CHAPTER : 4

NUTRITION OF MICROORGANISMS

Microorganisms की वृद्धि जल की उपस्थिति पर निर्भर करती है। वे पोषक तत्व जिनसे microorganisms, cell material उत्पन्न करते है और ऊर्जा प्राप्त करते है, जल में घुलनशील होते है।

Elementary nutrient requirements: Cell का elementary संयोजन 10 macroelements में विभाजित होता है जो हर cell में उपस्थित होते है carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, sulphur, phosphorus, sodium, potassium, calcium, magnesium and iron (C, H, O, N, S, P, K, Na, Ca, Mg, Fe) और microelements या trace elements; manganese, molybdenum zinc, copper, cobalt, nickel, vanadium, boron, chlorine, selenium, silicon, tungsten (Mn, Mo, Zn, Cu, Co, Ni, V, B, Cl, Se, Si, W) और दूसरे भी, जो हर organism को जरूरत नहीं होती।

Major elements, their sources and functions in bacterial cells.

Element	% of dry weight	Source	Function
Carbon	50	Organic compounds or CO_2	Main constituent of cellular material
Oxygen	20	H_2O, organic compounds, CO_2, and O_2	Constituent of cell material and cell water; O_2 is electron acceptor in aerobic respiration
Nitrogen	14	NH_3, NO_3, organic compounds, N_2	Constituent of amino acids, nucleic acids nucleotides, and coenzymes
Hydrogen	8	H_2O, organic compounds, H_2	Main constituent of organic compounds and cell water
Phosphorus	3	Inorganic phosphates (PO_4)	Constituent of nucleic acids, nucleotides, phospholipids, LPS, teichoic acids
Sulfur	1	SO_4, H_2S, S^o, organic sulfur compounds	Constituent of cysteine, methionine, glutathione, several coenzymes
Potassium	1	Potassium salts	Main cellular inorganic cation and cofactor for certain enzymes
Magnesium	0.5	Magnesium salts	Inorganic cellular cation, cofactor for certain enzymatic reactions
Calcium	0.5	Calcium salts	Inorganic cellular cation, cofactor for certain enzymes and a component of endospores
Iron	0.2	Iron salts	Component of cytochromes and certain nonheme iron-proteins and a cofactor for some enzymatic reactions

Accessory nutrients: अधिकतर organisms में carbon और energy स्त्रोत के साथ कुछ accessory nutrients जैसे कि growth factors या vitamins आवश्यक होते है, ये वो substances होते है जो cell के हिस्से होते है परन्तु simple building blocks से नहीं बने होते। 3 प्रकार के accessory factors होते है: - amino acids, purine और pyrimidine bases और vitamins.
Amino acids और purines + pyrimidines proteins और nucleic acid बनाते है इसलिए उचित मात्रा में जरूरी होते है। जबकि vitamins coenzymes या prosthetic groups घटक होते है, इसलिए कम मात्रा में जरूरी होते है।

Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

Sulphur and nitrogen: ये दोनों elements cell में reduced compounds namely sulphydryl और amino group के तौर पर उपस्थित होते है। ज्यादातर microorganisms इन दो elements को oxidized compounds के रूप में पाचन करते है और उन्हें sulphates और nitrates में reduce करते है।

- Most common N_2 source, ammonium salts होते है।
- Oxygen, water, में और carbondioxide & बहुत से organic substances में होती है।
- बहुत सी organisms में molecular oxygen (O_2) अधिकतर जरूरी है।
- O_2 aerobic respiration में terminal electron acceptor है।

Oxygen के आधार पर **organisms निम्न प्रकार से भिन्न होते है: -**

1. **Obligate aerobes:** इन्हें energy aerobic respiration से मिलती है। O_2 पर निर्भर होते है।
2. **Obligate anaerobes:** Oxygen की absence में grow करते है। O_2 इनके लिए विषैली है।
3. **Facultative anaerobes:** Oxygen की presence या absence में grow करते है, e.g., lactic acid bacilli जो O_2 की presence में grow होते है, i.e., ये **aerotolerant** जो oxygen उपयोग नहीं करते और किण्वन से ऊर्जा प्राप्त करते है।
    - **Microaerophile:** prefer small amount of O_2. It is present in mucous membrane
    - **Capnohile**: prefer CO_2 concentration. It's presented in lungs

Nutrient media and growth conditions: Nutrient solution जब पूरी तरह से परिभाषित chemical compounds से बनती है तो वो synthetic या defined medium कहलाता है। हर microorganism की minimal nutrient जरूरत को निर्धारित करके एक minimal medium बनाना वो घटकों का बना है जो वृद्धि के लिए आवश्यक है। Species के अनुसार बहुत से accessory substances आवश्यक होते है। **Leuconostoc mesenteroides** के लिए minimal media में 40 घटक है।

Complex media: बहुत से bacteria में वास्तविक nutrient आवश्यकता पूरी तरह पता नहीं होती। इन organism को उस nutrient solution में culture किया जाता है, जिसमें yeast extracts, yeast autolysates, peptones या दूसरे meat extracts होते है। कुछ microorganism में ये substances malt extract, hay infusions, plum juice, carrot Juice coconut milk और coprophilic fungi के लिए horse dung infusions भी इस्तेमाल कर सकते है। ये nutrient media complex या undefined media कहलाता है।

Solid media: Solid media बनाने के लिए nutrient solution में solidifying agent जोड़ा करते है जो media को jelly जैसी स्थिरता प्रदान करता है। **Gelatine,** जो पहला solidifying agent है, अब बहुत कम ही इस्तेमाल होता है क्योंकि यह 26-30°C पर पिघल जाता है और बहुत से microorganisms इसे द्रवित कर देते है। आदर्श gelling agent agar होता है। यह algae से मिलने वाला अत्यधिक शाखायुक्त जटिल polysaccharide है। इसे aqueous nutrient solution में 15-20 g/lt की मात्रा में जोडा जाता है। यह 100°C पर पिघलता है और 45°C (या कम) से नीचे द्रव रहता है। बहुत कम bacteria इसे पचा पाते है। अगर बिना किसी organic compound का solid media चाहिए होता है, तो silica gel को solidifying agent की तरह उपयोग करते है।

Hydrogen ion concentration: H^+ और OH^- सबसे ज्यादा mobile ions इसलिए इनकी मात्रा में जरा भी बदलाव बडा प्रभाव डालता है। pH की optimal initial maintenance बहुत जरूरी है। कुछ bacteria acid tolerant है (lactobacilli, Acetobacter, sarcina ventriculi) या acidophilic (Thiobacillus) है। Fungi को निचला pH चाहिए। **Soil sample का different pH वाले media पर inoculation pH 5 पर fungi और pH 8 पर bacteria देता है।**

Carbon dioxide: CO_2-fixing, autotrophic bacteria के लिए इस्तेमाल होने वाले nutrient media में $NaHCO_3$ होता है और इसे CO_2-containing atmosphere in a closed system में incubate किया जाता है। वैकल्पिक तौर पर इन्हें air bubbles या CO_2-enrichcd air दी जाती है। सारे cases में, $NaHCO_3$ मात्रा और partial-CO_2 के बीच सम्बन्ध को ध्यान में रखा जाना चाहिए।

Water content and osmotic pressure: Microorganisms की पानी की आवश्यकता भिन्न होती है। Solid materials और aqueous solutions को तुलना करने के लिए with respect to available water, water activity (a_w) या relative humidity जैसे parameters का इस्तेमाल होता है। ये parameters vapour phase से सम्बन्धित वो solid material या aqueous solution के साथ संतुलन में होते है। ये water concentration in the vapour phase over the material in question का ratio है & the water concentration in the gaseous phase over pure water, at a given temperature.
Microorganisms, range of water activities में grow कर सकते है 0.998-0.6 (a_w). Lowest water activity osmotolerant yeast Saccharomyces rouxii (a_w 0.6) के लिए reported है। Aspergillus glaucus और अन्य moulds a_w 0.8 पर grow करते है।

Temperature: Bacteria की वृद्धि के लिए तापमान में बदलाव भी दिखते है। ज्यादातर soil और aquatic bacteria mesophilic होते है, i.e. इनकी maximal growth rate 20-42 °C पर होती है। **Thermotolerant** 50°C (**Methylococcus capsulatus**) तक विकास करते है और **thermophilic bacteria.** Extreme thermophiles का growth optimum 65ºC से ऊपर होता है। (**Thermus aquaticus**) कुछ 70ºC के ऊपर विकास कर सकते है (species of **Bacillus** & **clostridium**) या 80°C के ऊपर (**Sulfolobus acidocaldarius**). **Hyperthermophilic** 80°C & 100°C के बीच.

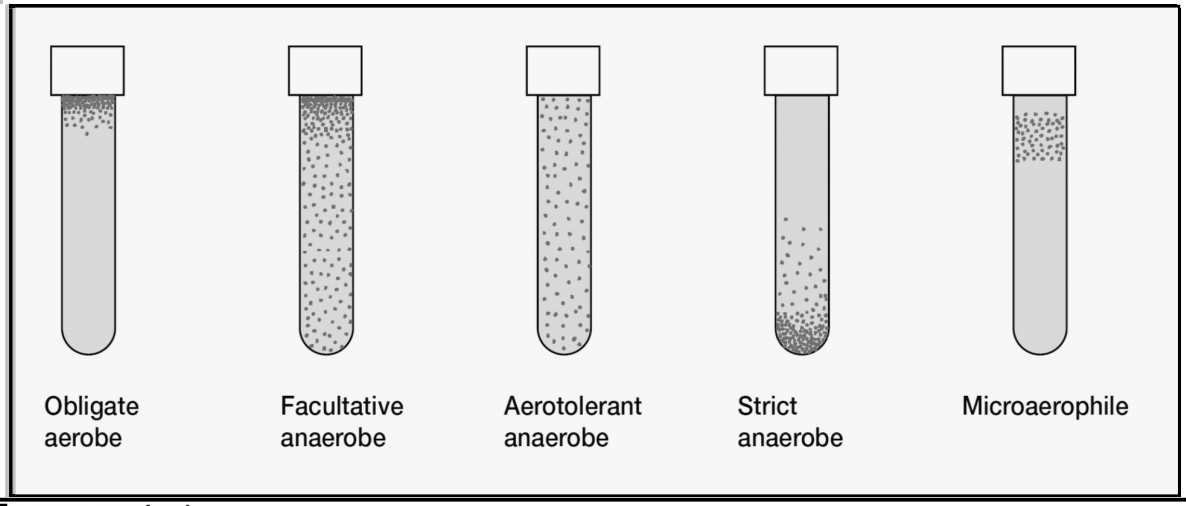
Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

Psychrophillic या cryophilic organism इनमें मुख्यतः कुछ marine bacteria (photobacteria) और iron bacteria (Gallionella) maximum growth 20°C के नीचे दर्शाते है।

Aeration: Obligate aerobes को oxygen final electron acceptor के रूप में जरूरी होती है। जब ये bacteria surfaced agar plates या thin layers of liquid जो कि हवा के सम्पर्क में है, oxygen की आपूर्ति उपयुक्त होती है। हालांकि, ज्यादा गहराई वाले liquid media में सिर्फ सतह पर aerobic bacteria विकास कर सकते है क्योंकि oxygen के लगातार खपत होने से lower layer anaerobic हो जाती है। जब aerobic bacteria को पूरी तरह liquid medium में विकसित करते है, तो aeration से निरन्तर oxygen की आपूर्ति होती है। Microorganisms सिर्फ घुली हुई oxygen का प्रयोग करते है।

घोल में oxygen की दर को, द्रव अवस्था में large area of gas-liquid interphase बढ़ा करके या गैस अवस्था में oxygen के दबाव को बढ़ा करके बढा सकते है। Liquid cultures को हवा से या O_2 N_2 और CO_2 के वायुमिश्रण से aerate करते है, बहुत से तरीके large surface area को tame करने के लिए इस्तेमाल होते है: - (I) thin-layer cultures; (2) agitation of the liquid by shaking (reciprocal or rotary shakers); (3) forced aeration of horizontally held flasks around their longitudinal axis; (4) forced aeration of a liquid column with air under pressure through a gas material (5) percolation through columns of granular aerobic (6) mechanical stirring.

Anaerobic culture: Anaerobic bacteria की वृद्धि के लिए culture media से O_2 का निकास जरूरी है। Anaerobic techniques में, dealtered boiled nutrient media, जो sealed bottles में हो और हवा मुक्त हो, oxygen से मुक्त desicators या anaerobic jars oxygen-absorbing substances (alkaline pyragallol, dithionite) का इस्तेमाल करके और दूसरे तरीकों का इस्तेमाल होता है। Reducing agents (ascorbic acid, thioglycollate, cysteine या sulphide, if tolerated) का संयोजन करने से aerobic oxygen का विषैला प्रभाव खत्म हो जाता है।



Enzyme content				
+ SOD + Catalase	+ SOD + Catalase	+ SOD – Catalase	– SOD – Catalase	+ SOD +/– Catalase (low levels)

Nutritional types

Energy source: ऊर्जा में बदलाव के क्रियाविधि के अनुसार biochemically ATP की उपयोगी रूप के आधार पर organisms को 2 principlal metabolic प्रकार में विभाजित कर सकते है: - **Phototrophic** और **Chemotrophic.** वो organisms जो electromagnetic radiation (light) को ऊर्जा स्त्रोत की तरह विकास के लिए इस्तेमाल करते है। उन्हें **phototrophs** (photosynthesisers) कहते है। **phototrophs** से 2 बडे समूह बनते है: - Anaerobic phototrophic bacteria, जो कि oxygen को नहीं छोडते और aerobic phototrophs, i.e. cyanobacteria, algae और green plants, जो light में oxygen उत्पन्न करते है। Chemotroph (chemosynthetic) oxidation: - Reduction of nutrient substrates से ऊर्जा प्राप्त करते है। Irrespectively reaction की ऊर्जा श्वसन से या किण्वन से मिली है।

Nutritional Type	Energy Source	Carbon Source	Examples
Photoautotrophs	Light	CO_2	Cyanobacteria, some Purple and Green Bacteria
Photoheterotrophs	Light	Organic compounds	Some Purple and Green Bacteria

Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

Chemoautotrophs or Lithotrophs (Lithoautotrophs)	Inorganic compounds, e.g. H_2, NH_3, NO_2, H_2S	CO_2	A few Bacteria and many Archaea
Chemoheterotrophs or Heterotrophs	Organic compounds	Organic compounds	Most Bacteria, some Archaea

Hydrogen donors and carbon sources: वो organisms जो organic compounds को hydrogen donors की तरह इस्तेमाल करते है, उन्हें organotrophs कहते है। ये Term lithotrophs की विपरीत है जो कि inorganic स्त्रोत जैसे NH_3, H_2S, S, CO_2, Fe^{2+} और अन्य को hydrogen donors की तरह इस्तेमाल करते है। Term autotrophy और heterotroph, cellular carbon स्त्रोत के द्वारा प्रस्तुत होती है। Autotrophs वो है जो CO_2 fixation से cellular carbon प्राप्त करते है। Heterotrophs organic compounds के पाचन से cell carbon प्राप्त करते है।

Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

पादप हार्मोन (Plant Hormones)

इन्हें **वृद्धि हार्मोन** (growth hormone), **वृद्धि नियंत्रक** (growth regulators) एवं **वृद्धि पदार्थ** (growth substances) के नाम से भी जाना जाता है।

इस शब्द का उपयोग सर्वप्रथम **स्टार्लिंग** (Starling, 1904) ने किया था जिसका अर्थ है **उद्दीप्त करना**।

पिंकस एवं थीमेन (Pincus and Thimann, 1948) के अनुसार पादप हार्मोन (phytohormones) पादप द्वारा अति सूक्ष्म मात्रा में संश्लेषित कार्बनिक पदार्थ हैं जो अपने संश्लेषण स्थल से दूर वृद्धि एवं अन्य कार्यिकी प्रक्रियाओं को नियंत्रित व प्रभावित करते हैं।

पादप हार्मोन के मुख्य लक्षण (Characteristics of phytohormones)

1. **ये अधिकांशतः मूल शीर्ष, प्ररोह शीर्ष अथवा पर्ण शीर्ष पर संश्लेषित होते हैं।**
2. ये सदैव कार्बनिक पदार्थ होते हैं।
3. **इनकी अत्यंत सूक्ष्म मात्रा ही पर्याप्त होती है।**
4. ये अत्यंत सूक्ष्म परन्तु निश्चित सांद्रता में ही वृद्धि अथवा अन्य कार्यों को प्रेरित व प्रभावित करते हैं।
5. ये सदैव स्वयं के संश्लेषण स्थल से दूर अपना प्रभाव डालते हैं |

प्रकृति में पाये जाने पादप हार्मोनों के मुख्य रूप से पांच समूह हैं-

ऑक्सिन (auxins), जिबरैलिन (gibberellins), सायटोकाइनिन (cytokinins), इथाइलीन (ethylene) एवं ऐबसिसिक अम्ल (abscisic acid) |

इन पादप हार्मोनों को दो समूहों में बांटा जा सकता है

1. वृद्धि प्रवर्धक हार्मोन (Growth promoting hormones)- ये पादप व उनके विभिन्न अंगों में वृद्धि प्रेरित करते हैं जैसे **ऑक्सिन, जिबरैलिन, सायटोकाइनिन आदि।**

2. वृद्धि संदमक हार्मोन (Growth inhibitory hormones)- ये हार्मोन पादप अथवा उनके अंगों में वृद्धि को रोकते अथवा संदमित करते हैं **उदाहरण- एबसिसिक अम्ल ABA**

I. ऑक्सिन (Auxins)

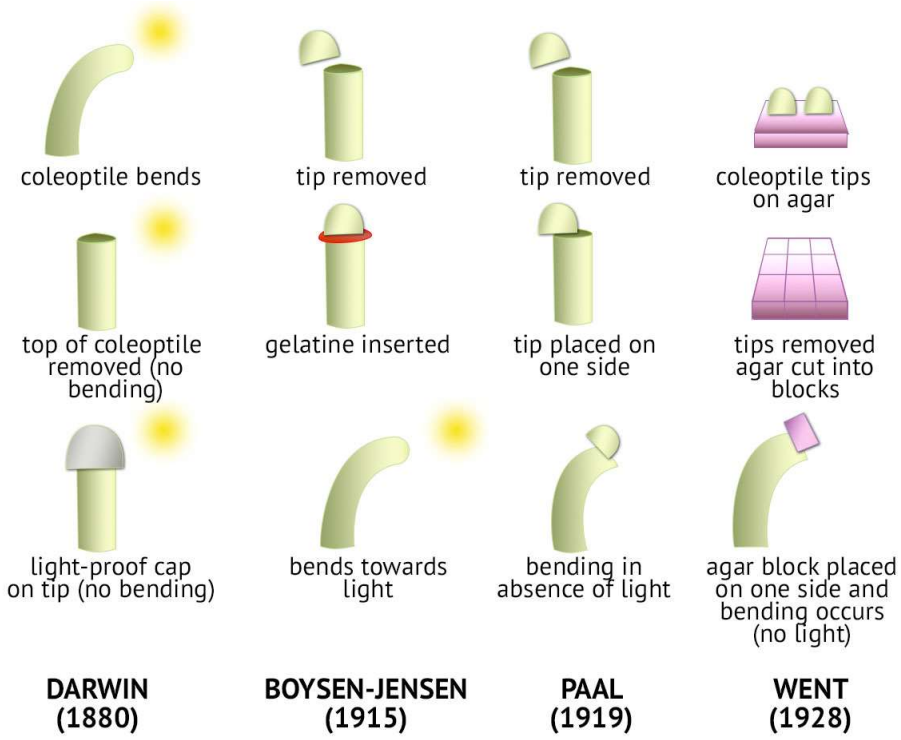
वे वृद्धि नियंत्रक कार्बनिक पदार्थ जो मूल एवं स्तम्भ के शीर्ष पर उपापचयन के फलस्वरूप उत्पन्न होते हैं तथा जिनका कोशिका दीर्धीकरण के लिए स्थानांतरण दीर्धीकरण क्षेत्र में होता है **ऑक्सिन** (auxin) कहलाते हैं।

