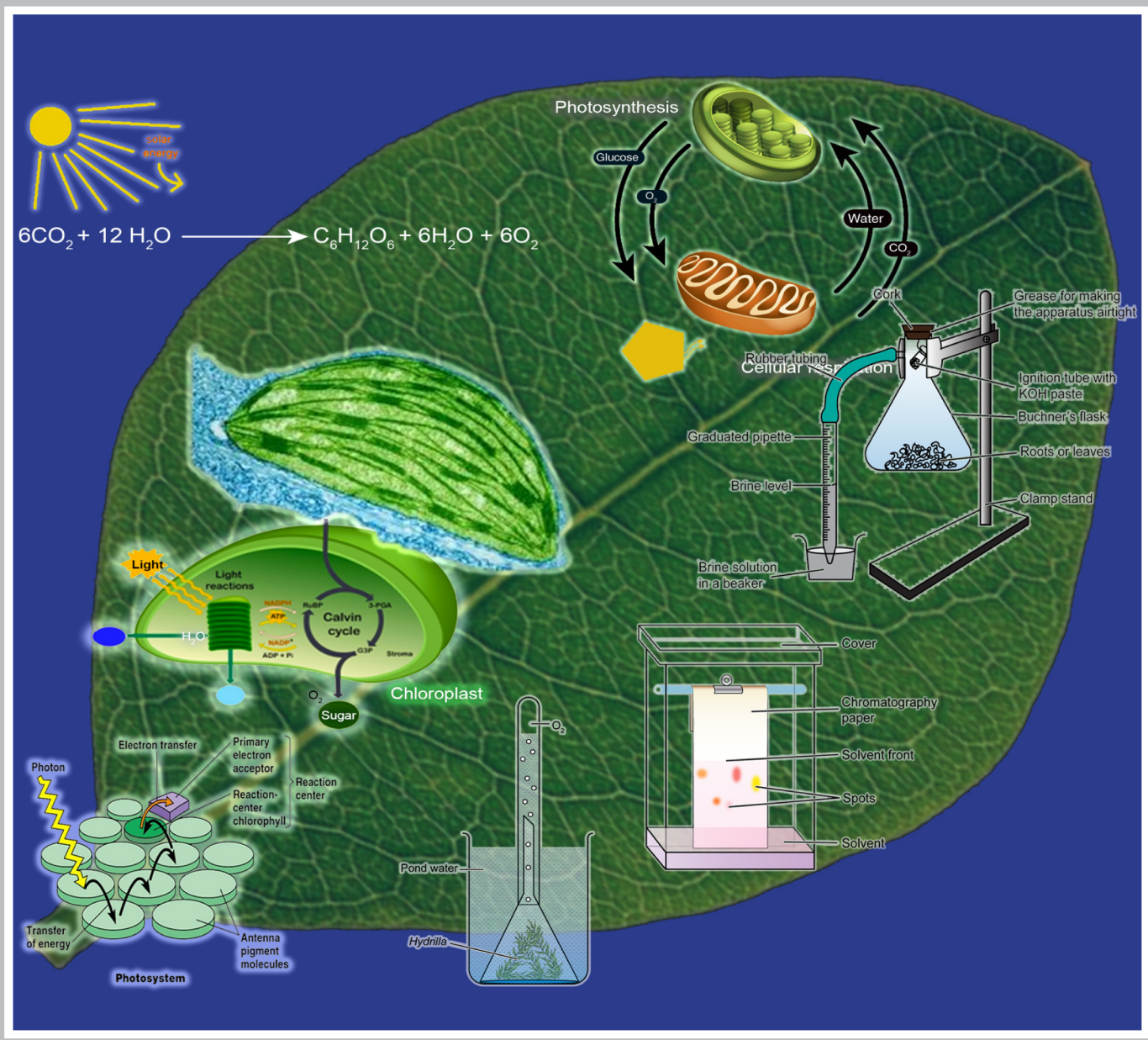
ignou
THE PEOPLE'S
UNIVERSITY

इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय
विज्ञान विद्यापीठ

BBYCL-138
पादप कार्यिकी और उपापचय



प्रयोगशाला कार्य

इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय
विज्ञान विद्यापीठ

BBYCL-138
पादप कार्यिकी और उपापचय : प्रयोगशाला कार्य

1 बोल्टिंग का प्रदर्शन 5

2 मूलोत्पत्ति पर ऑक्सिन के प्रभाव का प्रदर्शन 8

3 जड़ द्वारा श्वसन का प्रदर्शन 11

4 वाष्पोत्सर्जन के कारण चूषण का प्रदर्शन 14

प्रयोग 1
पादप कोशिकारस के परासरण विभव का जीवद्रव्यकुंची पद्धति द्वारा निर्धारण करना 17

प्रयोग 2
एक कृत शाखा द्वारा वाष्पोत्सर्जन पर दो पर्यावरणीय कारकों (प्रकाश और वायु वेग) के प्रभाव का अध्ययन करना 22

प्रयोग 3
एक समोद्भिदी और मरूद्भिदी पादप में रंध्रांक और रंध्र-बहुलता का निर्धारण करना 27

प्रयोग 4
हिल अभिक्रिया को प्रदर्शित करना 31

प्रयोग 5
कैटलेस की क्रिया का प्रदर्शन करना और pH तथा एन्जाइम सांद्रता के प्रभाव का अध्ययन करना 36

प्रयोग 6
प्रकाश संश्लेषण में O_2 के निष्कासन पर प्रकाश की तीव्रता और बाइकार्बोनेट सांद्रता के प्रभाव का अध्ययन करना 41

प्रयोग 7
पादप के किन्हीं दो भागों में श्वसन की दर की तुलना करना 46

प्रयोग 8
पत्र वर्णलेखन द्वारा ऐमीनो अम्लों को पृथक करना 49

कार्यक्रम अभिकल्प समिति

प्रो. जी. सी श्रीवास्तव (रि.)
पूर्व विभागाध्यक्ष
पादप कार्यिकी विभाग
आइ. ए. आर. आई, पूसा
नई दिल्ली-110012

प्रो. विजय पॉल (रि.)
प्रधान वैज्ञानिक
पादप कार्यिकी विभाग
आइ. ए. आर. आई, पूसा
नई दिल्ली-110012

विज्ञान विद्यापीठ, इग्नू

प्रो. एम. एस. नाथावत (पूर्व निदेशक)

प्रो. अमृता निगम

प्रो. जसवंत सोखी (रि.)

प्रो. बानो सैदुलाह (रि.)

प्रो. नीरा कपूर

खंड निर्माण दल

प्रो. अमृता निगम
विज्ञान विद्यापीठ, इग्नू, नई दिल्ली-110068

डा. एकलव्य चौहान
वरिष्ट परामर्शदाता,
विज्ञान विद्यापीठ, इग्नू, नई दिल्ली-110068

संपादक

प्रो. जी. सी श्रीवास्तव (रि.)
पूर्व विभागाध्यक्ष
पादप कार्यिकी विभाग
आइ. ए. आर. आई, पूसा
नई दिल्ली-110012

अनुवादक

डा. कुमकुम चतुर्वेदी
परामर्शदाता,
विज्ञान विद्यापीठ, इग्नू, नई दिल्ली-110068

पाठ्यक्रम समन्वयकर्ता : प्रो. अमृता निगम

सामग्री निर्माण

श्री हेमन्त कुमार
एस.ओ. (पी.)
एमपीडीडी, इग्नू

आभार :

- डा. कुमकुम चतुर्वेदी को मूल्यवान सुझावों के लिए।
- श्री मनोज कुमार, सहायक, शब्द प्रसंस्करण और खंड की सीआरसी बनाने के लिए।

मार्च, 2021

© इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय, 2021

ISBN: .....

