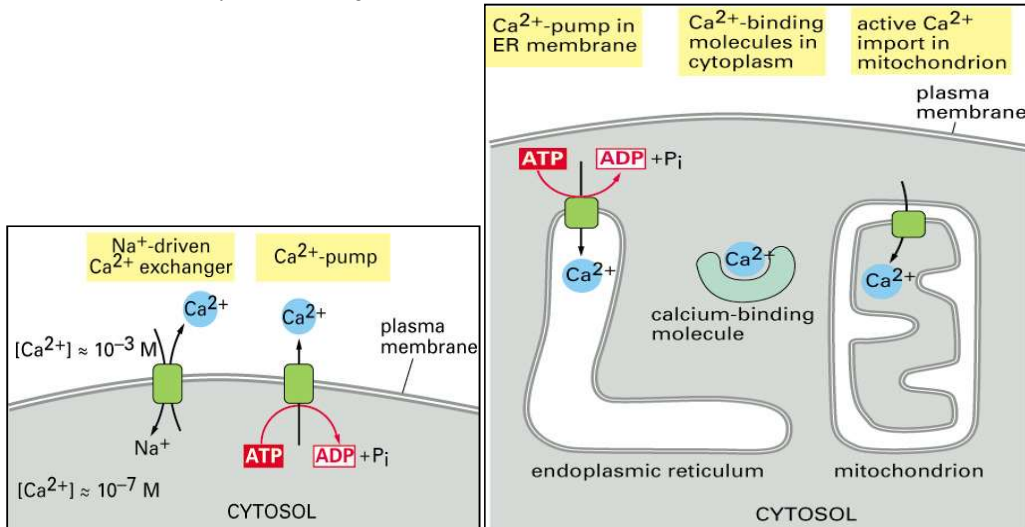
- a. Kinases, जो PI (phosphatidylinositol) को PIP₂ (PI-4,5-bisphosphate,) में बदलते हैं, inositol ring की ATP से hydroxyls की positions 4 & 5 से phosphate को transfer करती हैं।
- b. Phosphatidylinositol-3-Kinases जबकि catalyze phosphatidylinositol का inositol ring की 3 positions पर phosphorylation catalyze करता है। **For example:** phosphatidylinositol-3-phosphate (PI-3-P) . PI-3-P, PI-3,4-P₂, PI-3,4,5-P₃, और PI-4,5-P₂ के signaling roles होते हैं।

Activated **Protein Kinase B (also called Akt)** बहुत से proteins के serine threonine residues का phosphorylation catalyze करता है। इसके metabolism, cell growth और apoptosis पर कई प्रभाव देखे जाते हैं। **Protein Kinase B activity का downstream metabolic effect glycogen synthesis, glycolysis को उत्तेजित करना, और gluconeogenesis को रोकना भी सम्मिलित है।**

Ca²⁺ Signals

Modulation of Cytosolic [Ca²⁺]

- ▶ Cytosolic [Ca²⁺] सामान्यतः one micromolar से कम होता है, किसी और endoplasmic reticulum (ER) membrane में मौजूद Ca²⁺ - ATPase pumps इस low concentration को बनाये रखते हैं, Ca²⁺ को cytosol से दूर cell के बाहर या ER में transport करके।
- ▶ Extracellular Ca²⁺ level mammalian organisms में millimolar range में होता है। Plasma membrane Ca²⁺ channels की opening Ca²⁺ signal को शुरू या बनाये रख सकती है।
- ▶ Ca²⁺ ER में भी तुलनात्मक रूप से ज्यादा होता है, जो एक major internal reservoir की तरह कार्य करता है, जिसमें से Ca²⁺ signaling के दौरान cytosol में Ca²⁺ release होता है।
- ▶ Mitochondria और lysosomes भी कुछ परिस्थितियों में Ca²⁺ release करते हैं और Ca²⁺ reservoir की तरह कार्य करते हैं।

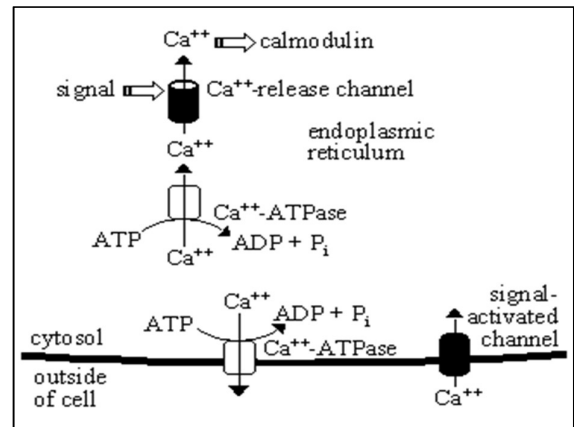


- ▶ ER lumen में Ca²⁺-binding domains free Ca²⁺ concentration को buffer करते हैं और Ca²⁺ storage के लिए क्षमता बढ़ा देते हैं। ER Ca²⁺-binding proteins में per molecule 20-50 low affinity Ca²⁺-binding sites होती हैं, acidic residues consist करती हैं। Examples:

- ♦ **Calsequestrin** SR के lumen में होता है, [muscle का specialized ER: sarcoplasmic reticulum (SR)].