ऑक्सिन नाम **कोल** (Kogl) द्वारा दिया गया था। इस की उत्पत्ति **ग्रीक** शब्द Auxin से हुई है जिसका अर्थ है **वृद्धि करना** (to grow)।

ऑक्सिन की खोज (Discovery of auxins)

विभिन्न पादप हार्मोनों में से सर्वप्रथम ऑक्सिंन की खोज की गयी थी। इन की खोज का श्रेय प्रसिद्ध जीव विज्ञानी **चार्ल्स डार्विन** (Charles Darwin. 1880) को जाता है **जिन्होंने कैनेरी घास फैलेरिस कैनारिएन्सिस (Phalaris canariensis) के प्रांकुर चोल (coleoptile) पर कुछ प्रयोग किये थे।**

उन्होनें पाया कि प्रांकुर चोल को एक तरफा प्रकाश देने पर वे प्रकाश की दिशा की ओर मुड़ जाते हैं। **प्रांकुर चोल शीर्ष को ढक देने पर अथवा काट देने पर इस प्रकार का प्रकाश की ओर वक्रण दिखाई नहीं देता अर्थात् प्रांकुर चोल का शीर्ष प्रकाश को ग्रहण करके प्रकाशित व अप्रकाशित भाग में असमान वृद्धि को प्रेरित करता है।**



बोयसन जैनसन (Boysen-Jensen 1910-13) ने प्रांकुर चोल के शीर्ष को काट कर बीच में जिलेटिन का एक ब्लाक रखा फिर एक तरफा प्रकाश देने पर पाया कि वे प्रकाश की ओर मुड़ जाते हैं।

दूसरे प्रयोग में उन्होंने देखा कि यदि एक तरफा प्रकाश से प्रदीप्त घास के नवोद्भिद के छाया वाले आधे भाग पर प्रांकुर चोल के शीर्ष के नीचे अभ्रक की प्लेट (mica plate) रख दी जाये तो प्रांकुर चोल प्रकाश की ओर नहीं मुड़ता है। परन्तु इस के वितरीत आधे प्रदीप्त भाग की ओर अभ्रक प्लेट को रखा जाये तो प्रांकुर चोल प्रकाशानुवर्ती वक्रता (phototropic curvature) प्रदर्शित करता है।

इस से सिद्ध होता है कि प्रकाशानुवर्ती वक्रता के लिए उद्दीपन अथवा उद्दीपक पदार्थ शीर्ष से छायामय भाग से ही नीचे स्थानांतरित होता है।

पाल (Paal, 1914-1919) ने अपने प्रयोग में बताया कि जिलेटिन के स्थान पर कोको बटर, अभ्रक अथवा प्लेटिनम की प्लेट का प्रयोग करने पर उद्दीपन का स्थानान्तरण नहीं होता अर्थात संभवतः यह उद्दीपक पदार्थ जल में विलेय होता है। उन्होंने अंधकार में नवोद्भिद के शीर्ष को आधे भाग पर टिकाते हुए इसे पुनः रखा तब भी प्रकाशानुवर्ती वक्रता के समान वक्रता दिखाई दी।

वेंट (Went, 1926, 1928) ने जई के प्रांकुर चोल से शीर्ष को हटा कर अगार के एक खंड पर कुछ देर के लिए रखा। फिर इस ब्लाक के टुकड़े कर के शीर्ष विहीन प्रांकुर पर असममित रूप से (asymmetrically) रखा तो उसमें अंधकार में भी वक्रता पाई।

- उन्होंने शीर्ष को लम्बवत बराबर भागों में काट कर दोनों के नीचे अलग-अलग अगार के टुकडे रखे व एकतरफा प्रकाश दिया तथा असमान वितरण को प्रदर्शित किया प्रकाश की ओर 27% तथा अंधकार की ओर 57% ऑक्सिन प्राप्त हुआ।
- चारों ओर से प्रकाशित शीर्ष में अगार खंडों में समान मात्रा में आक्सिन पाया गया।

प्राप्ति स्थल एवं स्थानांतरण (Occurrence and transport)

सामान्यतः पादपों के सभी अंगों में ऑक्सीन की उपस्थिति हो सकती है किन्तु ऑक्सिन की सांद्रता सबसे ज्यादा शीर्ष बिन्दुओं जैसे प्ररोह शीर्ष, कलिका, प्रांकुर चोल, पर्ण शीर्ष, वृद्धिकारी फल, भ्रूण एवं बीज इत्यादि में पाई जाती है। यहाँ से शीघ्र ही इन का स्थानांतरण अन्य भागों की ओर हो जाता है।

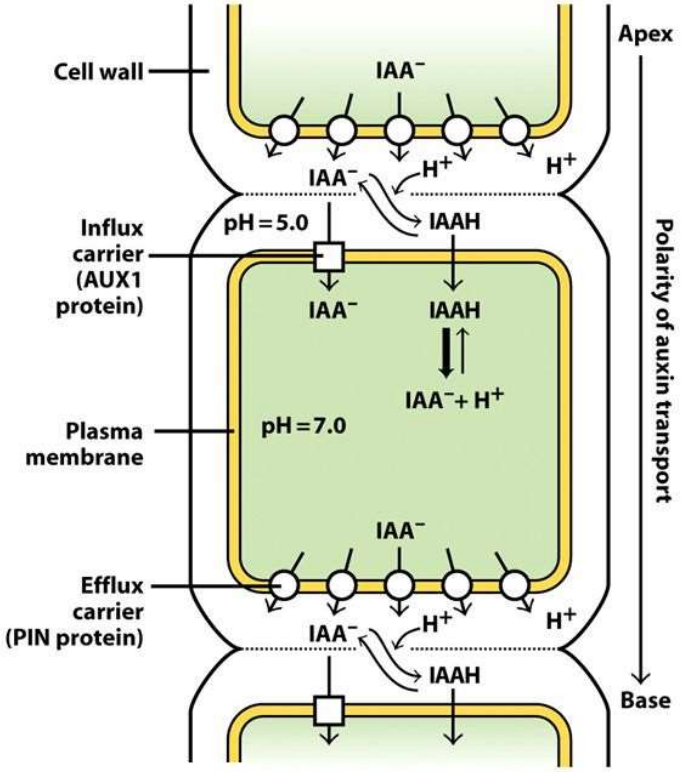
FW WENT (1928) ने ऑक्सिन के ध्रुवीय स्थानांतरण का प्रदर्शन किया। ऑक्सिन का स्थानांतरण हमेशा शीर्ष से आधार की तरफ ही होता है। प्ररोह में यह स्थानान्तरण शीर्ष से नीचे की ओर अर्थात तलाभिसारी (basipetal)तथा मूल शीर्ष से ऊपर की ओर अर्थात् अग्राभिसारी(acropetal) होता है। इस प्रकार का स्थानान्तरण ध्रुवीय स्थानान्तरण (polar transport) कहलाता है। यह प्रक्रिया सान्द्रता प्रवणता (concentration gradient) के विपरीत दिशा में भी हो सकती है।

जैकब (Jacobs, 1962) के अनुसार परिपक्व व विभेदित ऊतकों में ऑक्सिन की गति ध्रुवीय (polar) एवं अध्रुवीय (non polar) दोनों प्रकार की होती है।

सामान्तयः आक्सिन का स्थानान्तरण पोषवाह मृदूतक अथवा संवहन पूलों के परिधीय मृदूतकी कोशिकाओं के माध्यम से होता है। इस संदर्भ में कुछ तथ्य ऑक्सिन के सक्रिय स्थानान्तरण का पुष्टीकरण करते हैं।

1. ऑक्सिन स्थानान्तरण की गति विसरण द्वारा संभावित गति से लगभग 10 गुना से भी अधिक होती है।
2. सांद्रता प्रवणता (concentration gradient) के विपरीत ऑक्सिन स्थानांतरण सक्रिय विधि द्वारा ही सम्भव हो सकता है।
3. ऑक्सिन स्थानान्तरण की ऑक्सीकरण उपापचय पर निर्भरता एवं ATP के निर्माण के संदमकों की उपस्थिति में ऑक्सिन स्थानान्तरण में कमी भी इनके सक्रिय स्थानान्तरण का संकेत देते हैं।

लुण्ड (Lund, 1947) के अनुसार ऑक्सिन का अभिगमन वैद्युत विभव (electric potential) के अन्तर द्वारा नियंत्रित होता है। जई के प्रांकुर चोल का आधार, एकतरफा प्रकाश से प्रदीप्त शीर्ष में छाया वाले क्षेत्र तथा क्षैतिज दिशा में रखे गए प्रांकुर चोल में निचली सतह अपेक्षाकृत अधिक धनात्मक होते हैं तथा ऑक्सिन इन की ओर गति करते हैं।



Schematic model for polar auxin transport

गोल्डस्मिथ (Goldsmith, 1977) ने ऑक्सिन के स्थानान्तरण के लिये रसायन-परासरणी परिकल्पना (Chemi-osmotic hypothesis) प्रस्तुत की। ऑक्सिन के ध्रुवीय स्थानान्तरण में ATP की आवश्यकता होती है। कोशिका झिल्ली अनावेशित IAA के Vacuoleलिये अधिक पारगम्य होती है अतः IAA कोशिका झिल्ली से परासरण (निष्क्रिय क्रिया) द्वारा कोशिका द्रव्य में प्रविष्ट होता है। साथ ही ATP के जलापघटन से प्राप्त ऊर्जा का उपयोग करते हुये H^+ आयन जीवद्रव्य से कोशिका भित्ति में स्थानान्तरित होते हैं। इसके फलस्वरूप कोशिका द्रव्य का pH मान बढ़ जाता है। (cytoso pH = 7.0) एवं कोशिका भित्ति में pH घट (5.5) जाता है। कोशिकाद्रव्य में उच्च pH पर IAA H^+ एवं IAA^- आयन में बंट जाता है तथा कोशिका के निचले छोर पर आवेश युक्त IAA(IAA^-) वाहक के माध्यम से कोशिका से बाहर स्थानांतरित हो जाते हैं। इसके साथ ही $2H^+$ आयन

भी जीवद्रव्य से कोशिकाभित्ति में स्थानांतरित हो जाते हैं। कोशिकाभित्ति क्षेत्र में निम्न pH (5.5) पर IAA^- तथा H^+ मिल कर अनावेशित IAA अणु बनाते हैं जो फिर से निचली कोशिका में प्रवेश करते हैं। इस प्रकार ऑक्सिन का ध्रुवीय स्थानांतरण होता है।

इन का स्थानांतरण तापमान, O_2, गुरूत्वाकर्षण, एवं आयु चित्र-5: ऑक्सिन का ध्रुवीय स्थानान्तरण इत्यादि से प्रभावित होता है।

प्राकृतिक ऑक्सिन (Natural auxins)

ये पादपों में प्राकृतिक रूप से पाये जाते हैं।

- **इन्डोल - 3 एसिटिक अम्ल (Indole-3-acetic acid) सर्वाधिक पाया जाता है।**
- **इन्डोल-3 एसिटाल्डिहाइड (Indole-3-acetaldehyde) एवं इन्डोल-3-इथेनोल (Indole-3-ethanol),** **Indole-3 pyruvic Acid, Indole - 3 acetonitrile** भी पाये जाते हैं। इसके अतिरिक्त पादपों में उसी के समान प्रभाव डालने वाले यौगिक 4-क्लोरो इन्डोल एसिटिक अम्ल (4-chloroindole acetic acid) तथा फिनाइल एसिटिक अम्ल (Phenyle acetic acid PAA) है।
- पादपों में आक्सिन मुक्त अवस्था में (free state) अथवा आबद्ध अथवा संयुग्मित (bound or conjugated) अवस्था में पाये जाते हैं।
- संयुग्मित ऑक्सिन अन्य यौगिकों से सहसंयोजी बंध द्वारा जुड़े रहते हैं |
- IAA ग्लूकोसाइड (IAA glucoside). [AA इनोसिटोल (IAA inositol) आदि आबद्ध ऑक्सिन के कुछ उदाहरण हैं। आबद्ध आक्सिन के जल अपघटन से आक्सिन मुक्त हो जाते हैं।
- कोशिका में दोनों ही अवस्थाएं साम्यावस्था में होती हैं एवं आवश्यकता होने पर जलापघटन द्वारा आक्सिन मुक्त हो सकते हैं।

संश्लेषित ऑक्सिन (Synthetic auxins)

ऑक्सिन के समान कार्यिकी प्रभाव वाले अनेक रासायनिक यौगिक बनाये गये हैं इन्हें संश्लेषित ऑक्सिन कहते हैं।

इनके कुछ उदाहरण हैं-

(i) NAA = Naphthalene Acetic Acid :- Its common name is "Horotomone"

(ii) IBA - Indole Butyric Acid :- Its common name is "Rootone"

(iii) 2-4D = 2-4-dichlorophenoxy Acetic Acid

(iv) 2, 4, 5-T (2, 4, 6-Trichlorophenoxy acetic acid.)

(v) Picloram = 2, 3, 5-trichloro- 4-amino picolinic Acid. (Tordon)

(vi) Delapon = 2, 2-dichloro Propionic Acid.

ऑक्सिन का विनाश (Destruction of auxins)

वेंट (Went. 1928) द्वारा किये गये प्रयोग में अगार ब्लाक में कुल ऑक्सिन 84% ही होता है इससे लगता है कि कुछ ऑक्सिन नष्ट हो जाता है अथवा निष्क्रिय हो जाता है। ऑक्सिन दो प्रकार से नष्ट हो सकते हैं

1. एन्जाइम से आक्सीकरण द्वारा 2. प्रकाशीय ऑक्सीकरण द्वारा

IAA का **एन्जाइमी ऑक्सीकरण** IAA ऑक्सीडेज (1AA oxidase) के कारण होता है। विभिन्न पादपों में 1AA ऑक्सीडेज के आइसोमर पाये जाते हैं। यह परॉक्सीडेज (peroxidase) की तरह कार्य करता हैं तथा 1AA का आक्सीकरण कर एक CO, अणु मुक्त करता है इस प्रकार 1AA सक्रिय नहीं रहता। आबद्ध आक्सिन IAA ऑक्सीडेज के प्रति प्रतिरोध गी होते हैं अतः इस एन्जाइम से उन्हें नष्ट नहीं किया जा सकता।

IAA का पराबैंगनी प्रकाश (UV light) तथा आयनीकारी विकिरण (ionising radiation) के कारण आक्सीकरण होता है तथा वह निष्क्रिय हो जाता है। यह प्रक्रिया प्रकाशीय ऑक्सीकरण कहलाती है।

ऑक्सिन का जैव आमापन (Biossay of Auxins)

पादप वृद्धि हार्मोनों की उपस्थिति प्रदर्शित करने के लिये किये जाने वाले संवेदी जैविक परीक्षण (biological tests) जैव आमापन (bio-assay) कहलाते हैं।

ऑक्सिन के जैव आमापन के लिये प्रांकुर चोल वक्रता परीक्षण (Avena coleoptile curvature test) किया जाता है जिसका उपयोग सर्वप्रथम वेंट (F.W. went, 1926) ने किया था।

इसके अतिरिक्त मूल वृद्धि संदमन विधि द्वारा भी आक्सिम का जैव आमापन किया जाता है।

क्रियाविधि (Mechanism of action)

ऑक्सिन तीन स्तरों पर कार्य कर सकते हैं।

1. जीन अभिव्यक्ति (Gene expression)- कुछ वैज्ञानिकों के अनुसार ऑक्सिन संबंधित जीन के अनुलेखन (transcription) को प्रेरित करते हैं। ऑक्सिन सीधे ही अथवा उपयुक्त निष्क्रिय अनुलेखन कारकों (transcription factors) के साथ जुड़ कर उन्हें सक्रिय कारक (active form) में परिवर्तित कर देते हैं जो अनुलेखन (transcription) को प्रेरित करते हैं | MAA की उपस्थिति में कैलस में वृद्धि के साथ mRNA की मात्रा में वृद्धि तथा प्रति ऑक्सिन (anti auxins) की उपस्थिति में mRNA में कमी इस तथ्य को इंगित करते हैं।

2. विकरों की सक्रियता में वृद्धि (Enhanced enzyme activity)- ऑक्सिन विकरों की सक्रियता में वृद्धि करते हैं। संभवतः वे विकर के निष्क्रिय स्वरूप को परिवर्तित कर उसे सक्रिय करते हैं।

स्कूग एवं **साथियों** (Skoog et al. 1942) ने सुझाया कि संभवतः ऑक्सिन सहएन्जाइम के रूप में कार्य करते हैं एवं वृद्धि को नियंत्रित करने वाले एन्जाइम को नियंत्रित करते हैं।

3. कोशिका पारगम्यता (Cell Permeability)- ऑक्सिन कोशिका झिल्ली में उपस्थित H^+ ATP एज प्रोटॉन पम्प को सक्रिय कर देते हैं तथा इसकी पारगम्यता को बढ़ा देते हैं। इससे कोशिका में परासरण द्वारा जल अवशोषण में वृद्धि होती है जो कोशिका की वृद्धि में सहायक होती है।

ऑक्सिन द्वारा प्रेरित विभिन्न प्रक्रियाओं में इनमें से एक अथवा अधिक प्रक्रियाएं शामिल हो सकती हैं।

ऑक्सिन की भूमिका एवं प्रभाव (Role and effects of auxins)

1.शीर्ष प्रभुता (Apical dominance): मुख्यतः पादपों की पार्श्व कलिकाओं (lateral buds) की क्रिया शीर्षस्थ कलिका द्वारा संदमित होती है। इस स्थिति को शीर्ष प्रभुता अथवा प्रभाविता (apical dominance) कहते है। शीर्ष कलिका के हटाने पर पार्श्व कलिकाएँ तीव्रता से वृद्धि करती हैं। इसकी खोज थीमेन एवं स्कूग (Thimann and Skoog, 1933) ने की थी। पार्श्व कलिकाएं IAA के कारण मुख्य तने से संवहन संबंध (vasscular connections) विकसित नहीं कर पाती अतः उन्हें कलिका से शाखा परिवर्धन हेतु वांछित पोषक पदार्थ वांछित मात्रा में नहीं मिल पाते। इसके अतिरिक्त अधिकांश पदार्थों का चालन शीर्ष में केन्द्रित वृद्धि के कारण शीर्ष की ओर होता है। इसी कारण पावं कलिकाओं का प्रवर्धन नहीं हो पाता।

2. कोशिका विभाजन (Cell division): संहवन एधा (cambium) में कोशिका विभाजन की दर IAA एवं मौसमी क्रियाओं - (seasonal activity)द्वारा नियंत्रित होती है। कलम रोपण (grafting) एवं क्षति के दौरान कैलस निर्माण IAA के कारण होता है।

3. कोशिका विवर्धन (Cell enlargement): ऑक्सिन का एक प्रबल प्रभाव कोशिकाओं का दीर्धीकरण एवं विवर्धन (cell elongation and expansion) होता है जिसके फलस्वरूप स्तम्भ एवं फल के आयतन में वृद्धि होती है। कोशिका दीर्धीकरण परासरण सान्द्रता के बढ़ने, भित्ति दाब कम होने, भित्ति की जल के प्रति पारगम्यता के बढ़ने, कोशिका भित्ति के अधिक निर्माण एवं अधिक प्लैस्टिकता (plasticity) के कारण होता है।

पादप कोशिका का विवर्धम मुख्यतः तीन कारणों से होता है।

1. जल विभव के कारण जल का परासरणी अवशोषण होता है।

2. कोशिका भित्ति की दृढ़ता (rigidity) के कारण स्फीति दाब बढ़ जाता है।

3. कोशिका भित्ति को रासायनिक रूप से कमजोर (अणुओं के बीच बन्ध को कमजोर करने से) करके कोशिका को स्फीति दाब के अनुसार प्रसार करने में मदद मिलती है।

ऑक्सिन इन तीनों को प्रभावित करते हैं।

ऑक्सिन के कुछ प्रभाव जैसे प्रांकुर चोल दीर्धीकरण (coleoptile elongation) बहुत कम समय में होते हैं। जबकि कुछ प्रक्रियाएं जैसे कोशिका दीर्धीकरण को प्रारंभ करने की प्रक्रिया के लिए mRNA एवं प्रोटीन संश्लेषण की आवश्यकता होती हैं।

ऊतक संवर्धन (Tissue Culture)—किसी उपयुक्त संवर्धन माध्यम में पादप कोशिका, ऊतक अथवा अंगों का संवर्धन, ऊतक संवर्धन (Tissue culture) कहलाता है।

एक्सप्लेंट (Explant)-पादप की पत्ती, तना या अन्य भाग जिसको ऊतक संवर्धन के काम में लिया जाता है एक्सप्लेंट कहलाता है।

एक्सप्लांटेशन (Explantation)-एक्सप्लेंट का विच्छेदन, इसको पादप से हटाना एवं इसको उपचारित करने की प्रक्रिया एक्सप्लांटेशन कहलाती है।

कोशिका संवर्धन (Cell-culture)—पात्र में (In vitro) एकल या पादप कोशिकाओं के छोटे समूहों का संवर्धन, कोशिका संवर्धन (Cell-culture) कहलाता है।

कैलस (Callus)-संवर्धन में अविभेदित, असंगठित कोशिकाओं का समूह कैलस कहलाता है।

अंग संवर्धन (Organ culture)-पात्र में मूल शीर्ष (Root tip), स्तंभ शीर्ष (Shoot tip) भ्रूण (Embryo) इत्यादि का संवर्धन, अंग संवर्धन (Organ culture) कहलाता है।

ऊतक संवर्धन विधि (Tissue Culture Methodology)

पादप कोशिका तथा अंगों के संवर्धन में मुख्यतया दो समस्याओं का हल आवश्यक है

(i) पादप कोशिका तथा अंगों को संक्रमण से बचाना।

(ii) कोशिका तथा अंगों में वृद्धि को प्रेरित करने के लिये पोषकों तथा पर्यावरणीय परिस्थितियों को प्रदान करना।

संक्रमण से बचने के लिये आधुनिक उपकरणों को उपयोग में लाया जा सकता है। द्वितीय समस्या के निदान के लिये शोध कार्य जारी है तथा शीघ्र ही इसका हल निकाल लिया जायेगा।

प्रयोगशाला अवकाश (Laboratory Space)

ऊतक संवर्धन प्रयोगशाला का निर्माण मुख्य रूप से प्रयोगों के प्रकार व संवर्धन की प्रकृति पर निर्भर करता है। लेकिन एक सामान्य ऊतक संवर्धन प्रयोगशाला में निम्न सामग्री या उपकरणों या सुविधाओं का होना आवश्यक है।

(i) Washing, Drying and Storage of vessel

(ii) Preparation, Sterilization and Storage of media

(iii) Aseptic handling of explants and cultures.