सर्वाधिकार सुरक्षित। इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय की लिखित अनुमति के बिना इस पुस्तक के किसी भी अंश को मिमियोग्राफ अथवा किसी अन्य साधन द्वारा पुनः प्रस्तुत करने की अनुमति नहीं है।

इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय के पाठ्यक्रमों के विषय में अधिक जानकारी विश्वविद्यालय के मैदान गढ़ी, नई दिल्ली स्थित कार्यालय और इग्नू वेब साइट www.ignou.ac.in से प्राप्त की जा सकती है।

इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय की ओर से कुलसचिव सामग्री निर्माण एवं वितरण प्रभाग द्वारा मुद्रित एवं प्रकाशित।
मैसर्स :

पादप कार्यिकी और उपापचयः प्रयोगशाला कार्य

प्रयोगशाला पाठ्यक्रम की रचना आपको पादप कार्यिकी के विभिन्न पहलुओं के विषय में प्रायोगिक अनुभव प्रदान करने के लिए की गई है, जिनके विषय में आपने सैद्धांतिक पाठ्यक्रम में पढ़ा था। ये प्रयोग जल संबन्धों, प्रकाश संश्लेषण, श्वसन और एन्जाइमों से संबन्धित हैं। यह पाठ्यक्रम दो क्रेडिट का है। इसमें चार प्रदर्शन प्रयोग और आठ प्रयोग हैं। प्रदर्शन प्रयोग जल संबन्धों और पादप हार्मोनों के विषय में हैं जबकि प्रयोग प्रकाश संश्लेषण, जल संबन्धों, श्वसन और एन्जाइम से संबन्धित हैं।

यदि आप सैद्धान्तिक पृष्ठभूमि, उपयोग की जाने वाली सामग्रियों, अपनायी जाने वाली कार्यविधि और जो प्रेक्षण आपको लेने हैं, उनकी विस्तृत सूची के साथ पूरी तैयारी से प्रयोगशाला में आऐंगे तो आप निर्धारित समय अवधि में सफलता पूर्वक प्रयोगशाला सत्रों को पूरा कर सकेंगे। प्रयोगशाला कार्य आरंभ करने से पहले आपको प्रयोगशाला नियमावली (मैनुअल) को ध्यानपूर्वक पढ़ लेना चाहिए।

इन प्रयोगशाला अभ्यासों को पूरा कर लेने के बाद आपको सैद्धान्तिक संकल्पनाएं/धारणाएं अधिक स्पष्ट हो जाऐंगी और आपको वाष्पोत्सर्जन, जीवद्रव्यकुंचन, प्रकाश संश्लेषण, श्वसन एन्जाइमों की कार्यप्रणाली और पादप हार्मोनों जैसी प्रक्रियाओं की स्पष्ट और बेहतर समझ विकसित होगी। आप पादप की वृद्धि के संदर्भ में सभी कार्यिकीय घटनाओं के महत्त्व के बारे में भी बताने में सक्षम होंगे। प्रत्येक प्रदर्शन प्रयोग के अंत में पूछे गए प्रश्न आपके लिए उपयोगी होंगे, क्योंकि इनसे आपको पादपों में प्रचालन करने वाली प्रक्रियाओं की गहन जानकारी मिलेगी। इस पाठ्यक्रम का उद्देश्य आपके प्रायोगिक कौशलों को विकसित करना है, क्योंकि आप प्रयोगशाला अभ्यासों को करने के बाद उनके प्रेक्षण लेंगे।

प्रयोगशाला अभ्यासों को करते समय आपको शारीरिक और मानसिक रूप से सचेत रहने की आवश्यकता होगी। यह उम्मीद की जाती है कि पाठ्यक्रम के पूरा होने तक आप प्रशिक्षित और स्वतंत्र रूप से कार्य करने में सक्षम हो जाऐंगे। स्वयं प्रेक्षणों को नोट करने के बाद आप का आत्मविश्वास भी बढ़ जाएगा। यह आवश्यक है कि आप प्रदर्शन प्रयोग वाले अभ्यासों को ध्यानपूर्वक देखें और प्रायोगिक अभ्यासों को करते समय प्रेक्षणों को नोट करें, उनका विश्लेषण करें और किसी निष्कर्ष पर पहुंचें। आपको सलाह दी जाती है कि आप अपने प्रेक्षणों पर काउन्सलर के साथ चर्चा करें, क्योंकि इससे आपको अपने संदेहों को दूर करने और किसी तार्किक निष्कर्ष पर पहुंचने में सहायता मिलेगी।

आपको यह समझना चाहिए कि प्रयोगशाला सत्र का अयोजन करना महंगा होता है। इसके लिए काउन्सलर और तकनीकी कर्मचारियों की भागीदारी की आवश्यकता होती है। इसलिए पूरे प्रयोगशाला सत्र को गंभीरता से लेना चाहिए और जितना अधिक संभव हो सके इसका उपयोग अपनी वैज्ञानिक सोच को विकसित करने के लिए करना चाहिए। प्रयोगशाला अभ्यास रोचक और अनुभव प्रदान करने वाले हैं। हम आशा करते हैं कि आप पादप कार्यिकी के इस प्रयोगशाला सत्र से अनुभव प्राप्त करेंगे। पुनः आपको ये सुझाव दिया जाता है कि आप इन प्रयोगशाला अभ्यासों को करने के लिए आवश्यक सैद्धान्तिक पाठ्यसामग्री को पढ़ लें।

उद्देश्य

इन अभ्यासों को पूरा करने के बाद आप :

- प्रदर्शन प्रयोगों के द्वारा पादपों की वृद्धि में जल और हार्मोनों के महत्त्व का वर्णन कर सकेंगे;
- जीवद्रव्यकुचन, परासरण विभव और वाष्पोत्सर्जन की संकल्पना को बता सकेंगे;
- पौधो में रंध्रो के वितरण में भिन्नताओं पर जानकारी प्राप्त कर सकेंगे;

- प्रकाश संश्लेषण की प्रक्रिया और उसे प्रभावित करने वाले पर्यावरणीय कारकों को समझ सकेंगे;
- श्वसन की प्रक्रिया को जान सकेंगे;
- एन्जाइमों की कार्यप्रणाली और उनकी क्रिया को प्रभावित करने वाले कारकों की पहचान कर सकेंगे; और
- पत्र वर्णलेखन की तकनीक में सम्मिलित मौलिक सिद्धान्त की चर्चा कर सकेंगे।

उपकरण तथा अन्य आवश्यकताएं

प्रयोगशाला पाठ्यक्रम आरंभ करने से पहले, आपको अपने साथ निम्नलिखित वस्तुएं लेकर आनी चाहिए :

- छिली हुई पेन्सिलें
- प्रेक्षण के लिए नोटबुक
- रबड़
- लैब कोट
- सैनीटाइजर

संयुक्त सूक्ष्मदर्शी, लक्स मीटर, पोटोमीटर और सेन्ट्रीफ्यूज जैसे उपकरण आपको प्रयोगशाला में प्रदान किए जाऐंगे। कांच के पात्र, रसायन और अन्य विविध वस्तुएं भी आपको प्रयोगशाला में ही प्रदान की जाऐंगी।