- ♦ **Calreticulin** → non-muscle cells के lumen में होता है, protein folding में भी भूमिका निभाता है।

Cytosol या other cell compartments में Ca²⁺ concentration indicator dyes या उन proteins से monitor किया जाता है, जो या तो luminescent हैं या फिर Ca²⁺ से जुड़ के अपनी fluorescence change कर लेते हैं। **Fluorescent indicators confocal fluorescence microscopy** में use होने वाले, high-resolution imaging और cells में Ca²⁺ fluctuations का quantitation provide करते हैं।



Ca²⁺ (cytosolic) में transient increase one या Ca²⁺-release या Ca²⁺-entry channels की vicinity में localized किया जा सकता है। ऐसा localized Ca²⁺ "puff" या "spark" उन effectors को activate करता है, जो additional Ca²⁺ release induce करते हैं, जिनसे cytosolic Ca²⁺ में more widespread increase होता है। Higher cytosolic Ca²⁺ की एक "wave" neighboring cells में भी फैल सकती है।

Ryanodine Receptor:

एक Ca^{2+} Release Channel

Sarcoplasmic reticulum (SR) की membrane में एक large Ca^{2+} -release channel, ryanodine receptor (इसकी plant alkaloid ryanodine से sensitivity की वजह से) कहलाता है। जब SR lumen से cytosol में Ca^{2+} ryanodine receptor के द्वारा release होता है Skeletal और cardiac muscle का संकुचन सक्रिय होता है।

T tubules muscle cell plasma membrane के घसने से बनती हैं। T tubule membrane में voltage-gated Ca^{2+} channels closely apposed SR membrane में ryanodine receptors से परस्पर क्रिया करती हैं। T tubule में एक action potential द्वारा voltage-gated Ca^{2+} channels का activation ryanodine-sensitive Ca^{2+} release channels को खोलता है। Ca^{2+} पहले ryanodine receptor के transmembrane हिस्से से लेकर बाद में ryanodine receptor's की cytoplasmic domain से होता हुआ SR lumen से cytosol में जाता है।

- ♦ Ryanodine receptor cytosolic Ca^{2+} से micromolar concentrations पर अपने आप ही सक्रिय होता है। अतः cytosol में कम मात्रा में Ca^{2+} का प्रवेश, further Ca^{2+} को मुक्त करता है।
- ♦ High (e.g., mM) cytosolic Ca^{2+} ryanodine receptor channel को निष्क्रिय करता है, जिससे signal बन्द हो जाते हैं।

IP_3 receptor Ca^{++} Release Channel

बहुत सी mammalian cells में, IP_3 (inositol-1,4,5-trisphosphate), endoplasmic reticulum से Ca^{2+} release trigger करता है। "Second messenger" IP_3 उत्पन्न करता है, जैसे: in response to hormonal signals, from the membrane lipid phosphatidylinositol.

♦ IP_3 receptor एक ligand-gated Ca^{2+} -release channel है, जो endoplasmic reticulum membranes में embedded होता है। यह ryanodine receptor channel से distinct होता है, परन्तु partly homologous भी होता है।

♦ IP_3 receptor की cytosolic domain पर जुड़ता है, channel opening को बढ़ाता है। IP_3 एक regulatory phospho-protein IRBIT को नियमित करता है, जो कि same site पर bind करता है।

♦ Ca^{2+} , IP_3 receptor के ligand-binding domain पर जुड़ता है और channel opening को बढ़ाता है। However, high cytosolic Ca^{2+} , जो कि channel opening के बाद विकसित होती है, channel closure को बढ़ाती है।

अतः IP_3 -activated और ryanodine-sensitive channels दोनों low cytosolic Ca^{++} से सक्रिय होते हैं और high cytosolic Ca^{2+} से निष्क्रिय होते हैं।

High cytosolic Ca^{2+} द्वारा Ca^{2+} का feedback inhibition, Ca^{2+} -ATPase pumps की activity के साथ, signal turn-off में contribute करते हैं और Ca^{2+} concentration में observed oscillations संभव बनाते हैं।

Some Cellular Responses Mediated by G-Protein-linked Receptors Coupled to the Inositol-Phospholipid Signaling Pathway

Target Tissue	Signaling Molecule	Major Response
Liver	vasopressin	glycogen breakdown
Pancreas	acetylcholine	amylase secretion
Smooth muscle	acetylcholine	contraction
Mast cells	antigen	histamine secretion
Blood platelets	thrombin	aggregation