(iv) Maintenance of cultures.

(v) Observation of cultures.

ऊतक संवर्धन कक्ष (Tissue Culture Room)

ऊतक संवर्धन कक्ष में निम्न सुविधाओं का होना आवश्यक हैं

(i) Controlled temperature (25°C + 2°C)

(ii) Culture racks fitted with Light (1000 Line)

(iii) Shaker for agitation of liquid culture.

(iv) Electric supply with generator facility.

प्रयोगशाला में काम में आने वाले उपकरणों को nontoxic detergent विलयन में रात भर रखते हैं तथा ब्रश से साफ करके नल के जल से धोते हैं। अंत में आसुत जल (Distilled water) से धोकर Hot air oven (75-80°C) में सुखाते हैं। इनको धूल रहित कैबिनेट में सुरक्षित रखते हैं।

लेमिनार फ्लो (Laminar flow)

जब प्रयोगशाला वातानुकुलित न हो तो लेमिनार फ्लो का उपयोग अधिक उपयुक्त होता है। सामान्यतया दो या तीन व्यक्तियों के लिये एक wood काफी होती है एवं क्षैतिज (Horizontal) प्रकार का लैमिनार फ्लो अधिक अच्छा रहता है जिसमें संवर्धन माध्यम अधिक सुरक्षित रहते है । **रेडियो समस्थानिकों, कैंसर जन्य कारक, विषाक्त औषधियों, वायरस संवर्धन, प्राइमेट सेल लाइन के लिये Class-II-Biohazard कैबिनेट का उपयोग किया जाता है।**

एक व्यक्ति के लिये 4' x 2' आकार का हुड अधिक उपयुक्त रहता है। इसकी साफ सफाई अधिक सविधाजनक रहती है। लैमिनार फ्लो के सामने की स्क्रीन स्लाइडिंग प्रकार की होनी चाहिए ताकि संक्रमण की स्थिति में इसको साफ किया जा सके।

संवर्धन माध्यम (Culture Medium)

संवर्धित पादप कोशिकाएँ उसी प्रकार की होती है जो पूरे पादप के लिये आवश्यक होती है। माध्यम में उपस्थित पोषण मिश्रण संवर्धित किये जाने वाले ऊतकों के प्रकार जैसे-कोशिका, ऊतक, अंग व प्रोटोप्लास्ट पर निर्भर करती है। अधिकांश पोषक माध्यम में अकार्बनिक पोषक (Micronutrient, Macronutrient), कार्बन स्त्रोत, विटामिन, पादप वृद्धि नियंत्रक व अन्य कार्बनिक पदार्थ होते हैं। जब माध्यम में रासायनिक ज्ञात यौगिक हो तो इसे Synthetic medium कहते हैं। जब माध्यम में जटिल तथा chemically undefined compound (जैसे-fruit juice, plant extract, vegetable extract) उपस्थित हो तो इस माध्यम को Natural medium कहते हैं।

पादप वृद्धि नियामक (Plant Growth Regulators)

पादपों द्वारा उत्पन्न प्राकृतिक कार्बनिक उत्पाद जो वृद्धि तथा विभेदन को प्रेरित करते हैं, पादप हॉर्मोन (Phytohormone) कहलाते हैं। वर्तमान में कुछ संश्लेषी यौगिकों का उपयोग किया जाता है जिनका कार्य इन प्राकृतिक उत्पादों जैसा होता है। ये पदार्थ सामूहिक रूप से पादप वृद्धि नियामक (Plant Growth Regulators) कहलाते हैं। वृद्धि नियामक मुख्यतया चार प्रकार के होते हैं

(i) ऑक्सीन (Auxins)

(ii) Hisalchisida (Cytokinin)

(iii) जिब्रेलिन तथा एब्सीजिक अम्ल (Gibberellins and Abscisic Acid)-

(i) ऑक्सिन (Auxins)-इस का मुख्य कार्य संवर्धन माध्यम में कोशिका विभाजन व कैलस निर्माण को प्रेरित करना होता है। इसके द्वारा पात्र में कोशिका विभाजन, कोशिका दीर्घीकरण, ऊतकों की swelling व adventitious जड़ों का निर्माण प्रेरित होता है। **ऑक्सिन की कम सांद्रता पर adventitious root का निर्माण प्रेरित होता है लेकिन उच्च सांद्रता पर मूल का निर्माण अवरुद्ध हो जाता है तथा कैलस का निर्माण हो जाता है**।

सामान्यतया NAA (Napthalene Acetic Acid), IAA (Indole Acetic Acid), IBA (Indole Butyric Acid), 2,4,5-T (2,4,5-Trichlorophenoxy Acetic Acid), 2-4-D (2,4Dichlorophenoxy Acetic Acid), PCPA (p-Chlorophenoxy Acetic Acid), Pictoram (4-amino 3,5,6-trichloro Picolinic Acid) का उपयोग किया जाता है।

इनमें 2,4-D का व्यापक रूप से उपयोग किया जाता है तथा यह सर्वाधिक प्रभावी होता है।

(ii) साइटोकाइनिन (Cytokinin)—साइटोकाइनिन एडीनिन के व्युत्पन्न है। यह कोशिका विभाजन, shoot induction व कायिक भ्रूण के निर्माण को प्रेरित करता है।

मुख्य रूप से BAP (6- benzyl amino purine), BA (6-benzyl adenine) काइनेटिन (Kinetin-N-2-x fusfuryl amino)-1-H-Purine6-amine), जियाटिन (6-[4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butanyl amine), 2-IP (2-Isopentyladenine) का उपयोग किया जाता है।

साइटोकाइनिन, आक्सीन के साथ मिलकर कोशिका विभाजन को प्रेरित करते हैं। साइटोकाइनिन की अधिक मात्रा में (1-10mg/l) में adventitious-shoot का निर्माण प्रेरित होता है लेकिन मूल (Root) का निर्माण अवमंदित होता है। यह Apical dominance को कम करके Axillary shoot formation को प्रेरित करता है। साइटोकाइनिन, RNA संश्लेषण को प्रेरित करता है तथा ऊतकों में प्रोटीन संश्लेषण व एंजाइम सक्रियता को प्रेरित करता है।

(iii) जिब्रेलिन तथा एब्सीजिक अम्ल (Gibberellins and Abscisic Acid)-जिब्रेलिन के द्वारा Shoot elongation, कैलस वृद्धि, विभज्योतक में वृद्धि प्रेरित होती है। GA_3 द्वारा सामान्यतया Adventitious root व Shoot के निर्माण की प्रक्रिया अवमंदित होती है। ABA (Abscisic Acid) द्वारा कैलस निर्माण की वृद्धि का प्रेरण अथवा अवमंदन होना प्रजाति पर निर्भर करता है। भ्रूणोद्भव (Embryogenesis) में भी इसका उपयोग किया जाता है।

निर्जमीकरण विधियाँ (Sterilization Methods)

संवर्धन में काम आने वाली सामग्री जैसे पात्र, उपकरण, माध्यम, पादप सामग्री इत्यादि पूर्णतया निजीकृत होनी चाहिए। इसके लिये निम्न विधियों का उपयोग किया जाता है

(i) शुष्क उष्मा (Dry Heat)-संवर्धन में काम में आने वाले उपकरण को 160-180°C पर तीन घण्टे तक शुष्क उष्मा के द्वारा निर्जमीकृत किया जाता है। इसके लिये ऑटोक्लेव का उपयोग किया जाता है। **वर्तमान में Forcep, scalpel इत्यादि को निर्जमीकृत करने के लिये Glass bead sterilizer का उपयोग किया जाता है।**

(ii) निर्दाहिकरण (Incineration)-कुछ उपकरण जैसे चिमटी (Forcep), चाकू (Scalpel), Needle इत्यादि को सामान्य ज्वाला के द्वारा निर्जमीकृत किया जा सकता है। ज्वाला के द्वारा गर्म करना Incineration कहलाता है। किसी भी संवर्धन पात्र में संवर्धन से पहले इसके मुख को ज्वाला द्वारा निर्जमीकत किया जाता है।

(iii) ऑटोक्लेव (Autoclave) नम उष्मा (Moist Heat)-अकेले संवर्धन पात्र या माध्यम सहित, समस्त उपकरणों इत्यादि को ऑटोक्लेव, प्रेशर कुकर में **121°C पर 15 p.s.i. (Pound per square inch; 1.06 kg/cm-) पर 15 मिनट (20-50 ml medium) से 40 मिनट (2 litre medium) तक गर्म करके निर्जमीकृत किया जा सकता है**। कुछ प्लास्टिक के सवंर्धन पात्रों तथा माइक्रोपिपेट को ऑटोक्लेव किया जा सकता है लेकिन पात्र के ढक्कन उसी समय खोलने चाहिये जब दाब शून्य हो।

(iv) निस्पंदन द्वारा निर्जमीकरण (Sterilization by filtration)-उष्मा से प्रभावित होने वाले सभी यौगिक जैसे वृद्धि हॉर्मोन, वृद्धि नियामक (GAJ, Zeatin, ABA, Urea, Vitamin तथा Enzyme) को उच्च ताप पर उपचारित नहीं करना चाहिये।

इनको निर्जमीकृत करने के लिये विलयन को 0.45° वाली फिल्टर मेम्ब्रेन से गुजारा जाता है। **इस फिल्टर उपकरण (Filter appratus) को भी उपयोग में लेने से पूर्व ऑटोक्लेव द्वारा उपचारित किया जाता है।**

असंक्रमण (Aseptic condition) की स्थिति को बनाये रखने के लिये Laminar air flow chamber का उपयोग किया जाता है जिसमें निर्जमीकृत वायु को प्रवाहित किया जाता है। वायु को सर्वप्रथम Coarse prefitter से गुजारा जाता है जिससे बड़े particle अलग हो जाते हैं। इसके बाद इसे HEPA (High Efficiency Particulate Air) फिल्टर से प्रवाहित किया जाता है। इसमें 0.3°m से बड़े Particle अलग हो जाते हैं। इस निर्जमीकृत वायु को 1.8 km/hr से केबिनेट में प्रवाहित किया जाता है। इस वायु से कार्य क्षेत्र शुद्ध हो जाता हैं।

- **High-efficiency particulate air system(HEPA सिस्टम),** कम से कम 0.3 माइक्रोमीटर की तुलना में कम से कम 99.97 प्रतिशत महीन एयरबोर्न कणों को कैप्चर करने के लिए डिज़ाइन किया गया पार्टिकुलेट एयर-फिल्ट्रेशन सिस्टम है ;

- जैसा कि संयुक्त राज्य अमेरिका के ऊर्जा विभाग (DOE) और मानकीकरण के लिए यूरोपीय समिति द्वारा निर्दिष्ट किया गया है।
- यूरोपीय मानक DOE मानक के समान है; हालाँकि, यह पाँच HEPA वर्गों-H10 से H17 तक बढ़ती दक्षता को परिभाषित करता है।
- HEPA फ़िल्टर शब्द एक विशिष्ट फ़िल्टर डिज़ाइन के लिए नहीं बल्कि दक्षता के विशिष्ट स्तर (यानी, 99.97 प्रतिशत) को संदर्भित करता है
- HEPA फिल्टर 1940 के दशक में विकसित किए गए थे और पहले मैनहट्टन प्रोजेक्ट द्वारा एयरबोर्न रेडियोधर्मी संदूषकों के प्रसार को रोकने के लिए उपयोग किया जाता था।
- भवनों में हवा से वायरस, बैक्टीरिया, वायुजनित कवक, पराग, मानव बाल, और कण पदार्थ (जैसे कि धुएं के कण, पालतू जानवर, और धूल) को खत्म करने के लिए HEPA फिल्टर व्यावसायिक रूप से पेश किए गए थे।
- विमान और अस्पतालों में HEPA फिल्टर लगाए गए हैं, जो हवाई कवक, वायरस और बैक्टीरिया के प्रसार को रोकते हैं।
- अस्पताल की सेटिंग में और अन्य मेडिकल उपयोगों में HEPA फिल्टर आम तौर पर DOE मानक की तुलना में उच्च श्रेणी के होते हैं - अक्सर 99.99 प्रतिशत दक्षता, यूरोपीय प्रणाली में H14 - और उच्च तीव्रता वाली पराबैंगनी रोशनी से लैस होते हैं जो फिल्टर को फंसाने वाले किसी भी बैक्टीरिया और वायरस को मारते हैं।
- **झिल्ली फिल्टर के विपरीत**, HEPA फिल्टर, sieves or strainers की कार्रवाई पर भरोसा नहीं करते हैं, क्योकि वे(membrane filter)एक निश्चित आकार की तुलना में कुछ भी बड़ी चीज को पकड़ते हैं जबकि बाकी गुजरता है।
- इसके बजाय, HEPA फिल्टर, आम तौर पर 0.5 और 2 माइक्रोमीटर के बीच व्यास के साथ बेतरतीब ढंग से व्यवस्थित फाइबरग्लास फाइबर की एक pleated शीट हैं।
- एक मोटराइज्ड पंखा हवा को फिल्टर के माध्यम में को गुज़ारता है, जहां कणों को फंसाया जाता है जब वे तंतुओं मे चिपक जाते है या उनमें एम्बेडेड हो जाते हैं। सबसे छोटे कण गैस के अणुओं से टकराते हैं और इस तरह की टक्करें फिल्टर के माध्यम से उन कणों के मार्ग को धीमा कर देती हैं और उनके फंसने की संभावना को बढ़ा देती हैं।
- **HEPA फ़िल्टर ट्रैप कणों से लैस Air-purifying systems; उनका निपटान dispose नहीं करते हैं।**
- नतीजतन, HEPA सिस्टम आमतौर पर अन्य प्रक्रियाओं को अपना काम पूरा करने के लिए नियोजित करता है, जैसे कि बैक्टीरिया और वायरस को नष्ट करने के लिए उच्च-ऊर्जा पराबैंगनी प्रकाश....
- सक्रिय कार्बन का उपयोग अक्सर छोटे वाष्पशील रासायनिक अणुओं को सोखने के लिए किया जाता है, जो उन्हें गैसीय से ठोस अवस्था में परिवर्तित करते हैं; इसका गंध नियंत्रण पर अतिरिक्त प्रभाव पड़ता है ।
- Ionizer purifiers, अक्सर घर के उपयोग के लिए बेचे जाते हैं, विद्युत रूप से चार्ज किए गए गैस आयन उत्पन्न करते हैं जो हवाई कणों से जुड़ते हैं और उन्हें एक कलेक्टर प्लेट से चिपके रहते हैं।
- उन उपकरणों को HEPA filtration के विकल्प के रूप में या उसके साथ संयोजन conjunction में भी उपयोग किया जा सकता है।

(v) 70% एल्कोहल द्वारा (By 70% Alcohol)-ऐसी सतह जिसको अन्य विधियों से निर्जमीकृत करना संभव नहीं हो- जैसे लैमिनार फ्लो का प्लेटफॉर्म, काम करने वाले के हाथ इत्यादि को 70% एल्कोहल से साफ करके, हाथों को सुखाते हैं।

(vi) सतही निर्जमीकरण (Surface Sterilization)—सभी explant पर उपस्थित सूक्ष्मजीवों को हटाने व मारने लिये निर्जमीकारक कारकों (Sterilizing agents) का उपयोग किया जाता है। यह विधि उपयोग में लिये जाने वाले explant की सतह पर निर्भर करती है जो Contamination load तथा निर्जमीकृत कारक की tolerance का निर्धारण करती है।

- सतही निर्जमीकरण के लिये **Calcium hypochlorite (9-10%), Sodium hypochlorite (2%), Mercuric chloride (0.1-1%), Silver nitrate (1%), Bromine water (1-2%), H_2O_2 (10-12%)** व कुछ प्रतिजैविकों (Antibiotics) का उपयोग किया जाता है। इनमें सामान्यतया Calcium-hypochloride, Sodium hypochloride तथा $HgCl_2$, का उपयोग किया जाता है।

- उपचार प्राय: 5-30 मिनट तक किया जाता है क्योंकि ये कारक पादप ऊतकों के लिये विषाक्त होते हैं।
- इन कारकों की सांद्रता तथा उपचारित करने का समय भी न्यूनतम होना चाहिये ताकि ऊतक क्षति न्यूनतम हो उपचारित करने के पश्चात explant की सतह को शुद्ध जल के द्वारा उपचारित किया जाता है।

1. **Restriction endonucleases:** एक *endonuclease* एक enzyme है जो nucleic acid के phosphodiester bonds को एक internal site (एक *exonuclease* से नहीं काटा जाता, जो केवल दोनों सिरों में से एक सिरा के nucleotides को काटता है) कुछ endonucleases DNAs और RNAs के internal bond (अन्तः बन्धों) को randomly (यादृच्छिक) काटता है। हालांकि, ***restriction*** endonucleases specific (विशिष्ट) restriction sites पर dsDNA के दोनों strands को काटते हैं। Restriction endonucleases कई प्रकार के हैं और प्रत्येक restriction endonucleases एक restriction site के लिए अत्यधिक विशिष्ट हैं, जो ज्यादातर 4, 6 या 8 base pairs के होते हैं। कुछ अपवाद हैं जो बाद में discuss किये जायेंगे।

Three types of restriction endonucleases

Type I

- Type I enzymes को सबसे पहले खोजा गया था। इनकी recognition site अलग होती है और इनकी cleage site से काफी दूर होती है।
- इन restriction enzymes को कार्य करने के लिए Magnesium, ATP (adenosine triphosphate) और AdoMet (S-adenosyl methionine) की आवश्यकता होती है।
- Type I restriction enzymes में 3 subunits होती हैं।