प्रयोगशाला शिष्टाचार

प्रयोगशाला पाइ्यक्रमों से अधिक लाभ उठाने के लिए, आपको निष्ठा, ईमानदारी और परिश्रम के साथ ही विश्लेषणात्मक सोच के साथ कार्य करने की आवश्यकता होती है। विषय-वस्तु पर आपके ज्ञान को बढ़ाने में आपकी सहायता के अलावा यह प्रयोगशाला पाठ्यक्रम आपको विश्लेषणात्मक और प्रेक्षण के कौशलों को और विकसित करने का मौका भी देगा। प्रयोगशाला में आने से पहले आपको निम्नलिखित बातों का अनुसरण करने की आवश्यकता होगी।

- प्रयोगशाला में आने से पहले पाठ्यक्रम में दिए गए संबंधित सैद्धान्तिक भागों के साथ ही प्रयोगशाला नियमावली को अवश्य पढ़ें।
- निर्धारित समय के अंदर सौंपे गए कार्य को पूरा करें, पूर्व नियोजन और समय के उचित उपयोग से आपको लक्ष्यों को पूरा करने में मदद मिलेगी।
- प्रदान की गई सुविधाओं का उचित उपयोग करें।
- आपके काउंसलर द्वारा दिए गए निर्देशों का पालन करें।
- दिए गए अभ्यास को पूरा करने के तुंरत बाद अपने कार्य की काउंसलर से जांच कराएं।
- अत्यधिक देखभाल के साथ प्रयोगशाला के उपकरणों को संभालें।
- जब भी संदेह हो तो अपने परामर्शदाता के साथ उन पर चर्चा करें।

इन बिंदुओं का अनुपालन करके, सफलता और संतुष्टि दोनों आपकी होगी! हम आपको पाठ्यक्रम के लिए शुभकामनाएं देते हैं।

1

बोल्टिंग का प्रदर्शन

रूपरेखा

1.1 प्रस्तावना

1.2 आवश्यक

1.3 कार्यविधि

1.1 प्रस्तावना

जिबरैलिन प्राकृतिक रूप से पाए जाने वाले हार्मोन का समूह हैं जिनके पादपों पर अनेक कार्यकीय प्रभाव होते हैं। ये प्रभाव सामान्यतः वृद्धि वर्धक होते हैं।

जिबरैलिनों का एक सबसे महत्वपूर्ण प्रभाव आनुवंशिक रूप से बौने पौधे को सामान्य लंबाई के पौधे में परिवर्तित करना है। पत्ता गोभी के पौधे में जिबरैलिनों को मिलाने से 'हैड' (head) या बौना तना 6-8 फुट लंबाई के तने में रूपांतरित हो जाता है। चुकंदर के रोज़ैट (rosette) पादप बौनेपन का एक व्यापक उदाहरण हैं। **लैंग** (1956) ने दिखाया कि इस प्रकार का तना जिबरैलिन से उपचारित किए जाने पर त्वरित वृद्धि या 'बोल्टिंग' (bolting) कर सकता है। बोल्टिंग कुछ बौने द्विवर्षीय पौधों में पुष्पों को उत्पन्न करने के लिए पुष्पीय अक्ष के वृंत्त का दीर्घीकरण है। एक मौसम में पौधा कायिक वृद्धि करता है और दूसरे मौसम में पुष्पीय अक्ष और फिर फल उत्पन्न करता है। कायिक प्रावस्था में पौधे में जिबरैलिन का उपयोग करने पर पौधे में समयपूर्व पुष्पीय अक्ष निर्मित हो जाती है। इस गुण का उपयोग कृषि विज्ञानियों द्वारा कम समयावधि में फसल प्राप्त करने के लिए किया जाता है।

अनेक वैज्ञानिकों ने स्वीट पी (sweet pea) में कोशिका विभाजन के उद्दीपन को प्रदर्शित किया है। ऐसा माना जाता है कि पौधे के उत्परिवर्ती भिन्न रूप में बौनापन सामान्य जिबरैलिन उत्पादन की क्षमता को नियंत्रित करने के लिए उत्तरदायी जीन के अवरोध के कारण होता है।

1.2 आवश्यक सामग्री

पादप सामग्री : समान आयु के *लॉनिया* (*Launaea*) (रोज़ैट प्रकृति) के गमले में लगे पौधों के दो समूह (प्रत्येक समूह में चार पौधे हैं)।

रसायन : GA_3 विलयन {0.1 mg/L (0.1 पीपीएम); 1 mg/L (1 पीपीएम); 5 mg/L (5 पीपीएम) और 10 mg/L (10 पीपीएम)}।

विविध : स्प्रेयर (छिड़काव करने का यंत्र)/रूई के फाहे।

1.3 कार्यविधि

रोज़ैट पौधों के प्ररोह शीर्ष को उद्भासित कर दीजिए और

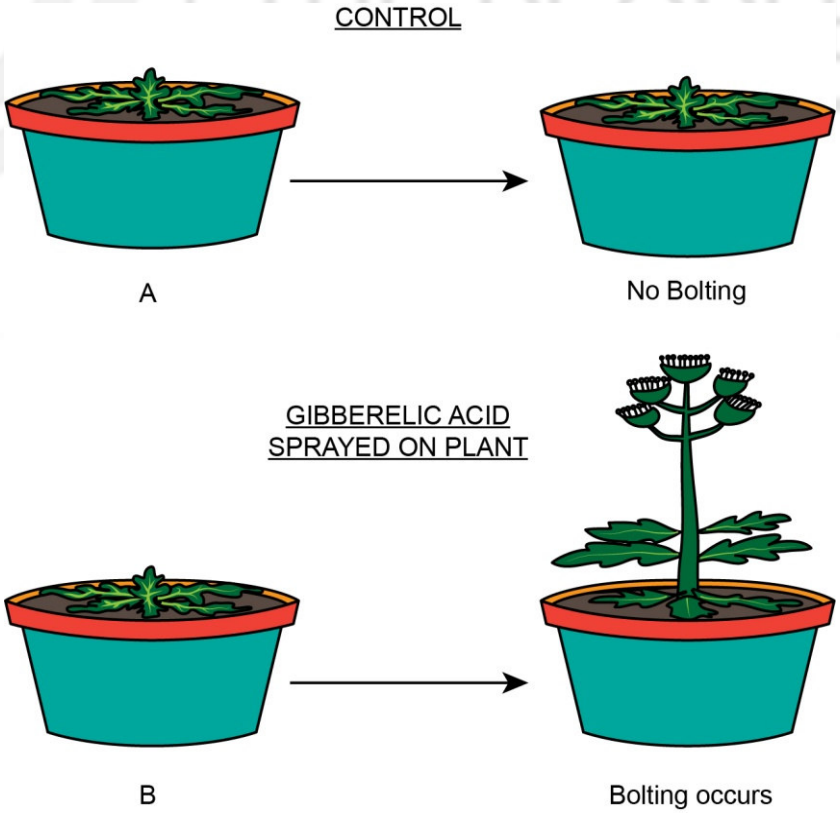
1) चार सप्ताह के *लॉनिया* या *लैक्टूका सैटाइवा* (*Lactuca sativa*) (सलाद) के लगभग समान आमाप के गमले में लगें पौधों का चयन कीजिए।

2) GA_3 की भिन्न सान्द्रताओं के प्रभाव को प्रदर्शित करने के लिए कुल 18 पौधों को 3-3 पौधों के छह समूहों में विभाजित किया गया है।

3) छह समूहों को i) कंट्रोल (कोई GA_3 नहीं) सिर्फ आसुत जल; ii) 0.01 mg/L GA_3; iii) 0.1 mg/L GA_3; iv) 1 mg/L GA_3; v) 5 mg/L GA_3 और vi) 10 mg/L GA_3 में श्रेणीकृत किया गया है।

4) प्रत्येक समूह का 100 ml विलयन बनाइए। पत्तियों को सावधानी से स्थानांतरित करके प्ररोह शीर्ष को उदभासित कर दीजिए और GA_3 की विशिष्ट सांद्रता को विलयन का रूई के फाहे या स्प्रेयर से वाहजल स्तर (runoff level) तक छिड़काव कीजिए। दो सप्ताह तक प्रति तीसरे दिन हार्मोन के उपयोग को दोहराइए।

आप देखेगें कि कंट्रोल पौधों ने अपनी बौनी प्रकृति को बनाए रखा है जबकि जिन पौधों पर GA_3 का छिड़काव किया गया उनमें पर्वों का दीर्घीकरण और बोल्टिंग दिखाई देती है।



चित्र 1.1 : बोल्टिंग का प्रदर्शन।

अब निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दीजिए:

1) उपर्युक्त परीक्षण सेट-अप क्या प्रदर्शित करता है?