Type II

- 3000 से भी ज्यादा अलग–अलग प्रकार के type II restriction endonuclease enzymes हैं।
- Type II restriction enzymes की recognition sites 4 से 8 base pairs लम्बी होती है और Mg^{2+} की उपस्थिति में सक्रिय होती है।
- इनको कार्य करने के लिए ATP या AdoMet की आवश्यकता नहीं होती है।
- ये restriction endonuclease ज्यादातर उसी site पर cut करते हैं, **जहां वे DNA को पहचानते** हैं और ये एक subunit के बने होते हैं।

Type III

- Type III restriction endonucleases recognition site से approximately 25 base pairs पर cut करते हैं।
- **Type I और Type II से अलग, Type III restriction endonucleases दो अलग–अलग nucleotide sequences को recognition sites की तरह पहचानकर कार्य करता है।**
- ये दो nucleotide sequences Type I और Type II द्वारा पहचाने गये sequences से अलग होते हैं, क्योंकि दो sequences non-palindromic और इनकी base pairing में एक दूसरे के विपरीत होते हैं।
- Type III restriction endonucleases को DNA restriction और methylation को पूर्ण करने के लिए AdoMet और ATP की आवश्यकता होती है।

Applications

►Restriction endonucleases को प्राथमिक रूप से DNA replication और protein expression experiments में genes को plasmid vectors में insert कराने में उपयोग किया जाता है।

- सामान्य रूप से उपयोग में लाया जाने वाला restriction endonuclease type II restriction endonucleases है।
- Vector में एक gene को insert कराने के लिए same restriction enzyme को plasmid DNA और gene insert पर use करते हैं। Restriction endonuclease से काटे जाने के बाद, इन्हें DNA ligase के द्वारा जोड़ दिया जाता है।
- इनको single nucleotide polymorphism को पहचानने में भी उपयोग किया जाता है, जो gene alleles से अन्तर पता करने में काम आती है।
- ये एक DNA की genotyping बिना sequencing की cost के allow कर सकता है। Restriction enzymes को ड़ालने के बाद फिर gel electrophoresis कराने पर, gel में उपस्थित bands की संख्या samples के genotype को बताता है।

Aadhar Institute iGuruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
9314503070
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: ,

- Restriction endonucleases, DNA fragmentation के लिए भी उपयोगी है। यह technique DNA को specific sites पर कटने के लिए allow करती है, जो एक निश्चित sequence का fragment में होना सुनिश्चित करती है और सभी टूकड़ें समान आकार के होते हैं। Fragmented होने के बाद, DNA कई प्रकार की analytic techniques के लिए ज्यादा उपयुक्त हो जाता है। यह genetic fingerprinting जैसे प्रक्रियाओं में भी उपयोग किया जाता है।

Restriction sites: सभी restriction sites ***palindromes*** हैं (इनमें same double-stranded DNA base sequence दोनों दिशाओं में होते हैं). उदाहरण के लिए अधिकतर काम में लिया जाने वाला ***Eco* RI** enzyme GAATT (5' से 3') sequence को पहचानता है। जब 5'- से 3'- पढ़ जाता है तो, complementary strand का sequence भी GAATTC होता है।

Bacteria restriction endonucleases को defense mechanisms (रक्षा तंत्र) (जैसेः viral invasion के विरूद्ध) की तरह उपयोग करता है। प्रत्येक प्रकार के bacterium में अपने स्वयं के restriction enzymes और specific recognition sites होती हैं। Foreign DNA को प्रभावी रूप से recognition sites पर cut लगाकर नष्ट कर दिया जाता है।

Bacteria अपने genome को, अपने DNA की restriction sites में base-modification से (सामान्यतः methylation से) बचाता है। अतः प्रत्येक strain के पास एक restriction endonuclease और DNA methylase, समान target विशिष्टताओं के साथ होता है,

"Restriction" endonuclease नाम इन अत्यधिक विशिष्ट nucleases को इसलिए दिया था क्योंकि ये foreign DNAs से invasion को जैसे कि bacterial viruses, को रोकता है।

Frequency of cutting: Restriction site specificity के कारण, restriction endonucleases DNA को fragments में cut करता है, जिनकी औसत लम्बाई का पता restriction site में उपस्थित base pairs की संख्या से (and to a lesser extent by the ratio of bases in the DNA) चलता है।

DNA जिसमें चारों bases समान मात्रा में होती हैं, DNA sense strand पर किसी स्थान पर प्रत्येक base की probabilty (होने की संभावना) (प्रायिकता) 1/4 होती है। 4 base pairs की एक restriction site के लिए उस sequence की random occurrence की प्रायिकता (1/4)(1/4)(1/4)(1/4) =$1/4^4$=1/256 है। 6 base pairs के लिए प्रायिकता=$1/4^6$ = 1/4096 है और 8 base pairs के लिए यह प्रायिकता =$1/4^8$ = 1/65536 है। अतः एक 6 base pairs restriction site वाला restriction endonuclease 4,096 base pairs औसत लम्बाई के fragments बनायेगा। ये fragment एक पूरे gene को रखने के लिए काफी बड़े होते हैं (अतः इसमें gene में इस restriction endonuclease के लिए कोई cut side नहीं है).

Effect of base composition: DNA जिसका base composition 50% GC 50% AT से अलग है (जो चारों bases के बराबर संख्या के समकक्ष है), एक site के लिए probability calculate करना आवश्यक है जो इसके प्रत्येक घटक की probabilities का गुणन होता है। अगर एक DNA 66.7% GC है (मतलब 2/3 base pairs GC है) और base pairs का random orientation (दिशात्मकता) होती है तो प्रत्येक A एवं T दोनों की probabilities 1/6 होगी और G & C की probabilities 1/3 होगी। अतः GAATTC की probability (1/3)(1/6)(1/6)(1/6)(1/6)1/3) = 1/11,664 हा गह, जो 1/4096 से अलग है जब चारों bases बराबर मात्रा में उपस्थित थे। अतः ***Eco* RI** द्वारा बनाये गये fragment की औसत लम्बाई DNA जिसमें higher GC content हैं उसमें ज्यादा होगी।

Naming of restriction endonucleases: Restriction endonucleases के नाम bacteria की species और strains जिनसे ये derive हुए हैं पर रखा जाता है। **1st letter genus** के लिए होता है और अगले **2 letters(2nd and 3rd) species** के लिए **4th strain के लिए** और **Roman numeral जो strain के enzyme को बताता है।** 1st तीन letters, जो genus और species के लिए होते हैं, उन्हें italics में लिखते हैं। अतः ***Eco* RI**, *E. coli* strain RY13 से प्राप्त पहला restriction endonuclease है।

नीचे दी हुई **list में, केवल एक strand के palindrome का sequence दिया जा रहा है (दूसरा इसका reverse complement है और 5' से 3' पढ़े जाने पर identical** होगा).

Cut site को vertical line (|) जो कि bases के बीच होती है, से समझाया गया है

Sticky ends (नीचे स) बनते हैं, जब भी cut sequence के exact center पर नहीं लगता। Pu मतलब कोई purine (A या G), Py मतलब काई pyrimidine (C या T). (A/T) मतलब A या T (an AT base pair in either orientation).

Note: *Eco* RII असामान्य है क्योंकि उसमें recognition sequence एक (विषम) odd number के bases का होता है।

Aadhar Institute iGuruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series 9314503070

Aadhar Institute 27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015 Phone: ,

- ***Aac65* I G|GTACC**
- ***Alu* I AG|CT**
- ***Bam* HI G|GATCC**
- ***Bgl* II A|GATCT**
- ***Cla* I AT|CGAT**
- ***Eco* RI G|AATTC**
- ***Eco* RII |CC(A/T)GG**
- ***Hae* III GG|CC**
- ***Hin* dII GTPy|PuAC**
- ***Hin* dIII A|AGCTT**
- ***Hpa* II C|CGG**
- ***Kpn* I GGTAC|C**
- ***Mbo* I |GATC**
- ***Not* I GC|GGCCGC**
- ***Nst* I ATGCA|T**
- ***Pst* I CTGCA|G**
- ***Pvu* I CGAT|CG**
- ***Sac* I GAGCT|C**
- ***Sal* I G|TCGAC**
- ***Sma* I CCC|GGG**
- ***Xma* I C|CCGGG**

Isoschizomers: कुछ मामलों में, 2 या ज्यादा अलग–अलग enzymes identical sites को पहचान करते हैं। अलग–अलग source (स्त्रोत) से प्राप्त enzymes **जो same site को पहचानते** हैं और **चाहे वे समान या असमान** तरीके से **काटते हों,** उन्हें isoschizomers कहते हैं। ***Sma* I** और ***Xma* I** जो कि list में दिये हैं, ये एक isoschizomers का उदाहरण है, जो एक ही site को अलग–अलग तरीके से cut करते हैं।

Neoschizomer: एक enzyme जो same sequence को पहचानता है लेकिन अलग–अलग तरह से काटता है। Neoschizomers एक विशिष्ट प्रकार (subset) के Isoschizomers हैं। **उदाहरण के लिए Sma I (CCC/GGG) और Xma I (C/CCGGG) एक दूसरे के neoschizomers हैं।**

Isocaudomer: एक enzyme जो थोडे अलग sequence को पहचानता है, लेकिन **एक समान सिरे बनाता** है।

Aadhar Institute iguruji

2. DNA methyltransferases

DAM Methyltransferase: *E. coli* के dam+ strains में, 5 ...GATC...3 sequence के adenine residues के N6 atom पर methyl group जुड़ा रहता है। DNA adenine methylase एक single-subunit nucleotide-independent (type II) DNA methyltransferase है जो recognition sequence 5 GATC 3 में adenine residues पर S-adenosylmethionine से methyl group का transfer करता है।

- **E. coli में, efficient DNA mismatch repair के लिए dam methylation आवश्यक होता है।**
- oriC पर सटीक DNA replication के initiation के लिए oriC पर उपस्थित chromosomes के segregation और partition के लिए और gene expression के modulation में भी आवश्यक है।
- **Methyl group के adenine के N6 atom पर transfer से एक bulky alkyl residue को B-form DNA के major groove में रख दिया जाता है,** जिनकी recognition sites में sequence 5 GATC 3 होता है।
- **इसके विपरीत कुछ restriction enzymes को GATC-residues पर DNA को cleave करने के लिए methylation की आवश्यकता होती है।**

Download iGuruji APP for Video courses and online test series 9314503070
Aadhar Institute 27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015 Phone: ,

DCM Methyltransferase

dcm 5 ...CCAGG...3 या 5 ...CCTGG...3 sequence में उपस्थित cytosine के C5 position पर methyl groups जोड़ता है और इस प्रकार EcoRI की तरह restriction enzymes से cleavage को रोकता है।

3. **Restriction Mapping:** Restriction endonucleases से DNA के बड़े pieces को छोटे टुकड़ों में तोड़ा जा सकता है। यदि 2 restriction endonucleases उपयोग किये जाते हैं, तो प्रत्येक fragment जो 1st enzyme से बना है उसे भी दूसरे enzyme द्वारा और भी छोटे टुकडों में काट दिया जाता है। Electrophoresis और fragments की mobilities के मुकाबले में (fragments with those of "markers" of known size) fragments के relative size का पता चलता है। जिनमें cut बनाये हैं, उस क्रम को उल्टा करने पर, overlapping fragments को align करके मूल DNA का एक पूर्ण restriction map बना सकते हैं।

4. **Vectors:** Cloned genes का replication प्राप्त करने के लिए इनको self-replicating genomes में ड़ालना आवश्यक है, जिन्हें vectors कहते हैं। हालांकि bacterial plasmids को vectors की तरह उपयोग किया जाता है, जैसा कि नीचे बताया गया है। इसके अलावा भी कई प्रकार के vectors होते हैं। एक vector में निम्न properties होने चाहिए:

   1. Vector में एक origin of replication (*ori*$^+$) होना चाहिए जो DNA को अपनेआप replication के लिए allow करे और DNA में स्वतंत्र रूप host DNA होता है।
   2. Cloning के लिए उपयोगी, circular vector को बिना किसी vector DNA नुकसान के restriction endonucleases से open करते हैं। इसके लिए विशिष्ट restriction site का होना आवश्यक है जो पूरे circule vector DNA में केवल 1 होनी चाहिए। Restriction endonuclease जो कि site विशिष्ट है, से काटने पर circular DNA linearize हो जाता है। Cut सिरो को वापस जोड़ने पर पूरा vector फिर से बन जाता है। यह cut सिरो के बीच foreign DNA seqeuence को अन्दर जाने के लिए allow करके एक नया, बड़ा circular vector बनाता है, जिसमें एक inserted sequence होता है जैसे: एक cloned coding sequence **यह ध्यान दिया जाना आवश्यक है कि कुछ प्रकार के vectors का genome circular (गोलाकार) होता है।**
   3. ज्यादातर vectors कुछ selectable marker (जैसे कि antibiotic resistance) को code करते हैं। अतः host organism को विशेष परिस्थितियों में जीवित रहने के लिए vector की उपस्थिति आवश्यक है।
   4. इसमें एक second marker भी होना चाहिए जो cloned DNA वाले vectors और cloned DNA रहित vectors के बीच अन्तर कर सके।

   Positive selection- Positive selection में, host strain में कार्यात्मक जीन की कमी मीडिया पर नहीं बढ़ती है, लेकिन recombinant clone के साथ परिवर्तित होस्ट मीडिया में बढ़ने के लिए आवश्यक जीन उत्पाद की आपूर्ति करने में सक्षम हो सकता है।

   - **Negative selection -** Negative selection में, एक रासायनिक यौगिक मीडिया में जोड़ा जाता है जो जीन उत्पाद की उपस्थिति में cytotoxic agent में परिवर्तित हो जाएगा, और परिणामस्वरूप, यह wild प्रकार की कोशिकाओं के विकास की अनुमति नहीं देता है। लेकिन पुनः संयोजक क्लोन के साथ तब्दील host strain एक गैर-कार्यात्मक जीन उत्पाद है और मीडिया में यौगिक की उपस्थिति में बढ़ता है।

5. **Plasmids:** Bacterial plasmids छोटे circular DNAs होते हैं, जिनमें उनके स्वयं के origins of replication होते हैं और bacterial cells में autonomous (स्वायत्त) replication में समर्थ होता है। Plasmids जिनमें उचित genes होते हैं, वे antibiotics प्रतिरोधी bacteria बनाने में सक्षम होते हैं, जो उन bacterias का चयन करने में संभव होते हैं जिन्होंने plasmid लिया है। आकार छोटा होने के कारण, plasmid में एक restriction endonuclease के लिए केवल 1 cut site होती है, जो foreign DNA के समाकलन (Integration) के लिए circle को open करता है और plasmid के हिस्सो को खत्म होने से बचाता है। इनको कई तरीकों से modify भी किया जा सकता है। कई multiple cloning sites(MCS) के addition से बदलाव कर सकते हैं।

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
9314503070
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: ,

एक अन्य trick जिसका उपयोग प्राकृतिक रूप से उपस्थित cut sites को हटाने या बनाने में करते हैं। Codon के 3rd base को बदल कर restriction endonuclease की cut site को हटाता है। Amino acid के सम्बन्ध में ऐसे mutations silent हो हैं, लेकिन restriction endonucleases से DNA के cleavage के सम्बन्ध में नहीं।

Subcloning

Cloning experiment का सबसे सरल तरीका जो DNA cloning की कई basic पद्धतियों को प्रदर्शित करता है, cloned DNA का एक vector से दूसरे vector में transfer है, उपयोग जिसे subcloning कहा जाता है। यह एक large cloned fragment के short region को अधिक विस्तार में जाँच करने के लिए उपयोग किया जा सकता है या एक gene को एक ऐसे vector में transfer करने के लिए जो इसे particular species में express करने के लिए design किया गया है। उदाहरण के लिए E.coli में plasmid vectors के मामले में, जो सबसे सामान्य स्थिति है, प्रक्रिया को निम्न चरणों में बाँटा जा सकता है।

- इच्छित cloned sequence रखने वाले plasmid DNA का isolation.
- Restriction endonucleases के साथ plasmid का discrete fragment में digestion (cutting).
- Agarose gel electrophoresis द्वारा fragments का separation.
- Desired target fragment का purification.
- एक नया recombinant molecule बनाने के लिए एक नए plasmid में fragment का ligation (joining).
- Ligated plasmid का एक E. *coli* strain में transfer (transformation).
- Transformed bacteria का selection.
- Recombinant plasmids का analysis.

Plasmids: एक plasmid, bacterial chromosome से अलग एक दूसरा DNA molecule है जो स्वतंत्र रूप से replication और transmission के लिए सक्षम है। Plasmids circular है और या तो bacterial chromosome से अलग या bacterial chromosome के साथ जुड़े हुए होते है। विशिष्ट परिस्थितियों को छोडकर वे host cell के लिए आवश्यक नहीं होते है। कई तरह के bacterial plasmids है, लेकिन इनमें 3 सबसे अधिक अध्ययन किए गए प्रकार है : -

(1) F plasmids (conjugation के लिए उत्तरदायी है)
(2) R plasmids (antibiotics के प्रति resistance के लिए genes रखता है) और
(3) Col plasmids (colicins के लिए code करते है, वे proteins जो sensitive E.coli cells को kill (खत्म) करते है, वे particular colicin के प्रति immunity प्रदान करने वाले genes भी रखते है). Plasmids या तो conjugative (transmissible) हो सकते है (conjugation के द्वारा DNA transfer की मध्यस्तता करते है और इस प्रकार एक population के bacterial cells के बीच तेजी से वृद्ध करता है) e.g., F plasmids, कई R plasmids और कुछ Col plasmids, या nonconjugative (conjugation द्वारा DNA transfer mediate नहीं होता है) e.g., कई R plasmids और अधिकतर Col plasmids.

Stringent and Relaxed Replication: Mainly इसके replication control system के कारण bacterial cell में प्रत्येक plasmid एक विशिष्ट copy number कायम होता है।

इस संबंध में plasmids 2 प्रकार के होते है:- (1) single copy और (2) multicopy plasmids. Single copy plasmids का replication control उनके bacterial host cells की तरह है, इसलिए वे bacterial chromosome के साथ replicate और segregate होते है, इसे **stringent replication** कहा जाता है। इसके contrast में, multicopy plasmids का replication control bacterial host genome से अलग होता है, इसलिए host genome के प्रत्येक replication के लिए वे एक से अधिक बार replication करते है। इसे **relaxed replication** कहा जाता है/

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
9314503070
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: ,

Stringent Plasmid	Relaxed Plasmid
Low #	High #
Depend on protein synthesis of system (Host)	Independent (self)
Stop replicating upon using protein synthesis inhibitors.	Get amplify upon using protein synthesis inhibitors.
Replicates with Genomic DNA	Independent of genomic DNA (Only DNA Poly. Required)

TABLE: Antibiotic resistance genes found in R plasmids, their proteins and mechanism of antibiotic resistance

Antibiotic gene	Protein produced by the gene conferring resistance	Mechanism of resistance
Ampicillin (amp)	Penicillmase or β-lactamase	Hydrolysis of **C-N** bond in β-lactam ring
Kanamycin (kan)	Kanamycin acetyltransferase*	N-acetylation of the antibiotic
Neomycin (neo)	Aminogycoside phospho transferase	O-phosphorylation of the antibiotic
Streptomycin (str)	Streptomycin phospho transferase	Phosphorylation of OH on the antibiotic
Streptomycin	adenylate synthetase	Adenylation of the OH on the antibiotic

Some of major reporter genes/ protein used in RDT

Protein	Activity & Measurement
CAT (chloramphenicol acetyltransferase)	Transfers radioactive acetyl groups to chloramphenicol; detection by thin layer chromatography and autoradiography
GAL (β-galactosidase)	Hydrolyzes colorless o-nitrophenol-β-galactoside to o-nitrophenol and galactose (colored products.)
GUS (β-glucuronidase)	Hydrolyzes colorless X-gluc (5-bromo, 4-chloro, 3-indoyl ß–glucuronide) to yield colored products.
LUC (luciferase) enzyme from firefly (*Photinus pyralis),*	Oxidizes Luciferin to oxyluciferin emitting photons.
GFP (green fluorescent protein) from the jelly-fish *Aequoria Victoria*	Fluoresces on irradiation with UV.

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
9314503070
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: ,

There are now several variants of GFP with altered fluorescence emission to give different colours – YFP (yellow), BFP (blue), CFP (cyan).	

VECTORS

एक vector एक DNA molecule जो appropriate host cell में replicate होने की ability रखता है और जिसमें cloning के लिए clone किया जाने वाला DNA fragment (इसे DNA insert कहा जाता है) integrated होता है। इस प्रकार, एक vector को एक origin of DNA replication (जिसे ori से denote किया जाता है) रखना चाहिए जो host cell में function करता है। किसी extra-chromosomal small genome, e.g., plasmid, phage और virus को vector की तरह use किया जा सकता है।

Properties of A Good Vector

एक अच्छे vector को निम्न properties रखनी चाहिए: -

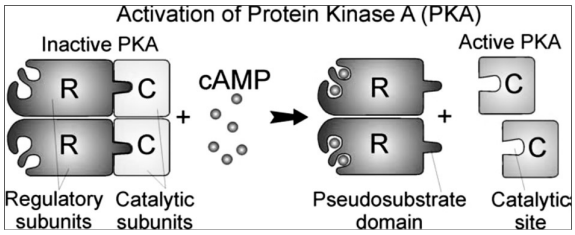
1. इसे autonomously replicate होने में सक्षम होना चाहिए। जब cloning का उद्देश्य DNA insert की कई copies प्राप्त करना है, vector replicon को relaxed control में होना चाहिए, जिससे यह single host cell में अपनी multiple copies generate कर सके।
2. इसे isolate और purify करना आसान हो।
3. इसे host cells में easily introduce किया जा सके, i.e., vector के साथ host का transformation easy होना चाहिए।
4. Vector मे suitable marker genes होने चाहिए जो transformed host cells के easy selection को allow करता है।
5. जब उद्देश्य gene transfer है, इसमें स्वयं का DNA insert जो यह carry करता है, को host cell के genome में integrate करने की क्षमता होनी चाहिए।
6. DNA insert रखने वाले vector molecules के साथ transformed cells (recombinant या chimaeric vector) सिर्फ vector molecules द्वारा transformed cells में selectable या identifiable होने चाहिए।
7. एक vector को अधिक से अधिक restriction enzymes के लिए विशिष्ट target sites रखनी चाहिए, जहां DNA आवश्यक कार्यो को बाधित किये बिना जोडा जा सकता है।
8. जब DNA insert के expression की आवश्यकता होती है, vector को at least suitable control element रखने चाहिए, promoter, orperator और ribosome binding sites; कई दूसरे factors भी important हो सकते है।

Cloning and Expression Vectors

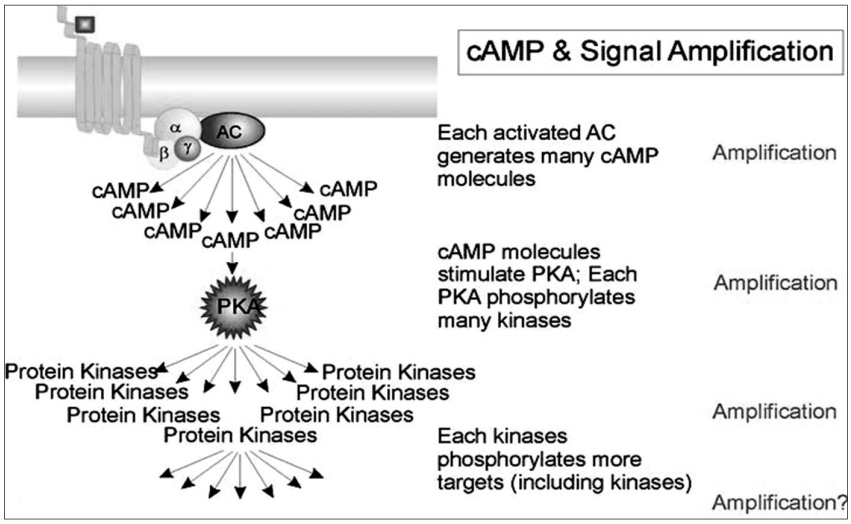
- एक suitable host में DNA inserts के propagation के लिए use किये गये सभी vectors को cloning vectors कहा जाता है। लेकिन जब एक vector DNA insert के expression के लिए या इसके द्वारा specified protein के production के लिए design किया जाता है, इसे expression vector कहा जाता है।
- As a rule, इस प्रकार के expression vector at least सभी regulatory sequence i.e., promoters, operators, ribosomal binding sites etc. रखते है, जो चुने गए host में optimum function रखती है।
- सभी cloning vectors relaxed replication control रखते है, इसलिए वे per host cell अनेक प्रतियाँ उत्पन्न करते है।
- जब एक eukaryotic gene को एक prokaryote में express किया जाता है, eukaryotic coding sequence को prokaryotic promoter या ribosome binding site के बाद place किया जाना चाहिए क्योंकि eukaryotic regulatory sequences prokaryotes में recognize नहीं होती है।
- साथ ही, eukaryotic genes, as a rule, उनके coding regions में उपस्थित introns (noncoding regions) रखते है। Eukaryotic genes के उचित expression के लिए इन introns को हटाया जाना चाहिए क्योंकि prokaryotes में RNA transcript

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
9314503070
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: ,

6. cAMP Regulation of PKA

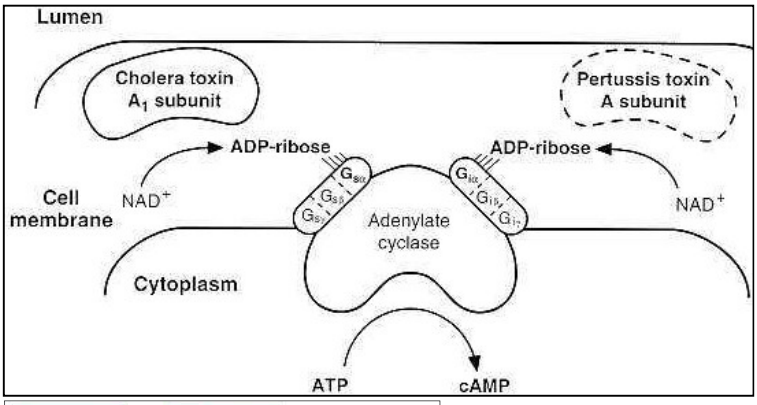


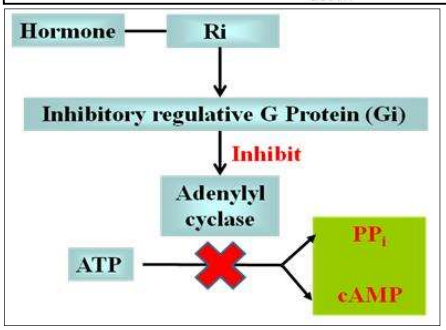
Protein kinase A विभिन्न प्रकार के ऊतकों और सेल प्रकारों में cAMP का एक प्राथमिक लक्ष्य है। इसकी निष्क्रिय अवस्था में दो regulatory subunits एक निष्क्रिय अवस्था में दो सब्सट्रेट बाइंडिंग (उत्प्रेरक) सबयूनिट रखते हैं। regulatory subunits में एक pseudosubstrate डोमेन उत्प्रेरक सबयूनिट के उत्प्रेरक डोमेन 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। $G\alpha_i$ 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 हैं, जिसकी वजह से diarrhoea हो जाता हैं, 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 रूक 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।

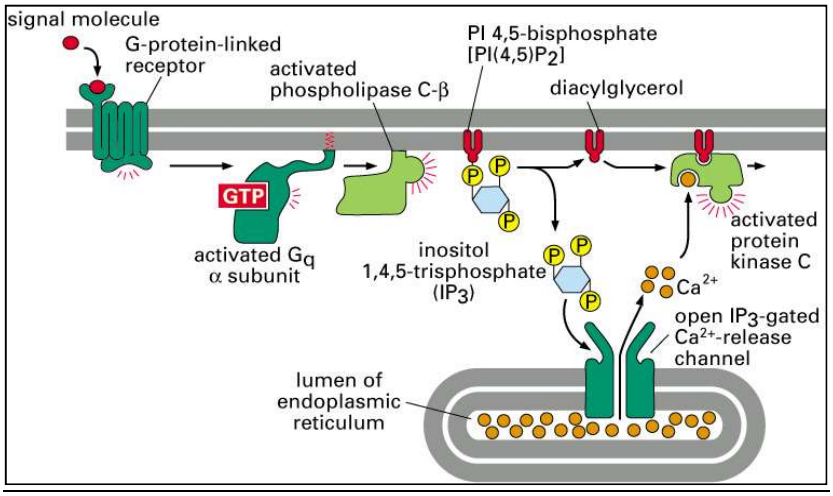
3. $G\alpha_q$

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

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

$G\alpha_q$, 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 (PIP_2) **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. PIP_2 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 $G_{q\alpha}$-GTP Phospholipase C को सक्रिय करता है।
   - ► Ca^{2+}, 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. PIP_2 का Phospholipase C द्वारा cleavage **से** 2 secondary messengers **प्राप्त होते** है: inositol-1,4,5-trisphosphate (IP_3), और diacylglycerol (DG)
4. Diacylglycerol, Ca^{2+} के साथ Protein Kinase C को सक्रिय करता है, जो कई cellular proteins के phosphorylation को catalyze करके, उनकी सक्रियता बदल देते है।
5. IP_3 (inositol-1,4,5-trisphosphate), endoplasmic reticulum (ER) membranes में Ca^{2+} release channels सक्रिय करता है। ER में stored Ca^{2+} cytosol में मुक्त होता है। जहाँ ये calmodulin से जुड सकता है या Protein Kinase C को सक्रिय कर सकता है।

Protein Kinase C (PKC)

They have following features: -

• **ये** Ser/Thr Kinases **होते है। जो कि** Ca2+, phospholipids and diacylglycerol (DAG) **द्वारा सक्रिय होते है।**

• **सामान्यतः ये** cytosol **में रहते है लेकिन सक्रिय होने पर ये** cell membrane **पर पहुँचकर कई** substrates **को** Phosphorylate **करते है 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 है।**

Signal turn-off OH, Ca^{2+}-ATPase pumps और IP_3 degradation से cytosol में से Ca^{2+} का removal शामिल **करता है:** IP_3 (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 है।

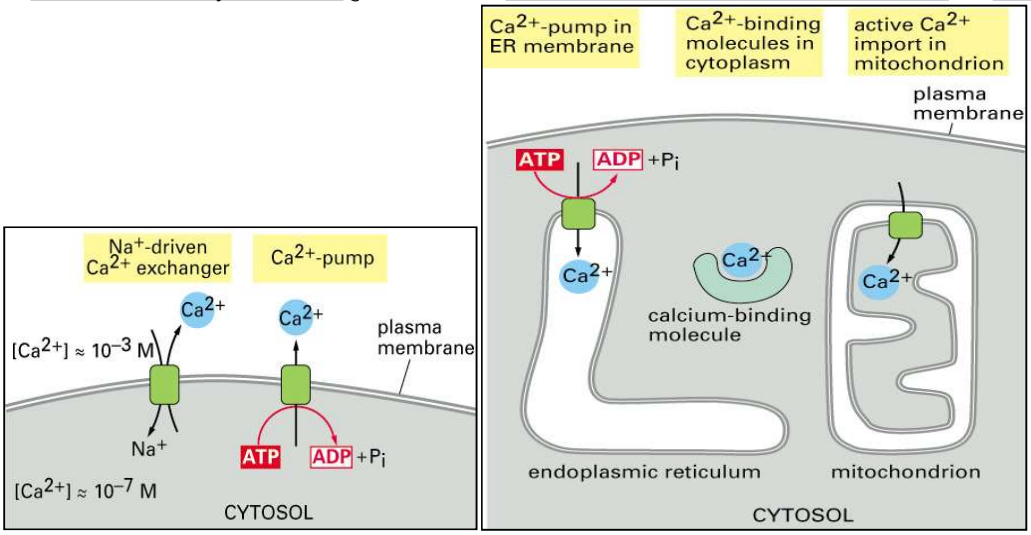
b. Phosphatidylinositol-3-Kinases जबकि catalyze phosphatidylinositol का inositol ring की 3 positions पर phosphorylation catalyze करता है। **For example:** phosphatidylinositol-3-phosphate (PI-3-P) . **PI-3-P, PI-3,4-P_2, PI-3,4,5-P_3, और PI-4,5-P_2** के signaling roles होते हैं।

Activated **Protein Kinase B (also called Akt) ब**हुत 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।

Ca^{++} Signals

Modulation of Cytosolic [Ca^{++}]

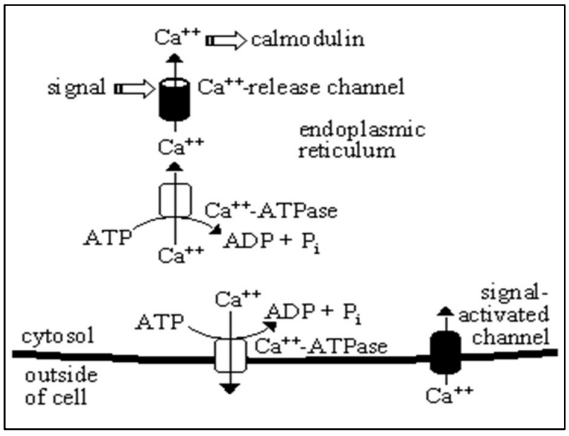
- Cytosolic [Ca^{2+}] सामान्यतः one micromolar से कम होता है, किसी और endoplasmic reticulum (ER) membrane में मौजूद Ca^{2+}- ATPase pumps इस low concentration को बनाये रखते हैं, Ca^{2+} को cytosol से दूर cell के बाहर या ER में transport करके।
- Extracellular Ca^{2+} level mammalian organisms में millimolar range में होता है। Plasma membrane Ca^{2+} channels की opening Ca^{2+} signal को शुरू या बनाये रख सकती है।
- Ca^{2+} ER में भी तुलनात्मक रूप से ज्यादा होता है, जो एक major internal reservoir की तरह कार्य करता है, जिसमें से Ca^{2+} signaling के दौरान cytosol में Ca^{2+} release होता है।
- Mitochondria और lysosomes भी कुछ परिस्थितियों में Ca^{2+} release करते हैं और Ca^{2+} reservoir की तरह कार्य करते हैं।



- ER lumen में Ca^{2+}-binding domains free Ca^{2+} concenteration को buffer करते हैं और Ca^{2+} storage के लिए क्षमता बढा देते हैं। ER Ca^{2+}-binding proteins में per molecule 20-50 low affinity Ca^{2+}-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 Ca^{2+} concentration indicator dyes या उन proteins से monitor किया जाता है, जो या तो luminescent हैं या फिर Ca^{2+} से जुड के अपनी fluorescence change कर लेते हैं। **Fluorescent indicators confocal fluorescence microscopy में use होने वाले, high-resolution imaging और cells में Ca^{2+} fluctuations का quantitation provide करते हैं।**



Ca^{2+} (cytosolic) में transient increase one या Ca^{2+}-release या Ca^{2+}-entry channels की vicinity में localized किया जा सकता है। ऐसा localized Ca^{2+} "puff" या "spark" उन effectors को activate करता है, जो additional Ca^{2+} release induce करते हैं, जिनसे cytosolic Ca^{2+} में more widespread increase होता है। Higher cytosolic Ca^{2+} की एक “wave” neighboring cells में भी फैल सकती है।

Ryanodine Receptor:

एक Ca^{2+} Release Channel

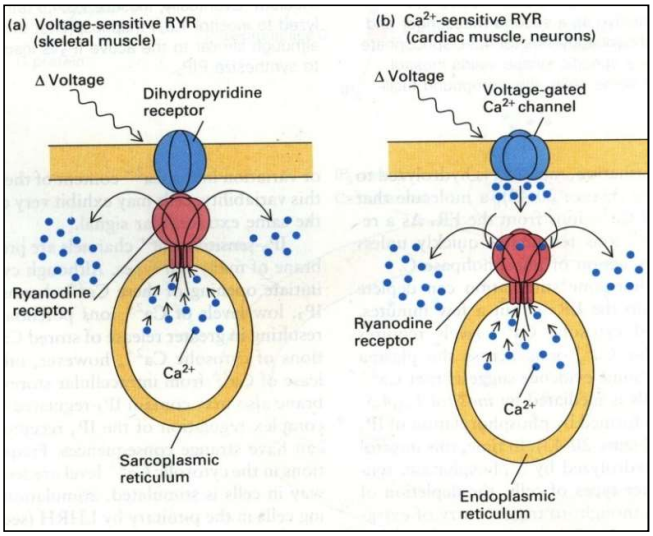
Sarcoplasmic reticulum (SR) की membrane में एक large Ca^{2+}-release channel, ryanodine receptor(इसकी plant alkaloid ryanodine से sensitivity की वजह से) कहलाता है। जब SR lumen से cytosol में Ca^{2+} ryanodine receptor के द्वारा release होता है Skeletal और cardiac muscle का संकुचन सक्रिय होता है ।

T tubules muscle cell plasma membrane के धसने 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+} पहलें 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 है।

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 बढाता 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 है 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

टेरिडोफाइट्स की बन्धुता (Affinities of Pteridophytes)

पादप जगत में टेरिडोफ़ाइट्स की स्थिति ब्रायोफ़ाइट्स व जिम्नोस्पर्म के बीच है। ये कुछ लक्षणों में ब्रायोफाइट्स से तथा कुछ लक्षणों में जिम्नोस्पर्म से समानता दर्शाते हैं। परन्तु इनमें अनेक विशिष्ट लक्षण हैं, जिनके आधार पर इन्हें एक अलग समूह में रखा गया है। नीचे इस समूह के पौधों की ब्रायोफ़ाइट्स व जिम्नोस्पर्म से बन्धुता (affinities) का उल्लेख किया गया है।

[I] टेरिडोफाइट्स की ब्रायोफ़ाइट्स से समानताएँ (Resemblances of pteridophytes with bryophytes)

टेरिडोफ़ाइट्स ब्रायोफाइट्स से निम्नलिखित लक्षणों में समानता दर्शाते हैं

(1) **दोनों समूहों में स्पष्ट विषमरूपी पीढ़ी एकान्तरण (heteromorphic alternation of generation) पाया जाता है।**

(2) **लैंगिक जनन विषमयुग्मकी (oogamous) होता है**। नर तथा स्त्री जननांग क्रमशः पुंधानी व स्त्रीधानी कहलाते हैं तथा ये बहुकोशिकीय होते हैं। दोनों समूहों के जननांगों पर बन्ध्य कोशिकाओं का एक सुरक्षात्मक आच्छद (जैकेट) पाया जाता है।

(3) दोनों समूहों में पुमणु कशाभिक व गतिशील (motile) तथा अण्ड अगतिशील (non-motile) होता है।

(4) दोनों समूहों में निषेचन जल की उपस्थिति में होता है।

(5) अनेक टेरिडोफाइट्स भी ब्रायोफाइट्स के समान समबीजाणुक (homosporous) होते हैं।

(6) साइलोफ़ाइटेलीज़ (Psilophytales) व साइलोटेलीज़ (Psilotales) गण के सदस्यों में ब्रायोफाइट्स के समान मूलाभास (rhizoids) पाये जाते हैं।

[II] टेरिडोफाइट्स एवं ब्रायोफाइट्स में असमानताएँ (Differences between pteridophytes and bryophytes)

टेरिडोफाइट्स, ब्रायोफ़ाइट्स से निम्नलिखित लक्षणों में भिन्न हैं

(1) टेरिडोफाइट्स का पादप काय बीजाणुद्भिदी (sporophytic) होता है, जबकि ब्रायोफ़ाइट्स का पादप काय युग्मकोद्भिदी (gametophytic) है।

(2) सभी टेरिडोफ़ाइट्स का पादप काय जड़, पत्ती व स्तम्भ में विभेदित होता है, परन्तु ब्रायोफ़ाइट्स में पादप काय थैलाभ (thalloid) अथवा पर्णिल (foliose) होता है।