2) पुष्पीय अक्ष की लंबाई को बढ़ाने किस कारण बढ़ती है?

3) पर्व की लंबाई को बढ़ाने के क्या व्यावसायिक उपयोग हैं?

4) कौन से रसायन बौनेपन को बढ़ावा देते हैं? क्या बौनेपन का कोई व्यावसायिक महत्व है?

उत्तर

1) बोल्टिंग को प्रेरित करने के लिए रौज़ेट पौधों पर GA_3 के प्रभाव का प्रदर्शन

2) बोल्टिंग कोशिकाओं की संख्या में वृद्धि और कोशिका दीर्घीकरण के कारण होती है।

3) उदाहरण के लिए, अंगूर के पौधों को उनके पर्वों की लंबाई बढ़ाने के लिए जिबरैलिन से उपचारित किया जा सकता है। इसप्रकार पुष्पों के बीच अन्तराल बढ़ जाता है जिससे फल आसानी से/अधिक स्थान में वृद्धि कर पाते हैं।

4) बौनेपन को एन्टीजिबरैलिनों जैसे AMO-1618, साइकोसेल (CCC), फोस्फोन D और एन्सीमिडोल द्वारा प्रोत्साहित किया जा सकता है। ये रसायन पौधे को बौना कर देते हैं जिससे उनका पतन (lodging) नहीं होता है। एन्टीजिबरैलिन जिबरैलिन के संश्लेषण को रोक देते हैं।

2

मूलोत्पत्ति पर ऑक्सिन के प्रभाव का प्रदर्शन

रूपरेखा

2.1 प्रस्तावना

2.2 आवश्यक सामग्री

2.3 कार्यविधि

2.1 प्रस्तावना

पौधों में अपनी अनेक-पक्षीय भूमिकाओं के कारण **ऑक्सिन** सबसे महत्वपूर्ण पादप हार्मोनों में से एक हैं। ये पदार्थ ऐसे पहले वृद्धि कारक थे जिनकी पहचान पादप हार्मोनों के रूप में की गई थी। **एफ. डब्लू. वेन्ट** इन वृद्धि पदार्थों को वियुक्त करने में सफल रहे थे और उन्होंने इनको ऑक्सिन नाम दिया था। ऑक्सिनों को ऐमीनो अम्ल ट्रिप्टोफान से संश्लेषित किया जाता है।

प्रकृति में पौधों द्वारा जड़ का बनना तभी संभव होता है जब उन पर विकासशील मुकुल (buds) या पत्तियां होती हैं। प्रसुप्त मुकुल मूलोत्पत्ति को प्रेरित नहीं कर पाते हैं। किसी सामान्य पादप के विकासशील मुकुल के ठीक नीचे वलयाकार छल्ले काटने से भी मूलोत्पत्ति नहीं होती है। स्पष्टतः ऐसे सभी मामलों में मूलोत्पत्ति हार्मोन की उपस्थिति पर निर्भर करती है। **थीमान** एवं उनके सहयोगियों ने दिखाया था कि जड़ प्राइमिंग (priming) पदार्थ और ऑक्सिन एक जैसे होते हैं। ऑक्सिन जड़ आरंभकों के बनने की दर और उनकी संख्या को बढ़ा देते हैं। ऑक्सिन के इस गुण का उपयोग पौधों के तनों की कतरन/कलमों (cuttings) द्वारा पौधों के प्रवर्धन में किया जाता है।

थीमान एवं वेन्ट (1930) ने पाया कि इंडोल एसीटिक अम्ल (IAA) और अन्य वृद्धि पदार्थ कलमों में अपस्थानिक जड़ों के निर्माण को आरंभ करने के लिए अनिवार्य हैं। इनका उपयोग 100-1000 भाग प्रति दस लाख (पीपीएम) की सांद्रता में किया जाता है।

2.2 आवश्यक सामग्री

कांच के पात्र : 4 शंक्वाकार फ्लास्क (250 ml)।

पादप सामग्री : *मोरस अल्बा* (*Morus alba*) के तने की कलमें।

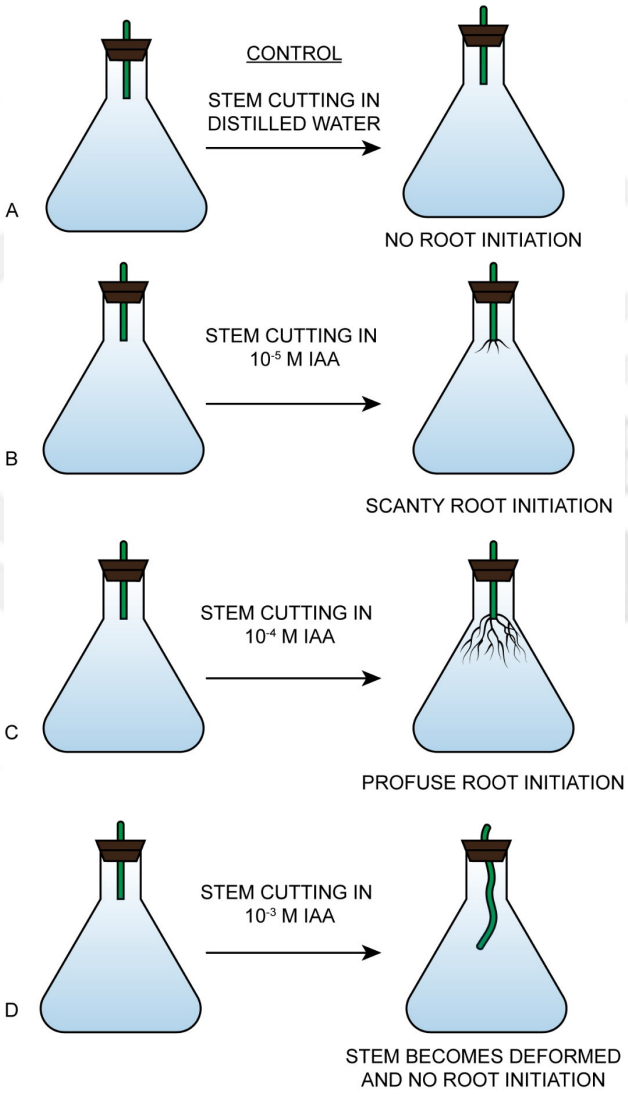
रसायन : i) इंडोल एसीटिक एसिड (IAA) विलयन (10^{-3}M, 10^{-4}M, 10^{-5}M)।

ii) आसुत जल।

विविध : कॉर्क स्टॉपर।

2.3 कार्यविधि

सबसे पहले चार शंक्वाकार फ्लास्क लेकर उनमें से एक को आसुत जल (कंट्रोल) से भर लें। अन्य तीन शंक्वाकार फ्लास्कों में भिन्न सान्द्रताओं (10^{-3}M, 10^{-4}M, 10^{-5}M) के IAA विलयन भर लें। सभी फ्लास्कों को कॉर्क स्टॉपर से बंद कर दें। *मोरस अल्बा* की शाखाओं के ताजे कटे टुकड़े कॉर्क स्टॉपरों के छिद्रों में लगा दिए जाते है जिससे कलमों के निचले सिरे विलयन को स्पर्श करें। इन शंक्वाकार फ्लास्कों को एक सप्ताह तक ऐसे ही छोड़ देते हैं।