(3) टेरिडोफ़ाइट्स का पादप काय ब्रायोफ़ाइट्स के पादप काय की तुलना में बहुत बड़ा होता है।

(4) टेरिडोफ़ाइट्स का संवहन तन्त्र (vascular system) सुविकसित तथा जाइलम व फ्लोएम में विभेदित होता है, परन्तु ब्रायोफ़ाइट्स में संवहन तन्त्र अनुपस्थित अथवा अल्प विकसित होता है।

(5) टेरिडोफ़ाइट्स में कायिक प्रवर्धन (vegetative multiplication) ब्रायोफाइट्स की तुलना में बहुत कम पाया जाता है।

(6) सभी ब्रायोफ़ाइट्स समबीजाणुक हैं, जबकि अनेक टेरिडोफ़ाइट्स में विषमबीजाणुकता (heterospory) पायी जाती है।

(7) टेरिडोफाइट्स में बीजाणुद्भिद स्वपोषित एवं स्वतन्त्र (autotrophic and independent) होता है, जबकि ब्रायोफ़ाइट्स में यह पूर्णतः अथवा आंशिक रूप से युग्मकोद्भिद पर आश्रित होता है।

(8) ब्रायोफ़ाइट्स के बीजाणुद्भिद में बीजाणुओं के साथ प्रायः इलेटर (elaters) भी पाये जाते हैं, परन्तु टेरिडोफ़ाइट्स में इनका प्रायः अभाव होता है।

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

[III] टेरिडोफाइट्स की जिम्नोस्पर्म से समानताएँ (Resemblances of pteridophytes with gymnosperms)

टेरिडोफ़ाइट्स, जिम्नोस्पर्म से निम्नलिखित लक्षणों में समानता दर्शाते हैं :

(1) दोनों समूहों में पादप काय बीजाणुद्भिदी तथा जड़, स्तम्भ व पत्तियों में विभेदित होता है।

(2) बीजाणुभिद तथा युग्मकोद्भिद प्रवस्था में नियमित पीढ़ी एकान्तरण पाया जाता है।

(3) दोनों समूहों में युवा पत्तियाँ कुंडलित विन्यास (circinate vernation) दर्शाती हैं।

(4) दोनों समूहों में संवहन तन्त्र सुविकसित तथा जाइलम व फ्लोएम में विभेदित होता है। जाइलम में वाहिकाएँ (vessels; जिम्नोस्पर्म के नीटेलीज़ गण को छोड़कर) तथा फ्लोएम में सहकोशिकाएँ (companion cells) अनुपस्थित होती हैं।

(5) जिम्नोस्पर्म की भाँति अनेक टेरिडोफ़ाइट्स विषमबीजाणुक दशा दर्शाते हैं।

(6) **टेरिडोफाइटस के समान कुछ जिम्नोस्पर्म के पमण (जैसे साइकैस, गिंगो) पक्ष्माभयुक्त (ciliated) होते हैं। कुछ टेरिडोफाइट्स (जैसे सिलेजिनैला) में गुरुबीजाणु (megaspore) स्थायी रूप से गुरुबीजाणुधानी (megasporangium) के अन्दर रहते हैं। यह लक्षण सभी जिम्नोस्पर्म में होता है।**

[IV] टेरिडोफाइट्स एवं जिम्नोस्पर्म में असमानताएँ (Differences between pteridophytes and gymnosperms)

टेरिडोफ़ाइट्स, जिम्नोस्पर्म से निम्नलिखित लक्षणों में भिन्न हैं

(1) टेरिडोफाइट्स अधिकांशतः नम, छायादार, स्थलीय आवासों में पाये जाते हैं, जबकि जिम्नोस्पर्म प्रायः मरुद्भिद आवासों में पाये जाते हैं।

(2) जिम्नोस्पर्म में मूसला जड़ें (tap roots) होती हैं, जबकि टेरिडोफ़ाइट्स में मूसला जड़ें अल्पकालिक (ephemeral) होती हैं तथा शीघ्र ही इनके स्थान पर अपस्थानिक जड़ें उत्पन्न हो जाती हैं।

(3) टेरिडोफाइट्स में जिम्नोस्पर्म के समान कैम्बियम नहीं पाया जाता है। अतः इनमें द्वितीयक वृद्धि नहीं होती है।

(4) टेरिडोफ़ाइट्स की स्त्रीधानी में ग्रीवा नाल कोशिकाएँ (neck canal cells) पायी जाती हैं, जबकि जिम्नोस्पर्म में इन कोशिकाओं का अभाव होता है।

(5) टेरिडोफ़ाइट्स की कुछ विषमबीजाणुक जातियों को छोड़कर सभी समबीजाणुक जातियों में बीजाणुओं का युग्मकोद्भिद में विकास उनके बीजाणुधानी से प्रकीर्णन (dispersal) के पश्चात् होता है। परन्तु जिम्नोस्पर्म में स्त्री युग्मकोद्भिद का विकास बीजाण्ड के अन्दर होता है जो स्थायी रूप से बीजाणुद्भिद से संलग्न होता है तथा लघुबीजाणुओं का प्रकीर्णन युग्मकोद्भिद के विकास की विभिन्न प्रवस्थाओं में होता है।

(6) जिम्नोस्पर्म में परागकण (लघुबीजाणु, pollens or microspores) पाये जाते हैं, जबकि टेरिडोफ़ाइट्स में इनके स्थान पर पुमणु (antherozoids) पाये जाते हैं।

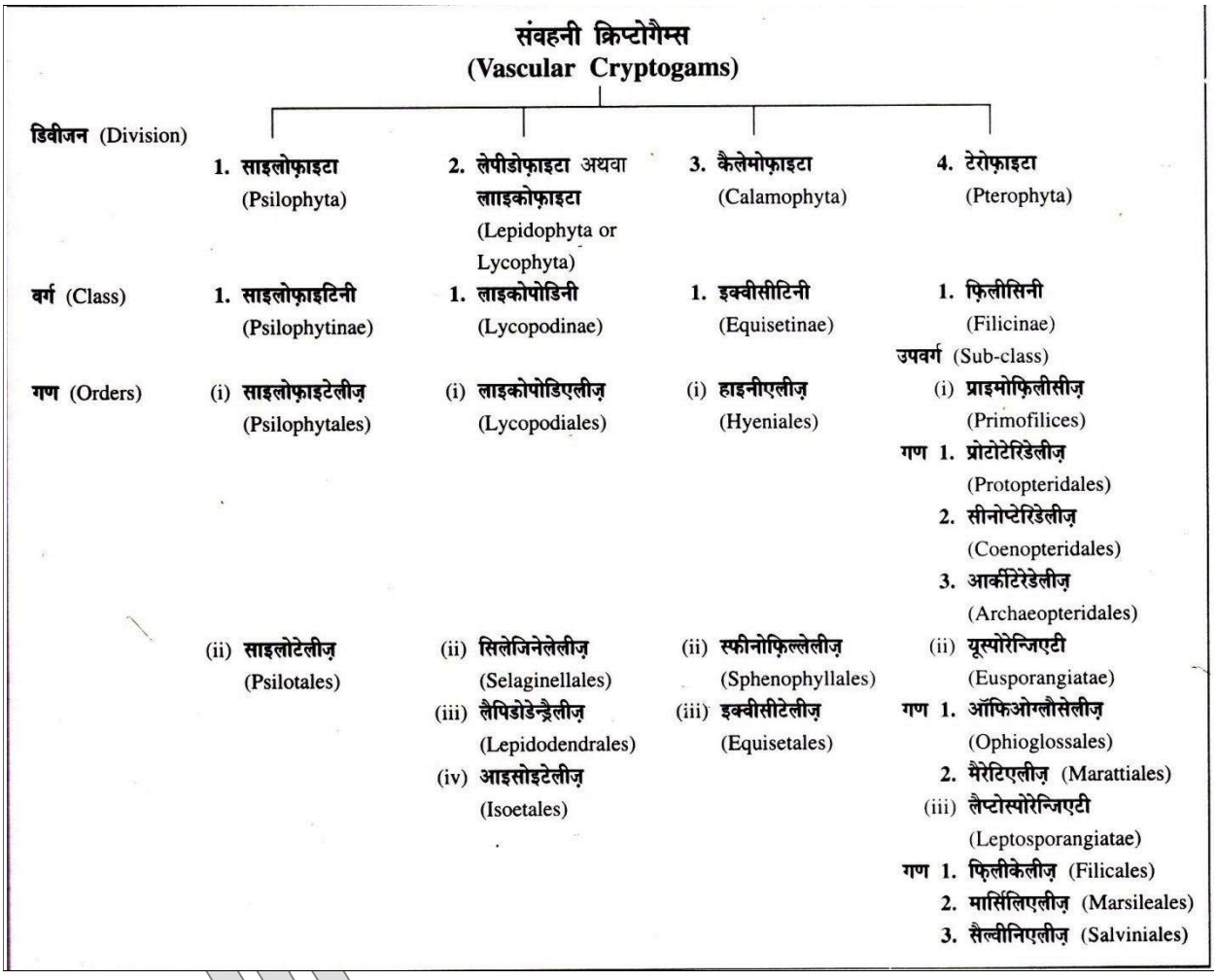
(7) जिम्नोस्पर्म में पराग नलिका (pollen tube) बनती है, जबकि टेरिडोफ़ाइट्स में इसका अभाव होता है।

(8) कुछ जिम्नोस्पर्म को छोड़कर (साइकेड्स व गिंगो, cycads and Ginkgo), शेष सभी जिम्नोस्पर्म के नर युग्मक अगतिशील (non-motile) होते हैं, जबक सभी टेरिडोफाइट्स के नर युग्मक गतिशील होते हैं।

(9) टेरिडोफाइट्स की युग्मकोद्भिद प्रवस्था बीजाणुद्भिद पर आश्रित नहीं होती है, जबकि जिम्नोस्पर्म में युग्मकोद्भिद प्रवस्था पूर्ण रूप से बीजाणुद्भिद पर आश्रित होती है।

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070



टेरिडोफाइटा का वर्गीकरण टेरिडोफाइटा के विभिन्न उप-डिवीजनों के प्रमुख लक्षण (Important Characters of Various Sub-Divisions of Pteridophyta)

[I] साइलोफाइटोप्सीडा* (Psilophytopsida)

यह सबसे सरल व पुरातन संवहनी पौधों का समूह है। इनकी उत्पत्ति पेलियोजोइक महाकल्प (Palaeozoic era) के सिलूरियन व डिवोनी काल (Silurian and Devonian period) में हुई। इनकी आयु व सरल संरचना यह प्रमाणित करती है कि ये सबसे पुरातन स्थलीय संवहनी पौधे थे।

इस उप-डिवीजन के सभी सदस्य जैसे राइनिया (Rhynia), साइलोफ़ॉइटॉन (Psilophyton), ऐस्टेरोजाइलॉन (Asteroxylon), आदि विलुप्त हो चुके हैं और अब उनके केवल जीवाश्म (fossils) ही मिलते हैं।

(1) इनका पादपकाय बीजाणुद्भिदी था और यह क्षैतिज प्रकन्द (rhizome) तथा बेलनाकार वायवीय अक्ष (axis) में विभेदित था।

(2) प्रकन्द की निचली सतह पर थोड़े-थोड़े अन्तराल में मूलाभासों (rhizoids) के गुच्छे थे। इनमें सत्य जड़ें (true roots) अनुपस्थित थीं।

(3) वायवीय अक्ष द्विभाजीशाखित था। कुछ स्वरूपों में मुक्त शाखन भी देखा गया। अक्ष पत्ती रहित (जैसे राइनिया, हॉर्नियाफ़ॉइटॉन) अथवा छोटी-छोटी पत्तियों से ढका था (जैसे ऐस्टेरोजाइलॉन)।

Aadhar iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

(4) अक्ष के केन्द्र में एक ठोसरंभ (protostele) था।

(5) बीजाणुधानियाँ (sporangia) वायवीय शाखाओं के शीर्ष पर अकेले (जैसे राइनिया में) अथवा युग्मों में (जैसे साइलोफ़ॉइटान में) उपस्थित थीं, कभी-कभी बीजाणुधानियाँ दो अथवा अधिक के समूह में (संबीजाणुधानी, synangium) उपस्थित थीं (जैसे यारेविया, Yarravia में)।

(6) बीजाणु अण्डाकार अथवा चपटे थे। सभी बीजाणु एक प्रकार के (समबीजाणुक) थे।

(7) इन पौधों के युग्मकोद्भिद (gametophytes) ज्ञात नहीं हैं।

[II] साइलोटॉप्सीडा (Psilotopsida)**

इस उप-डिवीजन में केवल दो जीवित वंश—साइलोटम (Psilotum) तथा मैसिप्टेरिस (Tmesipteris) को सम्मिलित किया गया है।

(1) बीजाणुद्भिद पादप काय (sporophytic plant body) भूमिगत प्रकन्द (rhizome) तथा ऊर्ध्व वायवीय शाखाओं (erect aerial branches) में विभेदित होता है।

(2) प्रकन्द तथा वायवीय शाखाएँ द्विभाजीशाखित (dichotomously branched) होती हैं।

(3) प्रकन्द पर मूलाभास (rhizoids) पाये जाते हैं। सत्य जड़ों (true roots) का अभाव होता है।

(4) वायवीय शाखाओं पर सर्पिल क्रम में विन्यसित कुछ शल्की उपांग (scaly appendages, जैसे साइलोटम में) अथवा सामान्य पर्ण (foliage leaves, जैसे मैसिप्टेरिस में) होते हैं।

(5) प्रकन्द तथा वायवीय शाखाओं में संवहन सिलिण्डर ठोसरंभ (protostele) होता है।

(6) रंभ (stele) का केन्द्रीय भाग **जाइलम वाहिनिकाओं** (xylem tracheids) से निर्मित होता है जिनमें प्रायः वलयाकार स्थूलन (annular thickenings) पाये जाते हैं।

(7) वायवीय शाखाओं के शीर्ष अथवा पर्ण-सदृश्य उपांगों के कक्ष में दो अथवा तीन कोष्ठीय बीजाणुधानियाँ (bior trilocular sporangia) होती हैं।

(8) इनमें सभी बीजाणु एक प्रकार के (homosporous) होते हैं।

(9) इनके **युग्मकोद्भिद** (gametophyte) रंगहीन, बेलनाकार, शाखित एवं **मृतजीवी** (saprophytic) होते हैं।

(10) **जननांग** (sex organs) प्रोथैलस में आंशिक रूप से धंसे (embedded) होते हैं।

[III] लाइकोप्सीडा* (Lycopsida)

इस डिवीजन का विकास पेलियोजोइक महाकल्प के डिवोनी (Devonian) काल में हुआ था। कार्बनी (Carboniferous) काल में पृथ्वी पर इस समूह के अनेक बड़े पौधे, जैसे लेपिडोडेन्ड्रान (Lepidodendron), सिज़िलेरिया (Sigillaria), आदि वृक्षों के समान (tree-like) थे। वर्तमान काल में इस डिवीजन में केवल पाँच जीवित वंश, **लाइकोपोडियम** (Lycopodium), **फ़िल्लोग्लौसम** (Phylloglossum), **सिलेजिनेला** (Selaginella) **स्टाइलीटीज़** (Stylites) तथा **आइसोइटीज़** (Isoetes) हैं तथा शेष सदस्यों के केवल जीवाश्म (fossils) पाये गये हैं।

(1) बीजाणुद्भिद पादप काय जड़, स्तम्भ व पत्तियों में विभेदित होता है।

(2) जड़ व स्तम्भ, दोनों ही द्विभाजीशाखित (dichotomously branched) होते हैं।

(3) इस समूह के सभी जीवित वंशों में पत्तियाँ छोटी व सरल (लघुपर्णी, microphyllous) होती हैं। प्रत्येक पत्ती

में एक अशाखित मध्य-शिरा (mid-vein) होती है।

Aadhar Institute
iGuruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

(4) सामान्यतः पत्तियाँ सर्पिल क्रम में व्यवस्थित (spirally arranged) होती हैं, परन्तु कुछ वंशों में ये सम्मुख (opposite) अथवा चक्करदार (whorled) क्रम में पायी जाती हैं। सिलेजिनेला (Selaginella), आइसोइटीज़ (Isoetes), आदि कुछ वंशों में प्रत्येक पत्ती के आधार पर एक लिग्यूल (ligule) होता है।

(5) इनमें प्रायः ठोसरंभ (protostele) पाया जाता है। परन्तु कुछ जीवित तथा जीवाश्म रूपों में **नालरंभ** (siphonostele) अथवा **बहुचक्री** (polycyclic) रंभ पाया जाता है।

(6) द्वितीयक वृद्धि (secondary growth) प्रायः नहीं पायी जाती है (आइसोइटीज़ एक अपवाद है)।

(7) बीजाणुधानी धारण करने वाली पत्तियाँ **बीजाणुपर्ण** (sporophyll) कहलाती हैं। बीजाणुधानियाँ बीजाणुप) की अभ्यक्ष (adaxial) सतह पर संलग्न होती हैं।

(8) अधिकांश जातियों में बीजाणुपर्ण शाखाओं के शीर्ष पर संहत अथवा ढीला स्ट्रोबाइलस (compact or loose strobilus) बनाते हैं।

(9) इस समूह में समबीजाणुक (homosporous, जैसे लाइकोपोडियम) तथा विषमबीजाणुक (heterosporous, जैसे सिलेजिनेला), दोनों प्रकार के पोधे पाये जाते हैं।

(10) विषमबीजाणुक जातियों में युग्मकोद्भिद अंतः **बीजाणुक** (endosporic) होते हैं, अर्थात् इनमें युग्मकोद्भिद का विकास बीजाणु भित्ति के अन्दर होता है। इसके विपरीत समबीजाणुक जातियों में युग्मकोद्भिद का विकास बीजाणु भित्ति से बाहर होता है, युग्मकोद्भिद का ऐसा विकास **बर्हिबीजाणुक** (exosporic) कहलाता है।

[IV] स्फीनोप्सीडा (Sphenopsida)

इस डिवीजन में सम्मिलित पौधे पेलियोजोइक महाकल्प के कार्बनी (Carboniferous) काल में विकसित हुए थे। इस समूह में कैलामाइटीस (Calamites) जैसे विशाल वृक्ष थे जो अब विलुप्त हो चुके हैं। **वर्तमान काल में इस डिवीजन का एक मात्र जीवित वंश इक्वीसीटम (Equisetum) है।** शेष वंशों (लगभग 18) के केवल **परिरक्षित** (जीवाश्म) रूप ही मिलते हैं।

(1) बीजाणुद्भिद पादपकाय जड़, स्तम्भ तथा पत्तियों में विभेदित होता है।

(2) इनका स्तम्भ संधित (articulated), अनुदैर्ध्य उभार व खाँच युक्त (with longitudinal ridges and grooves) तथा शाखित होता है। इसमें सुस्पष्ट **पर्वसन्धि** (node) तथा **पर्व (**internode) होते हैं।

(3) प्रत्येक पर्वसन्धि पर अनेक छोटी व शल्की पत्तियों (scaly leaves) का चक्र होता है।

(4) इनके स्तम्भ में **ठोसरंभ** (protostele) तथा **नालरंभ** (siphonostele) पाया जाता है। शाखाएँ पर्वसन्धि पर उपस्थित शल्की पत्तियों के कक्षा से विकसित होती हैं।

(6) यद्यपि इस समूह की जीवित जातियों में **द्वितीयक वृद्धि** (secondary growth) नहीं पायी जाती है, परन्तु **लुप्त** (extinct) जातियों में द्वितीयक वृद्धि होती थी।

(7) बीजाणुधानियाँ विशेष सवृन्त संरचनाओं में विकसित होती हैं, जिन्हें बीजाणुधानीधर (sporangiophore) कहते हैं। बीजाणुधानीधर स्तम्भ के शीर्ष पर संहत **स्ट्रोबाइलस** (strobilus) बनाते हैं।

(8) यद्यपि इस समूह की जीवित जातियाँ **समबीजाणुक** (homosporous) हैं, परन्तु इसकी कुछ लुप्त जातियाँ **विषमबीजाणुक** (heterosporous) थीं।