चित्र 2.1 : मूलोत्पत्ति पर ऑक्सिन के प्रभाव का प्रदर्शन।

आप देखेंगे कि कंट्रोल फ्लास्क जिसमें सिर्फ आसुत जल था, में कोई मूल आरंभन नहीं हुआ, लेकिन 10^{-4} M IAA विलयन युक्त फ्लास्क में अधिकतम मूल आरंभन हुआ। दूसरी तरफ, 10^{-5} M IAA विलयन वाले फ्लास्क में रखी कलम में बहुत कम मूल आरंभन हुआ।

आप ये भी देखेंगे कि उस फ्लास्क के तने की कलम में कोई मूल आरंभन नहीं हुआ जिसमें 10^{-3} M IAA विलयन था।

कंट्रोल फ्लास्क जिस में कोई IAA नहीं था, में मूल आरंभन नहीं दिखाई दिया क्योंकि अंतर्जात ऑक्सिन अत्यधिक कम मात्रा में उपस्थित थे, अंतः इनका कोई प्रभाव नहीं पड़ा। 10^{-5}M IAA विलयन वाले फ्लास्क में बहुत कम मूल आरंभन दिखाई दिया क्योंकि ऑक्सिन की मात्रा इष्टतम से कम थी। 10^{-4}M IAA विलयन वाले फ्लास्क में अधिकतम मूल आरंभन दिखाई दिया क्योंकि इसमें IAA की इष्टतम सांद्रता थी। 10^{-3}M IAA विलयन वाले फ्लास्क में तने की कलम विरूपित हो गई, यह क्षति IAA की अधीष्टम (supraoptimal) सांद्रता के कारण हुई थी।

अब निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दीजिए :

1) यह परीक्षण सेट-अप क्या प्रदर्शित करता है?

2) यदि फ्लास्क में IAA की सांद्रता को 10 गुना बढ़ा दिया जाए तो क्या होगा?

3) छह कृत्रिम ऑक्सिन के नाम लिखिए।

उत्तर

1) तने की कलमों/कतरनों में IAA द्वारा जड़ के प्रेरण का प्रदर्शन

2) ऑक्सिन की अत्यधिक सांद्रता से पादप मर जाते हैं।

3) NAA, IBA, 2, 4-D, 2, 4,5 -T, MCPA, PCPA ।

3

जड़ द्वारा श्वसन का प्रदर्शन

रूपरेखा

3.1 प्रस्तावना

3.2 आवश्यक सामग्री

3.3 कार्यविधि

3.1 प्रस्तावना

कोशिकीय श्वसन जीवों के लिए अनिवार्य है और यह भिन्न पथों की एक श्रृंखला होती है। भंडारित/संचित सामग्री श्वसन क्रियाधार की भांति कार्य करती है और ऑक्सीकृत होकर ATP निर्मुक्त करती है। क्योंकि सभी कोशिकाएं श्वसन करती हैं, जडें भी इसका अपवाद नहीं है। सामान्यतः पादप के वायवीय भागों का उपयोग श्वसन की दर अथवा श्वसन भागफल (Respiratory quotient; RQ) का प्रदर्शन करने के लिए किया जाता है। जड़े भी श्वसन करती हैं और इसलिए पादप वृद्धि के लिए वातन युक्त मृदाओं का होना आवश्यक है। लंबे समय तक जलाक्रांति (water logging) होने पर जड़ें अवरूद्ध हो जाती हैं और पौधा मर जाता है।

3.2 आवश्क सामग्री

पादप सामग्री : *टैजेटीस* (*Tagetis*) के दो छोटे जड़ युक्त पौधे, जिनमें अपस्थानिक जडें हों।

रसायन : तनु NAOH विलयन; फीनोल्फथेलीन

विविध/अन्य : छिद्र युक्त कॉर्क स्टॉपर

3.3 कार्यविधि

इस परीक्षण में एक अक्षुण्ण अपस्थानिक जड़ों युक्त छोटे जड़युक्त पौधे (जैसे *टैजेटीस* या गेहूं) को लेकर फलास्क में रखा जाता है जिसमें थोड़ा क्षारकीय विलयन होता है (तनु NaoH विलयन युक्त) और फीनोल्फथेलीन डालकर इसे लाल रंग प्रदान किया जाता है। एक अन्य फ्लास्क लेते हैं जो कंट्रोल की भांति कार्य करता है, और उसमें कोई पौधा नहीं होता है सिर्फ लाल रंग का क्षारकीय विलयन होता है। इसमें स्टॉपर को

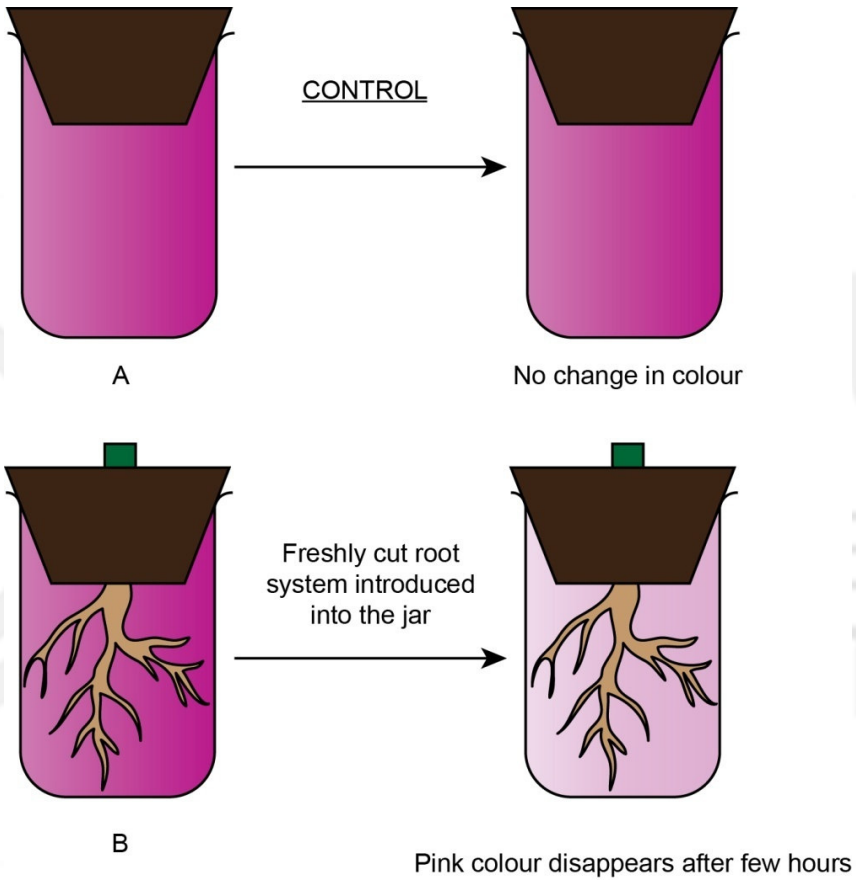
कसकर लगा देते हैं। दोनों फ्लास्क को विसरित प्रकाश में रख दिया जाता है और कुछ समय पश्चात् उनके अंदर रखे विलयनों का परीक्षण किया जाता है।

आप देखेंगे कि कंट्रोल फ्लास्क का रंग परिवर्तित नहीं होता है जबकि वह जिसमें जड़ें रखी हैं, रंगहीन हो जाता है क्योंकि विलयन का रंग उड़ जाता है। श्वसन जड़े CO_2 निर्मुक्त करती हैं जो जल के साथ अभिक्रिया करके कार्बोनिक अम्ल (H_2CO_3) बनाती है।

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$$

कार्बोनिक अम्ल फ्लास्क में उपस्थित NaOH को उदासीन कर देता है और विलयन की क्षारीयता कम होने लगती है, जिससे लाल रंग उड़ जाता है (फीनोल्फथेलीन उदासीन माध्यम में रंगहीन होती है)।

$$H_2CO_3 + 2\ NaOH \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O$$



चित्र 3.1 : जड़ द्वारा श्वसन का प्रदर्शन।

प्रश्न

1) इस सेटअप में सम्मिलित कार्यकीय क्रियाविधि की व्याख्या कीजिए और उसके समीकरण भी दीजिए।

2) यदि फ्लास्क के विलयन में pH 7.8 का बफर विलयन होता तो क्या होता?

3) यदि परीक्षण के फ्लास्क में एक बूंद HCl की डाल दें, तो क्या होगा?

4) यदि परीक्षण फ्लास्क में रखने से पहले जड़ों को पहले उबाल दिया जाए तो आप किस परिणाम की उम्मीद करते हैं?

5) जड़ों का श्वसन मृदा से पोषकों का अंर्तग्रहण करने में किसप्रकार सहायक होता है? स्पष्ट कीजिए।

उत्तर

1) कार्यविधि को देखिए।

2) विलयन उदासीन या अम्लीय नहीं होगा। गुलाबी रंग हल्का नहीं होगा।

3) गुलाबी रंग उड़ जाएगा।

4) रंग में कोई अन्तर नहीं आएगा क्योंकि जड़े मर जाएंगी।

5) पोषकों के सक्रिय अंर्तग्रहण के लिए ATP के रूप में ऊर्जा की आवश्यकता होती हैं, जो श्वसन कर रही जड़ों द्वारा प्रदान की जाती है।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

4

वाष्पोत्सर्जन के कारण चूषण का प्रदर्शन

रूपरेखा

4.1 प्रस्तावना

4.2 आवश्यक सामग्री

4.3 कार्यविधि

4.1 प्रस्तावना

आप जानते हैं कि प्रकृति में पादप सक्रिय रूप से वाष्पोत्सर्जन करते हैं और जल एक सतत् खंड के रूप में ऊपर जाता है। आप देख सकते हैं कि जलखंड जल के अणुओं के बीच प्रबल संसंजक बल तथा वाहिकीय तत्वों की जलरागी भित्तियों और जल के अणुओं के बीच अत्यधिक आसंजक बल के कारण खंडित नहीं होता है। जडों और पादप के वाष्पोत्सर्जन कर रहे भाग अर्थात् पत्तियों के बीच एक सतत् जलखंड पाया जाता है। अतः वाष्पोत्सर्जन के कारण पौधे की पत्तियों में एक चूषण बल अथवा वाष्पोत्सर्जन अभिकर्ष विकसित हो जाता है, जो तने से नीचे जड़ों तक संचरित होता है जिससे मृदा से जल का उद्ग्रहण होता है। वाष्पोर्त्जन के समय पौधे से होने वाली जल की हानि की क्षतिपूर्ण पोटोमीटर की केशिका नली से उसके द्वारा अवशोषित जल से हो जाती है। इससे मरकरी कॉलम (पारे का खंड) ऊपर उठ जाता है।

4.2 आवश्यक सामग्री

पादप सामग्री : *टैजेटीस* (मेरीगोल्ड) के दो बद्धमूल पौधे

उपकरण : एक सामान्य या 'H' आकार का पोटोमीटर

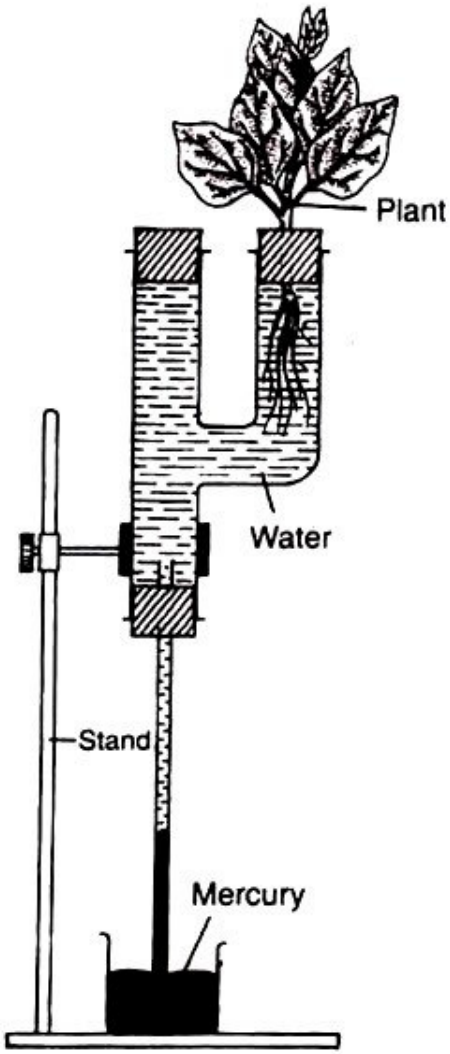
रसायन : मरकरी (पारा)

विविध/अन्य : एक छिद्र युक्त कॉर्क स्टॉपर

4.3 कार्यविधि

इस सेटअप में एक सामान्य पोटोमीटर होता है जिसमें एक खोखली कांच की नली होती है जिसका एक सिरा मरकरी (पारे) युक्त द्रोणी में निमज्जित रहता है और दूसरे सिरे

पर एक सक्रिय रूप से वाष्पोत्सर्जन करने वाले पादप (जैसे अमरूद, मैरीगोल्ड, सूरजमुखी अथवा *जिरेनियम*) का प्ररोह वायुरोधी स्थितियों में लगा रहता है। इस सेटअप को पंखे के नीचे रख दें, जिससे अधिक वाष्पोत्सर्जन हो सके। कुछ समय के बाद (लगभग 30 मिनट) आपको मरकरी कॉलम के स्तर में वृद्धि दिखाई देगी, जो वाष्पोत्सर्जन के कारण चूषण को इंगित करती है।



चित्र 4.1 : वाष्पोत्सर्जन के कारण चूषण को दर्शाते हुए सामान्य पोटोमीटर ।

अब इन प्रश्नों को हल कीजिए :

1. प्रदर्शित की जा रही प्रक्रिया को प्रभावित करने वाले कारकों को सूचीबद्ध कीजिए।

2. यदि पत्तियों पर चिकनाई या मोम का आलेपन कर दिया जाए तो क्या होगा?

3. सेटअप में मरकरी (पारे) का उपयोग क्यों किया जाता है?

4. यदि इस सेटअप को आर्द्र पर्यावरण में रख दिया जाए तो क्या होगा?

5. कौन सा पादप हार्मोन जल की कमी की स्थितियों में रंध्रों के बंद होने को नियंत्रित करता है?