(9) युग्मकोद्भिद का विकास बीजाणु भित्ति से बाहर (अर्थात् बर्हिबीजाणुक) होता है।

(10) युग्मकोद्भिद हरे तथा स्वपोषित होते हैं।

(11) पुमणु (antherozoids) बहुकशाभिक होते हैं।

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

[V] टेरोप्सीडा (Pteropsida)

यह टेरिडोफाइटा का सबसे बड़ा व विकसित डिवीजन है । **इसका विकास डिवोनी (Devonian) महाकल्प में हुआ था।** नीचे इस डिवीजन के विभेदक लक्षण दिये गये हैं।

(1) बीजाणुद्भिद पादप काय प्रायः **बहुवर्षीय** (perennial) तथा जड़, स्तम्भ व पत्तियों में विभेदित होता है।

(2) अधिकांश सदस्य नम व छायादार स्थलीय आवासों (terrestrial habitats) में उगते हैं, परन्तु आज़ोला (Azolla), मार्सिलिया (Marsilea) व सैल्वीनिया (Salvinia) जलीय (aquatic) हैं। **ऑफ़िओग्लौसम पैन्ड्यूलम (Ophioglossum pendulum) एक अधिपादपीय (epiphytic) जाति है।**

(3) कुछ वृक्षीय फों (tree ferns), जैसे ऐंजियोप्टेरिस (Angiopteris) को छोड़कर इस समूह के अधिकांश वंशों में स्तम्भ प्रायः भूमिगत **प्रकन्द** (rhizome) होता है।

(4) पत्तियाँ अननुपर्णी (exstipulate), प्रायः बड़ी (गुरुपर्णी, megaphyllous) व पिच्छाकार संयुक्त (pinnately compound) होती हैं। इन्हें **प्रपर्ण (fronds)** कहते हैं (परन्तु ऑफिओग्लौसम में सरल पत्तियाँ होती हैं)।

(5) पत्तियों के रेकिस (rachis) भूरे रंग के रोमों (hairs) से ढके होते हैं। ये **रोम रैमेन्टा** (ramenta) कहलाते हैं।

(6) तरुण पत्तियाँ सर्पिल रूप से कुण्डलित (circinately coiled) होती हैं।

(7) इस समूह में लगभग सभी प्रकार के रंभ (ठोसरंभ, नालरंभ, नलीरंभ, जालरंभ, बहुचक्रीयरंभ, आदि) पाये जाते हैं।

(8) कायिक प्रवर्धन (vegetative multiplication) खण्डन (fragmentation), अपस्थानिक शाखाओं (adventitious branches), कंद (tubers) अथवा अपयुग्मन (apogamy) द्वारा होता है। **बीजाणुओं का विकास बीजाणुधानियों में होता है। पौधे समबीजाणुक (homosporous) अथवा विषमबीजाणुक (heterosporous) हैं।**

(10) बीजाणुधानियाँ पत्ती के **उपांतों (margins) अथवा अभ्यक्ष (ventral**) सतह पर समूहों में विकसित होती हैं। ये **समूह सोरस (sorus**) कहलाते हैं।

(11) कुछ जातियों में बीजाणुधानियाँ एक **रक्षी आवरण** (protective covering) से ढकी होती हैं, जिसे **इंड्यूशियम (indusium)** कहते हैं।

(12) बीजाणुधानियाँ केवल एक प्रारम्भिक कोशिका (**लैप्टोस्पोरेजिएट,** leptosporangiate) अथवा प्रारम्भिक कोशिकाओं के समूह से (**यूस्पोरेजिएट,** eusporangiate) विकसित होती हैं।

(13) बीजाणु अंकुरित होकर हरा व स्वपोषित प्रोथैलस (युग्मकोद्भिद) बनाते हैं।

(14) पुमणु बहुकशाभिक होते हैं।

(15) **युग्मनज़** (zygote) से भ्रूण विकास की प्रक्रिया में **निलंबक** (suspensor) का निर्माण केवल कुछ आद्य पौधों (primitive plants) में ही होता है।

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

इकोटोन तथा एज प्रभाव (Ecotone and Edge Impact)

इकोटोन वह स्थान है जहां 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 जहां मिलते हैं वहां 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 एज़ प्रभाव (Edgeeffect) का नाम दिया। इकोटोन में अधिक संख्या में पादपों की उपस्थिति इसी एज़ 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 इनडेक्स (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)

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

यहाँ H-एकल जाति की विविधता सूचकांक है

H1 = एक जाति की खुद का घनत्व

n = सभी जातियों का कुल घनत्व

(ii) सिप्सन सूचकांक (Simpson index)

$D = 1 - S \ \Sigma (pi)^2$

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

(iii) ओडम का सूचकांक (Odum index)

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

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 है 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

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

Aadhar Institute iguruji

Download iGuruji APP for Video courses and online test series

Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

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 है।

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

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 है। 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 है: -

(a) मृदा में मुख्य रूप से विकास के दौरान, गहराई का बढ़ना, कार्बनिक पदार्थ का बढना और अलग अलग सतहों के विभेदन का बढना होता है। Plant communities के strata में origin, height, massiveness & differentiation सभी बढ जाते है।

(b) धरातल के पौधों का घनत्व बढता है तो प्रजाति में microclimate को उस प्रजाति की विशेषताओं से ज्ञात करते है।

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

(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 बढती 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 बढ जाती है और final community जिसे 'climax stage' कहते है।

PATTERNS OF SUCCESSION

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

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

(1) Phytoplankton stage: ये pioneer community को बनाते है, pond के primitive medium में कुछ blue green algae, green algae, diatoms और bacteria सबसे पहले colonize करते है। Soils की pH 5 से अधिक तक कम नहीं होती है। ये कुछ समय के लिए multiply & grow करते है।

(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 है। 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,Vallisnaria और Ultricularia etc. ये plants आगे death & decay से substratum बनाते है। इस habitat में इन plants का replacement दूसरे प्रकार के plants हो जाता है जो floating-leaved types के होते है।

(3) Rooted floating stage: अब पानी की गहराई लगभग 2-6 feet है। ये पौधे rhizomes के द्वारा इस habitat में colonise होते है। ये सभी rooted hydrophyte होते है, जिनकी बडी पत्तियाँ पानी की सतह पर तैरती है। Example: - Nelumbo, Nymphaea, Limnathemum, Aponogeton, Monochoria, Trapa etc. कुछ free floating species जैसे Azolla, Lernna, Wolffia, Pistia, Spirodella, Salvinia भी rooted plants के साथ सम्बन्धित हो जाते है। अब पानी की सतह बहुत कम होने से तालाब उथला हो जाता है। इन पौधों की मृत्यु से decomposing organic matter प्राप्त होते है, जो कि और आगे substratum बनाते है। 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 है, 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 है। इनका rhizome अच्छी तरह विकसित होता है और ये एक dense vegetation बनाते है। 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 है। ये तालाब के बीच में इनके branched rhizomatus system के कारण एक जाल जैसी vegetation बनाते है। परिणाम स्वरूप, वाष्पोत्सर्जन की दर ज्यादा होने से पानी का ज्यादा नुकसान होता है और कभी ना कभी कीचड वायु की और expose हो जाता है।

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

Hydrosere

Photoplankton stage (Diatoms, green flagellates) → Submerged stage (Hydrilla, Potamogeton, Najas) → Floating stage(Nelumbo Nymphaea)

↓

Reed swamp (Typha,saggittaria,phragmite

↓

Climax forest (Oak, Elm, Fir) ← Woodland stage(Cornus, Popullus, Alnus) ← Marsh meadow stage (Caltha, Juncus Polygnum)

LITHOSERE

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

1. खुली चट्टानों पर स्थापित होने वाले पहले जीव है। lichens, जो acid निर्माण करते है, जो चट्टान की सतह का क्षरण करता है। Organic remains etc. के समय समय पर जुडने से substratum की सरंचना में chemical और physical परिवर्तन होते है। Pioneer lichens, crustose lichens (Graphis, Rhizocarphon) होते है । 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 उपर निर्मित होता है, पर्याप्त रूप से नम हो जाता है, और अब इसके बाद घास के बीच अंकुरित (Poa, Heteropogon, Dristida etc.) हो जाते है। इनकी जडे मिट्टी में गहराई तक चली जाती है, जिससे और आगे विखंडन होता है। ज्यादा नमी और मिट्टी के बढने 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 है जिससे shrub गहराई तक penetrate करते हैं, जिससे की बहुत ज्यादा विखंडन होता है।

   ये area को ढकते हैं, उसको ज्यादा आर्द्र बनाते हैं ओर 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 है। 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 है जो एक typical non-maritime terrestrial eco-system में अनन्तः विलीन हो जाते है।
- ► Psammoseres तब तक चलता है जब तक कि वो एक climatic climax पर पहँच जाए, जो कि अनन्तः oak trees, होते है ठीक वैसे ही जैसे यदि हम high water mark से दूर चलते जाते हैं, तो ऐसे कई characteristic features होते है जो change होते जाते हैं और dunes का natural succession सुनिश्चित करने में सहायता करते है।

Download iGuruji APP for Video courses and online test series
Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: , 9314503070

CHAPTER : 1

IMPORTANT TERMS TO LEARN

Few Terms to Remember :-

1) **Karyotype**: Metaphase Chromosomes को उनके आकार के घटते क्रम में में व्यवस्थित करना जिसमें सभी homologus pair बडे से छोटे के क्रम में व्यवस्थित हो।
2) **Homologous chromosomes**: ये chromosome same size, same shape और same जीन मेप (gene map) के होते है लेकिन genetically same हो जरूरी नही।
3) **Genome**: किसी organism के haploid set की सम्पूर्ण genetic सूचनाएँ
4) **Gene pool**: किसी population की सम्पूर्ण genetic diversity जिसमें सभी genes और उनके allele शामिल हो।
5) **Gene**: DNA का वह हिस्सा जो किसी particular trai को code करने के लिए functional transcript (RNA) बनाता है।
6) **Allele**: एक ही gene की अलग 2 प्रकार जो gene pool में पायी जाती है और इनमें से कोई भी दो (या एक ही के दो) किसी diploid में पायी जाती है।
7) **Allelic heterogeneity** : -एक ही chromosomal locus पर पाये जाने वाले gene में अलग 2 mutations जिनकी वजह से same mutant phenotype आता हो।
   locus hetro genity :- अलग 2 locus पर पाये जाने वाले mutations जिनके phenotype same आते हो।
8) **Isochromosome: -** chromosome जिनकी दोनो arms (p and q) बराबर लम्बाई की हो और दोनो पर genetic information भी same हो।
9) **Non-disjunction: -**Meiosis I या Meiosis II के दौरान chromosome या chromatids का विलगन ठीक ढंग से ना हो तो egg या sperm chromosome की copies कम या ज्यादा रह जाती है।
10) **Uniparental disomy** :- जब किसी chromosom pair के दोनो chromosome एक ही parent से inherit होते हो (यह non disjunction की वजह से उत्पन्न होता है।)
11) **Pedigree: -** किसी परिवार के स्वास्थ्य का इतिहास का चित्रित प्रदर्शन
12) **carrier_**:- Recessive trait के वो heterozygotes जो characters show नही करते है लेकिन recessive allele को अगली generation में inherit कर सकते है।
13) **Locus** (plural Loci): किसी gene का chromosome पर विशेष स्थान (unique position)
14) **Multiple alleles**: जब एक gene की दो से ज्यादा allealic (एलीलिक) रूप किसी gene pool में उपलब्ध हो।
15) **Hemizygous**: Homozygous और heterozygous तो उन condition में इस्तेमाल होता है जबकि आमने सामने के chromosome समान हो लेकिन XY chromosome जैसी अवस्था में genes को hemizygous कहा जाता है।
16) **Dominant**: वो allele जो अपने आप को heterozygous condition में दिखाता है।
    Recessive: वो allele जो heterozygous condition में अपने आप को दिखा नही पाता लेकिन सिर्फ homozygous condition में ही खुद को दिखा सकता है।
17) **Incomplete dominance**: जब heterozygous intermediate (बीच का कुछ नया) phenotype दिखाये। Mirabilis में pure red और pure white से pink flavor बनना।
18) **Co-dominance**: जब hetrozygouys में दोनो allele अपने आप को पूरी तरह से प्रदर्शित करे। e.g. ABO Blood groups में AB Blood group
19) **Monohybrid cross**: Single character (gene) को ही ध्यान में रखा जाये।

Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

20) **Dihybrid cross**: दो लक्षण (genes) को ध्यान में रखा जाये।

21) **Test cross**: अज्ञात Unknown genotype को homozygous recessive parent के साथ cross करवाया जाना।

22) **Back cross**: Offspring और किसी भी एक तरह के parent के बीच क्रास करवाया जाना।
Out cross :- अज्ञात genotypes वाले offspring और homozygous dominant parent के बीच cross करवाया जाना।

23) **Epistasis**: जब एक gene दूसरे gene के expression में रूकावट करने लगे।

24) **Linkage**: दो gene जो एक ही chromosome पर पास पास उपस्थित हो और एक साथ ही अगली generation में जाने की tendancy रखते हो।
Crossing over :- दो gene जो एक दूसरे से दूरी पर स्थित होने की वजह से exchange करने की tendency रखते है।

25) **Independent Assortment**: जो genes linked नही हो (सामान्यतः अलग 2 chromosoms पर) और normal probability के rules के अनुसार combination बनाते हो।

26) **Linkage mapping**: दो gene एक दूसरे से जितने दूर होंगे उतना ही ज्यादा उनके बीच crossing over के chance होंगे। इस प्रकार % recombination frequency linkage के map unit को दर्शाती है जो उन genes के बीच की दूरी की वजह से है। जैसे 50 % recombination = 50 map unit

27) **Autosomal traits** ये trait sex chromosome के अलावा उन chromosomes द्वारा वहन किये जाते है जो male और female में same होते है।

28) **Sex linked traits**: वो trait जिनके हमदमे X या Y chromosome पर पाये जाते है।

29) **PLEIOTROPY** I single gene का एक से ज्यादा लक्षण को प्रभावित करना।

30) **GENETIC SUPPRESSION** – जब double mutant का phenotype, single mutant से कमजोर दिखता हो।

31) **GENETIC ENHANCEMENT** – double mutant का phenotype दो अलग 2 single mutants के कुल योग से भी ज्यादा ताकतवर दिखाई दे।

32) **SYNTHETIC LETHALITY or unlinked non-complementation** – दो mutant अलग 2 locus पर होने की वजह से एक दूसरे को complement ना कर पाये।

33) **INTRAGENIC COMPLEMENTATION, allelic complementation, or interallelic complementation** - दो mutation जो same locus पर दर्षाये जाते है।

34) **TRANSVECTION** यह एक epigenetic phenomenon है जिसकी वजह से एक allele दूसरे homozygous allele या किसी अन्य non allele region को activate या repress कर दे। ये घटनाये homology effects के अन्तर्गत आती है।

35) **THE PSEUDOAUTOSOMAL REGIONS,** pseudoautosomal regions उनका नाम इसलिए पडा क्योंकि इनके बीच में उपस्थित gene (अब तक केवल 9 genes खोजी गई है) autosomal genes की तरह ही inherited होती है। Males में इसकी 2 copies होती है: एक Y chromosome के pseudoautosomal region और दूसरी X chromosome के corresponding portion पर होती है, इसलिए male एक gene inherit करता है जो कि वास्तव में उसके father के Y chromosome पर तथा female एक gene को inherit करती है जो वास्तक में उसके father के X chromosome पर present है। Pseudoautosomal regions का कार्य यह है कि ये X तथा Y chromosome का pair बनाने, तथा segregate होने में (meiosis के दौरान) के लिए allow करते है। Pairing (synapsis) X तथा Y chromosomes को तथा crossing over (recombination) के लिए pseudoautosomal regions normal progression के लिए male meiosis के दौरान जरूरी है हालांकि, जिन cells में X-Y recombination नहीं होता वे meiosis complete नहीं कर पाती है। Structural और/या genetic dissimilarity (hybridization या mutation के दौरान) X तथा Y chromosomes के pseudoautosomal regions के मध्य pairing तथा recombination को disrupt कर सकती है जिसके कारण male infertility हो सकती है।
►PAR1 और PAR2 X, Y chromosomes के nucleotides के homologous sequences है। SHOX gene (PAR1 की) केवल एक मात्र gene है जो human disorder से associated है। सभी pseudoautosomal genes X-inactivation से escape कर जाती है और इसलिए sex chromosome aneuploidy conditions (45,X, 47,XXX, 47,XXY, 47,XYY etc.) के gene dosage effect की candidates है।

36) **PSEUDOALLELE allele that is functionally but not structurally allelic,** that is wild-type recombinants can be recovered by intragenic recombination from heterozygotes containing two different pseudoalleles.

37) **Pseudodominance**: Hetrozygous में dominant allele के किन्ही भी वजहो से function ना कर पाने की वजह से recessive phenotype दिखने लगे।

38) **PSUEDOGENES:** DNA के दो parts जो या तो कुछ code ही नही करते और यदि करते है तो दो functional नही होता।

39) **HETERODOMINANCE** जब heterozygotes का phenotype दोनो तरह के homozygotes जो ज्यादा हो तो उसे overdominance, superdominance या hetrodominance कहते है।

40) **POLYGENIC INHERITANCE** जब कोई character एक साथ कई genes के product की वजह से regulate होता है। जैसे height, shape, weight, color etc.

Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

Human polygenic traits include

1. Height	5. SLE (Lupus)
2. Weight	6. Eye Color
3. Intelligence	7. Skin Color
4. Many forms of behavior	

Many disorders with genetic components are polygenic, including autism, cancer, diabetes and numerous others. Most phenotypic characteristics are the result of the interaction of multiple genes.