उत्तर

1. वाष्पोत्सर्जन अनेक कारको जैसे सूर्य के प्रकाश, तापमान; वायुमंडलीय आर्द्रता; वायु की गति; CO_2 और जल की उपलब्धता से प्रभावित होता है।
2. रंध्रों से वाष्पोत्सर्जन नहीं होगा और इसलिए मरकरी कॉलम में वृद्धि नहीं होगी।
3. यह जल से अभिक्रिया नहीं करता है।
4. कम वाष्पदाब हानि के कारण वोष्पोत्सर्जन की दर कम होगी।
5. एब्सीसिक अम्ल (ABA)।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

प्रयोग 1

पादप कोशिकारस के परासरण विभव का जीवद्रव्यकुंची पद्धति द्वारा निर्धारण करना

रूपरेखा

1.1 प्रस्तावना
1.2 आवश्यक सामग्री
1.3 सिद्धान्त
1.4 कार्यविधि
1.5 प्रेक्षण
1.6 परिणाम
1.7 सावधानियां

1.1 प्रस्तावना

पादप की कार्यिकीय रूप से सक्रिय अवस्था को बनाए रखने के लिए एक प्रमुख शर्त इष्टतम जल संतुलन की है। जल पादप कोशिका का एक महत्वपूर्ण घटक है। यह पदार्थों के प्रवेश और अभिगमन और उपापचयी अभिक्रियाओं के लिए एक विलायक है। इकाई 1 में आपने उन भौतिक सिद्धान्तों के बारे में पढ़ा है जो एक कोशिका से दूसरी में जल के नेट प्रवाह और मृदा-पादप वायुमंडलीय तंत्र में जल की स्थूल गति को नियंत्रित करते हैं। जल विभव एक प्रेरक बल है जो पादप तंत्र में जल की गति करता है। परासरण विभव ($\Psi s/\Psi p$) जल विभव का एक महत्वपूर्ण घटक है और निम्न समीकरण द्वारा इससे संबन्धित होता है :

$$\Psi w = \Psi s + \Psi p$$

1.2 आवश्यक सामग्री

- *रोइओ डिस्कलर* (*Rhoeo discolor*) की पत्तियां,
- सुक्रोस विलयन (0.25 M) , आसुत जल,
- पेट्री डिशें, कांच की स्लाइडें, कवर स्लिप, बीकर और पिपैट, (1 ml, 10 ml)
- सूक्ष्मदर्शी, चिमटी, सुई, रेजर ब्लेड, स्टॉप वॉच, ग्राफ-पत्र।

1.3 सिद्धान्त

आप जानते हैं कि जैविक कलाएं विभिन्न विलायकों के लिए विभेदी रूप से पारगम्य होती हैं। परासरण उच्चतर सांद्रता से कम सांद्रता की ओर अर्धपारगम्य झिल्ली से होकर विलायक अणुाओं की गति है।

परासरण विभव वह मात्रा हैं जिससे विलेय की उपस्थिति में जल विभव अपघटित होता है। इसे **विलेय विभव** (solute potential) भी कहते हैं। कोशिका रस के परासरण विभव को विलयन के उस विभव के बराबर माना जाता है जिसपर 50% कोशिकाएं जीवद्रव्यकुंचन (plasmolysis) दर्शाती हैं और परासरण विभव का परिकलन नीचे दिए गए सूत्र से किया जा सकता है।

परासरण विभव = -CRT

जहां C = आरंभिक जीवद्रव्यकुंचन पर मोलर (ग्रामणुक) सांद्रता

R = सर्व गैस स्थिरांक (0.082 वायुमंडल/मोल)

T = परम ताप ^{o}K में (t + 273)

1.4 कार्यविधि

1) पहले आपको स्टॉक विलयन के रूप में 1 मोलर सुक्रोस के प्रयोग द्वारा 0.15 मोलर से 0.35 मोलर तक के परास की सुक्रोस विलयन की एक श्रेणी बनानी होगी। आपकी सहायता के लिए तनुकरण सारणी नीचे दी गई है।

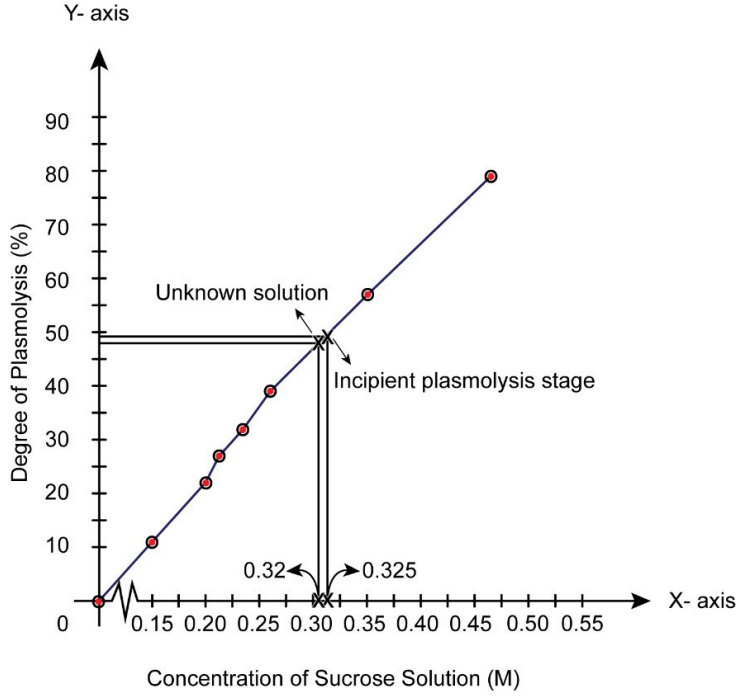
2) अब *रोइओ डिस्कलर* (*Rhoeo discolor*) की पत्तियां लीजिए और उनकी बाह्यत्वचा को छीलकर निकाल लीजिए। इस पौधे का उपयोग इसलिए किया जाता है क्योंकि इसके संवहनी रस में एन्थोसायनिन वर्णक होते हैं। एन्थोसायनिन वर्णक जल में घुलनशील होते हैं और बाहरी माध्यम के pH मानों में परिवर्तन के लिए प्रतिक्रिया करते हैं।

3) अब प्रत्येक पेट्रीप्लेट में 5 मिनट के समय अन्तराल के बाद तीन निशल्क (peel) रखिए। 10 मिनट प्रतीक्षा कीजिए।

4) अब निशल्कों को बाहर निकालकर उनको उनके क्रमिक विलयनों में स्लाइड पर आरोपित कीजिए और सूक्ष्मदर्शी में स्लाइड को देखिए (6x, 40x)।

5) अब आपकों दिखाई दे रही वर्णकित कोशिकाओं की कुल संख्या और उन कोशिकाओ की संख्या की गिनती करनी है जिनमें आंशिक या पूर्ण जीवद्रव्यकुंचन हो गया है। अब जीवद्रव्यकुंचित कोशिकाओं के प्रतिशत (Y-अक्ष) और सुक्रोस सांद्रताओं (x-अक्ष) का एक ग्राफ बनाइए और इस ग्राफ से आप उस सांद्रता का पता लगा सकते हैं जिसपर 50% कोशिकाओं का जीवद्रव्यकुंचन हो जाता है – यह **आरंभिक कुंचन** (incipient plasmolysis) का चरण कहलाता है।

6) ऊपर दिए गए सूत्र से कोशिकाओं के परासरण विभव का परिकलन कीजिए।



चित्र 1.1 : सुक्रोस विलयन की सांद्रता और जीवद्रव्यकुंचन की मात्रा के लिए ग्राफ बनाना।

तनुकरण सारणी

स्टॉक विलयन = 1.0 M (मोलर) सुक्रोस (342g सुक्रोस को आसुत जल में घोलकर विलयन का आयतन 100 mL कर लीजिए)।