Examples of disease processes generally considered to be results of multifactorial etiology:

Congenital malformation

· Cleft palate	· Congenital dislocation of the hip
· Congenital heart defects	· Neural tube defects

Adult onset diseases

· Diabetes Mellitus	· Cancer
· Epilepsy	· Glaucoma
· hypertension	· Ischaemic heart disease
· **Manic depression**	· **Schizophrenia**

41) PENETRANCE AND EXPRESSIVITY

a. **Penetrance: -** किसी gene या mutation का population के level पर phenotype दर्शाने की क्षमता (यदि यह 100% से कम है तो इसे reduced या incomplete penetrance कहते है।

b. **Expressivity: -** एक व्यक्ति में कोई genetic condition किस स्तर तक express कर सकती है।

1. Complete Penetrance

Most dominant और recessive genes homozygous conditions में और कई dominant gene heterozygous condition में अपना complete phenotypic expression देती है। ऐसी genes हमेशा expected phenotype उत्पन्न करती है और complete penetrance show करती है।

Examples of Complete Penetrance

1. Red flowers के लिए pea में alleles (RR) और white flowers में alleles (rr) homozygous conditions में complete penetrance दर्शाती है।
2. Drosophila में homozygous conditions में vestigial wings का recessive allele complete penetrance दर्शाता है।
3. Guinea pigs में black coat के लिए dominant allele 'B' homozygous और heterozygous दोनों conditions में complete penetrance दर्शाता है।

2. Incomplete Penetrance

कुछ genes में homozygous तथा heterozygous conditions में अपना complete (cent per cent) phenotypic expression provide नहीं होती है। ये genes incomplete penetrance दर्शाती है।

Examples of Incomplete Penetrance

1. Polydactyly human में प्रभावी gene 'P' के कारण होती है। Normal condition में हर limb में five digits recessive genotype (pp) के द्वारा उत्पन्न होती है। कुछ heterozygotes (Pp) में polydactylys नहीं पाई जाती है इसलिए क्योंकि इसकी penetrance 70% से कम है।
2. Man में, diabetes mellitus (एक condition जिसमें blood में अधिक sugar present होती है) कई genes के द्वारा नियंत्रित होती है जबकि सभी diabetes की gene carry करने वालों को diabetes नहीं होती है इसका कारण भी incomplete penetrance ही है।

42) EXPRESSIVITY

एक trait penetrant होता है परन्तु उसका phenotypic expression variable हो सकता है। एक penetrant genotype के द्वारा produce की गई degree of effect को expressivity कहते है।

Example of Expressivity: Man में polydactylous condition left hand (6 fingers) में penetrant हो सकती है जबकि right (5 fingers) में नहीं या यह feets में penetrate हो सकती है, hands में नहीं।

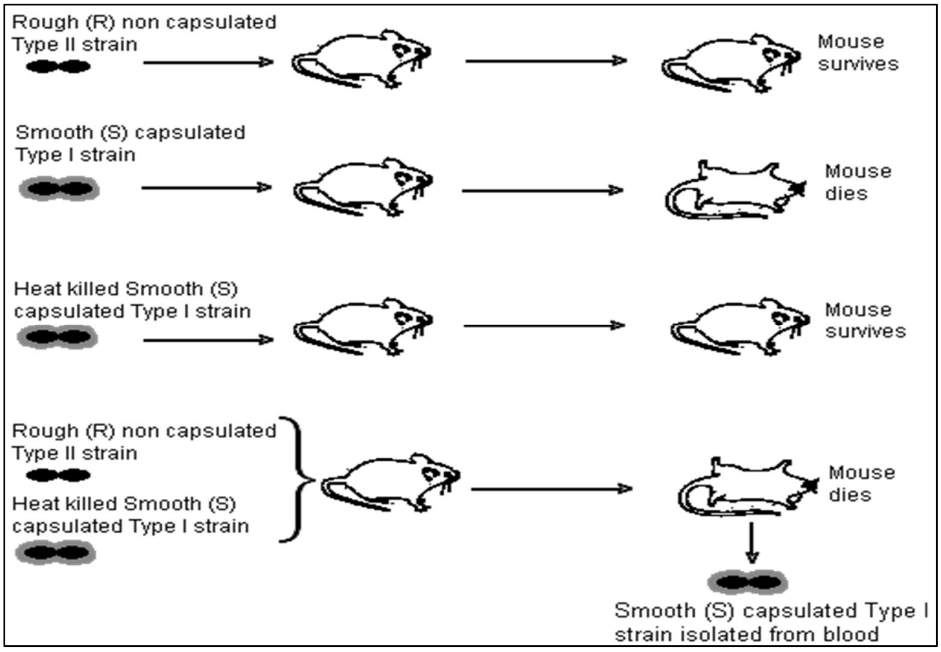
Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

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।

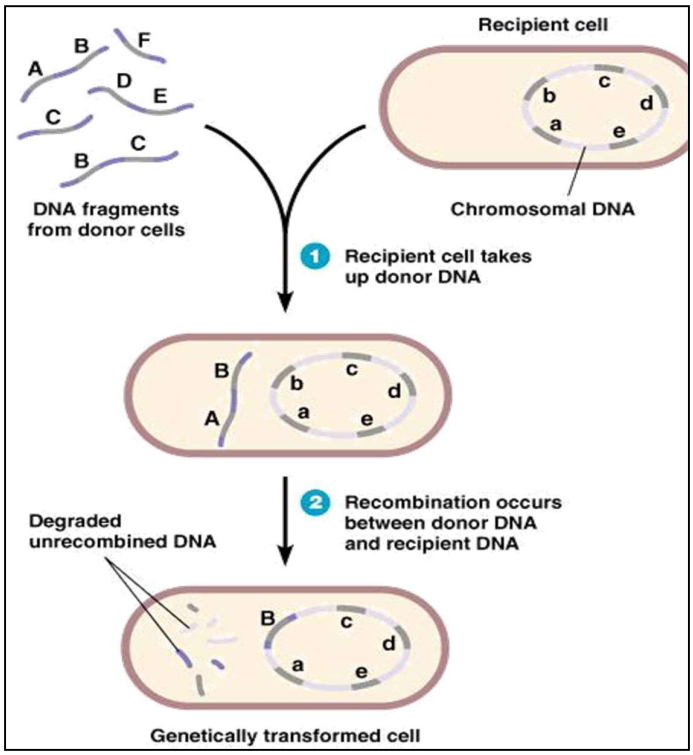
iv. अगर इन दोनों bacterias को अकेले inject किया जाता है तो mouse की death नहीं होती परन्तु इनका mixture घातक होता है। Capsule के साथ कुछ live S strains को isolate किया गया, animal के blood में से जिससे पता लगा कि dead S cells के कुछ factors R strain को S type में convert कर देते हैं। Factor जिसकी वजह 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 recepient 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।

Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

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

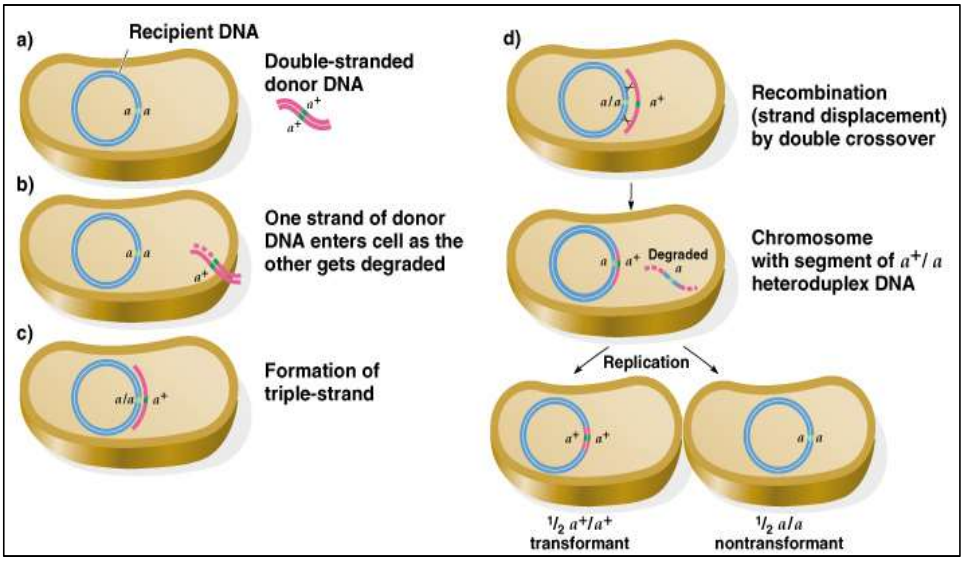
1. जब Donor bacterium मर जाता है और degrade होने लगता है।
2. Dead donor bacterium का एक DNA fragment (ज्यादातर 20 genes long होते हैं) DNA binding proteins से bind हो जाता है जो component living cell की cell wall पर उपस्थित होते हैं।
3. फिर nuclease enzymes bound DNA को fragments में काट देता है।
4. 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) बढावा 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।



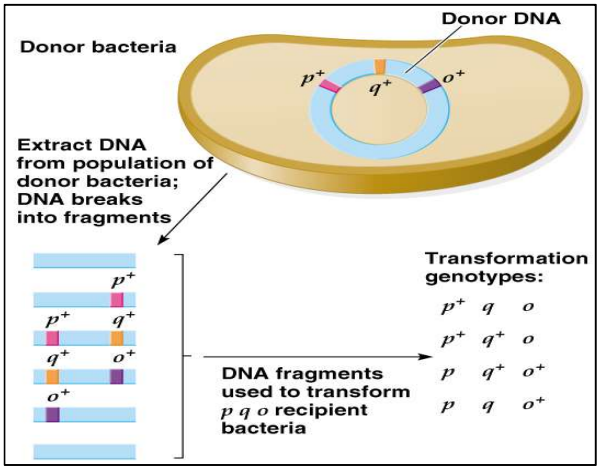
Mapping by Transformation: Transformation mapping की जानकारी से हम known genotype के bacterial strain के DNA को दूसरे known genotype के strain में जोडते हैं, परन्तु ये इनके 2 या ज्यादा loci पर different allele होंगे। हम फिर देखेगें कि donor allele का recipient strain के bacteria में समावेश (incorporation) 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 स्थितियो में की जाती है जबकि conjugation या transduction द्वारा यह संभव नही होता।**
   i. Donor DNA को निकाल कर purify करके fragments में तोडा जाता है जो recepients के साथ incubate करने पर उसमें चला जाता है। इससे donor और recipient में पहचाने जाने योग्य phenotypic (genotypic भी) अन्तर दिखने लगते है।
   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।

Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070



3. Transformation experiments यह सुनिश्चित करने के लिए किए जाते है कि
   - genes linked तो नही है
     A. Transformation छोटे DNA fragments जिनमें कुछ ही genes होते है के साथ सबसे अच्छा काम करता है।
     B. Co-transformation दो genes के एक दूसरे के पास होने का indicateon है इसे गणितीय रूप से analyse किया जा सकता है।
        A. प्रायोगिक रूप से दो genes अगर बहुत पास है तो co-transformation की संभावनाएँ हमारी आशाओ से भी ज्यादा होगी।
        B. यदि co-transformation का rate genes के अलग–अलग transformation rate के बराबर है तो इसका मतलब है कि वे genes linked है।
   - Genetic map पर genes का order निकालना
     1. माना कि दो genes (p+q) co-transform होते है और linked है 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 analyze किया जाता है जैसे कि gene p और o rarely co-transform होते है तो gene order होगा p-q-o
     2. अगर p और o frequency co-transform होते है 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।

a) Strain A's genotype met bio thr$^+$ leu$^+$ thi$^+$ था।. यह methionine और biotin द्वारा supplement किये हुए minimal media पर grow करता था।

b) Strain B's genotype met$^+$ bio$^+$ thr leu thi था।यह thrionine, lucine और thymine द्वारा supplement किये हुए minimal media पर grow करता था।

Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

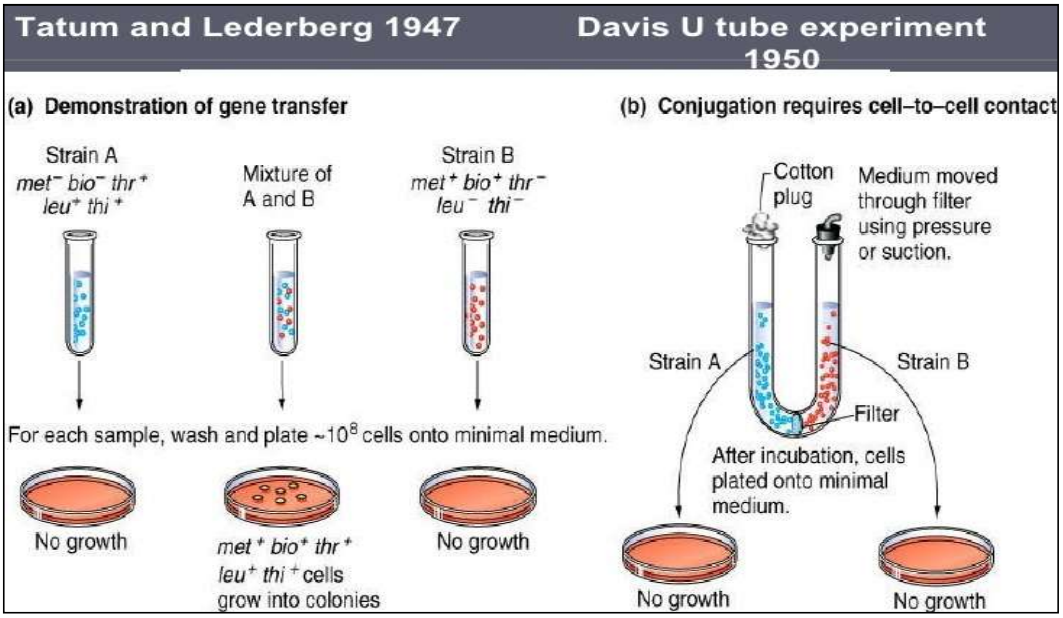
c) strain a और b को mix किया गया और minimal media पर plating करने से $1/10^6$ cells met^+, bio^+, thr^+, leu^+, thi^+ phenotype वाली प्राप्त हुई।

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।

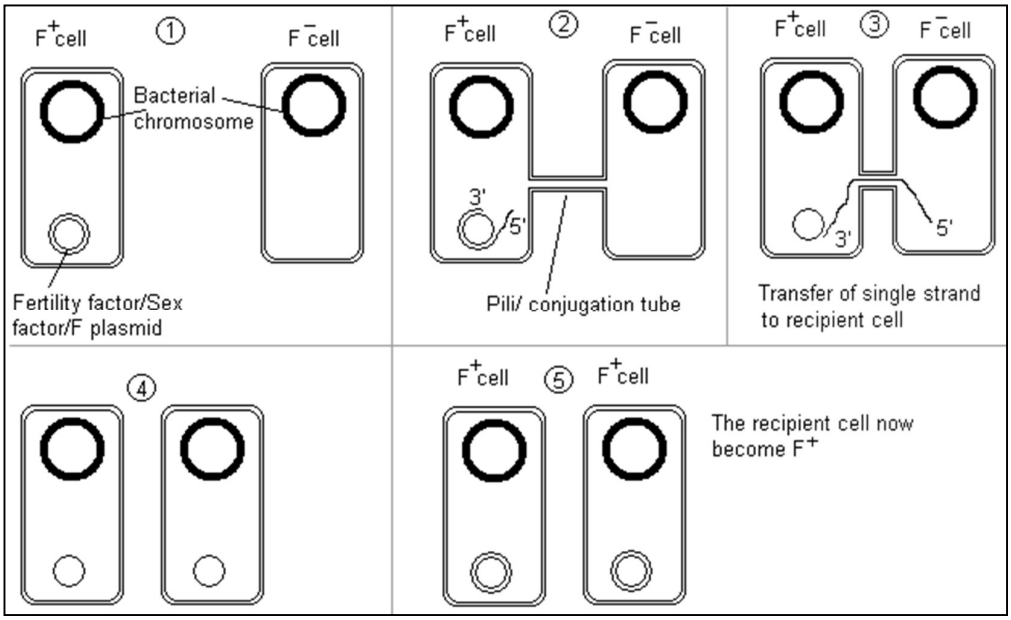
a) Davis ने यह जॉच की कि cell to cell contact की आवश्यकता है या नही।

A. इसके लिए उन्होने 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 नही।

B. जब cells को minimal media पर plate किया गया तो किसी तरह की prototrophic colonies प्राप्त नही 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 मे 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।**



Aadhar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

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 शुरूआत करते हैं। फिर sex pilus, **वापस खींच लिया जाता है** जिससे दोनों bacteria संपर्क में आ जाते हैं और दोनो, 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 pilli 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:

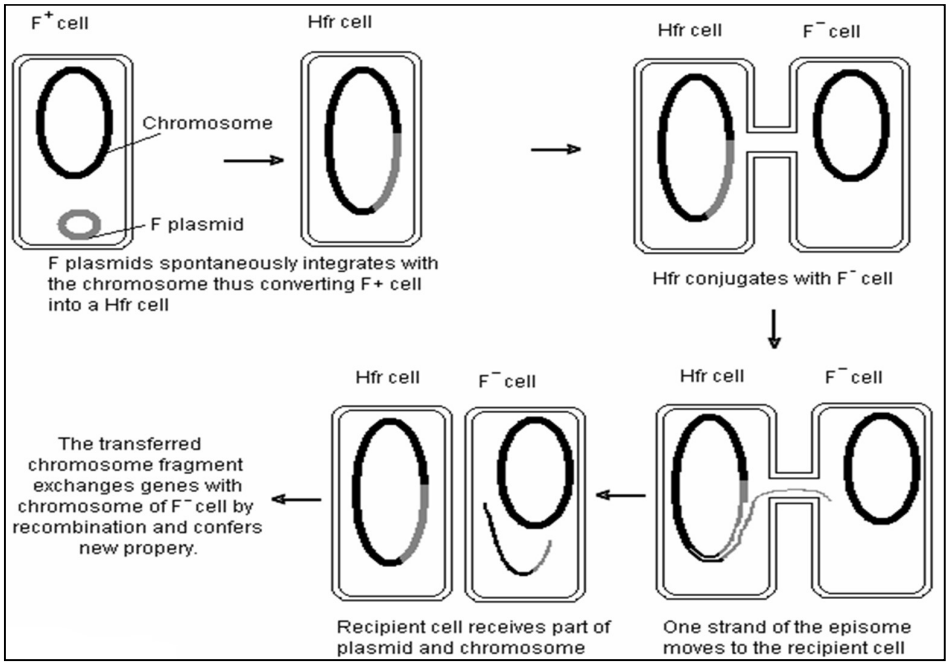
इसकी वजह से एक F+ plasmid (जो सिर्फ sex pilus के लिए coding करता है) का donor bacterium से female recipient bacterium में स्थानांतरित होता है लेकिन chromosomal DNA का नहीं। Plasmid की दोनों strands separate हो जाती हैं और **एक strand recipient bacterium में** प्रवेश **हो जाता है और 5' से 3' direction में** बढता जाता **है लेकिन एक strand donor में ही रहती है। दोनों donor और recipient cells** दोनो **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 रूक जाता है अर्थात् mating pairs बहुत थोडे 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(जुडने) करने में सक्षम होता है उसे episome कहते हैं। अगर F-plasmid chromosome में integrate(जुड 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।



Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070

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, जहां 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 $\mathbf{F^-}$ 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:

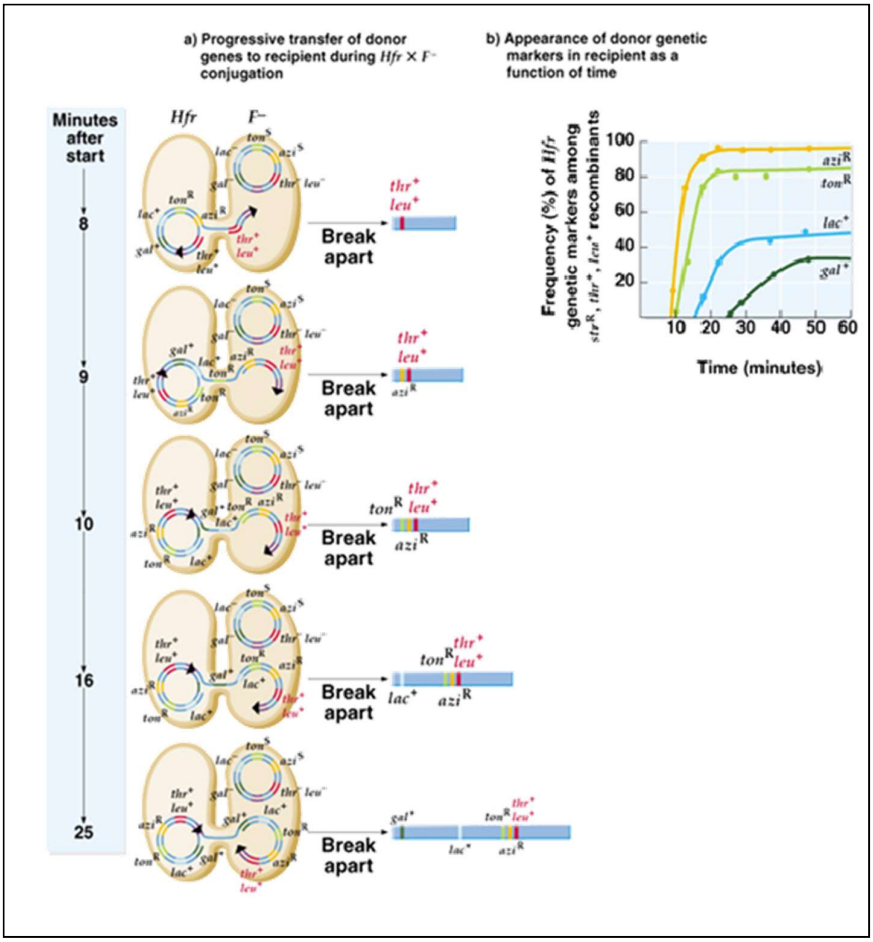
- ► Recombination, double stranded होता है।
- ► Donor genes, recipient cell में recombine होते हैं।
- ► Recipient cell के corresponding genes, chromosome के बाहर recombine होते हैं और फिर cell में reabsorb हो जाते हैं।

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।

Aadkar Institute
27, Kisaan Marg, Tonk Road, Jaipur-302015
Phone: 0141-2700670, 9314503070