सुक्रोस विलयन (मोलर) की सांद्रता	1 M सुक्रोस की मात्रा	विलायक (आसुत जल) की मात्रा	कुल आयतन
कंट्रोल	-	10.0 ml	10 ml
0.15 M	1.5 ml	8.5 ml	10 ml
0.20 M	2.0 ml	8.0 ml	10 ml
0.22 M	2.2 ml	7.8 ml	10 ml
0.24 M	2.4 ml	7.6 ml	10 ml
0.26 M	2.6 ml	7.4 ml	10 ml
0.30 M	3.0 ml	7.0 ml	10 ml
0.35 M	3.5 ml	6.5 ml	10 ml

1.5 प्रेक्षण

प्रेक्षण सारणी

सुक्रोस सांद्रता (M)	देखी गई वर्णकित कोशिकाओं की संख्या (औसत)	जीवद्रव्यकुंचित कोशिकाओं की संख्या (औसत)	जीवद्रव्यकुंचन की मात्रा
कंट्रोल	a)	a)	
	b)	b)	
	c)	c)	

0.15 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.20 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.22 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.24 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.26 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.30 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)
0.35 M	a)	a)
	b)	b)
	c)	c)

परिकलन

दी गई पादप सामग्री के लिए

C = समपरासारी सांद्रता = 0.32 M (ग्राफ से)

R = गैस स्थिरांक = 0.082

T = परम ताप = 306.5 ˚K (मान लीजिए कि 33˚C पर)

$\Psi s/\Psi \pi$ = -CRT

= -0.32 × 0.082 × 306.5

$\Psi \pi$ = -8.0425 बार

1.6 परिणाम

कंट्रोल (आसुत जल) में जीवद्रव्यकुंचन नहीं दिखाई देता है। सुक्रोस की सांद्रता में वृद्धि के साथ, जीवद्रव्यकुंचित कोशिकाओं की संख्या बढ़ जाती है क्योंकि बाह्य माध्यम कोशिका रस के सापेक्ष अतिपरासारी हो जाता है। जीवद्रव्यकुंचन के जारी रहने पर, कोशिकाद्रव्य के साथ ही कोशिका कला संकुचित होने लगती है। कोशिका भित्ति और कोशिका कला के बीच एक अवकाश बन जाता है जो जीवद्रव्यकुंचनी विलयन (बाह्य सुक्रोस विलयन और कोशिका रस से जल) से भर जाता है। 50% कोशिकाओं के जीवद्रव्यकुंचित हो जाने पर सुक्रोस सांद्रता अर्थात् समपरासारी सांद्रता का निर्धारण ग्राफ से किया जाता है। अज्ञात विलयन की सांद्रता का निर्धारण भी ग्राफ से किया जा सकता है और इसका उपयोग उस विलयन के परासरण विभव का परिकलन करने के लिए किया जाता है।

1.7 सावधानियां

1) बाह्यत्वचीय निशल्क एक-कोशिका मोटाई के और हरित ऊतकों तथा वायु के बुलबुलों से मुक्त होने चाहिए।

2) निशल्क की सभी कोशिकाओं में अनिवार्य रूप से एन्थोसायनिन वर्णक होना चाहिए।

3) उपयोग से पहले निशल्कों को पूरी तरह से जल में डुबोए रखना चाहिए जिससे वायु के बुलबुलों का प्रवेश न हो सके।

4) निशल्कों का अवलोकन नियत समय अंतराल के बाद करना चाहिए, समय को परीक्षण आरंभ करने से पहले निर्धारित कर लेना चाहिए (समयावधि निर्धारित करने के लिए पहले परीक्षण कर सकते हैं)।

5) निशल्कों का आरोपण उनकी क्रमिक सांद्रताओं में करना चाहिए, जल में नहीं जिससे जीवद्रव्य -विकुंचन (deplasmolysis) से बचा जा सके।

6) भिन्न सुक्रोस विलयनों युक्त पेट्री डिशों को ढंक कर रखना चाहिए जिससे वाष्पन से बचा जा सके।

7) यदि कोशिकाएं थोड़ी सी भी जीवद्रव्यकुंचित हों, तो उनको जीवद्रव्यकुंचन कर चुकी कोशिका की श्रेणी में रखना चाहिए।

प्रयोग 2

एक कृत शाखा द्वारा वाष्पोत्सर्जन पर दो पर्यावरणीय कारकों (प्रकाश और वायु वेग) के प्रभाव का अध्ययन करना

रूपरेखा

2.1 प्रस्तावना

2.2 आवश्यक सामग्री

2.3 सिद्धान्त

2.4 कार्यविधि

2.5 प्रेक्षण

2.6 परिणाम

2.7 सावधानियां

2.1 प्रस्तावना

पादप अपने परिवेश से (विशेषरूप से जड़ों से) जल का अवशोषण करते हैं लेकिन इस अवशोषित जल में से बहुत कम का ही वास्तव में पादप द्वारा उपयोग किया जाता है। अवशोषित जल में से अधिकांश पौधे द्वारा बचाए नहीं रखा जाता है बल्कि पत्तियों और अन्य वायवीय भागों द्वारा वायु में वाष्पित हो जाता है। इसे **वाष्पोत्सर्जन** (transpiration) कहते हैं।

जल की हानि पौधों के ऐसे किसी भी भाग से हो सकती है, जो वायु में उद्‌भासित होता है। लेकिन पत्तियां वाष्पोत्सर्जन का प्रमुख अंग हैं। पत्तियों से होने वाला वाष्पोत्सर्जन **पर्णीय वाष्पोत्सर्जन** (foliar transpiration) कहलाता है। अधिकांश पर्णीय वाष्पोत्सर्जन रंध्रों के द्वारा होता है और इसलिए इसे **रंध्रीय वाष्पोत्सर्जन** (stomatal transpiration) कहते हैं। अल्प मात्रा में पर्णीय वाष्पोत्सर्जन पत्ती की सामान्य सतह पर क्यूटीकल से भी होता है इसे **क्यूटीकली वाष्पोत्सर्जन** (cuticular transpiration) कहते हैं। काष्ठीय तनों में और फलों में वातरंध्रों (lenticels) से भी जलवाष्प की हानि होती है और इसे **वातरंध्री वाष्पोत्सर्जन** (lenticular transpiration) कहते हैं।

2.2 आवश्यक सामग्री

- पादप सामग्री – *टैकोमा* (*Tecoma*) के पौधे की टहनी
- कांच के उपकरण – i) एक अंशांकित पिपैट (1 mL)

  ii) बीकर (1000 mL)
- विविध/अन्य–रबड़ की नली, स्टॉप वॉच, लोहे का स्टैन्ड (दो होल्डर युक्त); पैना ब्लेड, लक्स मीटर, एनीमोमीटर (ऐच्छिक) और मृत्तिका (clay)।

2.3 सिद्धान्त

वाष्पोर्त्जन की दर प्रत्यक्ष या अप्रत्यक्ष रूप से अनेक कारकों से प्रभावित होती है जिनमें से प्रकाश की तीव्रता और वायु वेग प्रमुख हैं। **प्रकाश** रंध्रों को खोलकर वाष्पोत्सर्जन की दर को प्रत्यक्ष रूप से प्रभावित करता है। प्रकाश की अनुपस्थिति में रंध्र बंद हो जाते हैं और रंध्रीय वाष्पोत्सर्जन पूर्णतः बंद हो जाता है। उच्च प्रकाश तीव्रता से रंध्र अधिक खुल जाते हैं अतः वाष्पोत्सर्जन की दर बढ़ जाती है। यह पत्ती की सतह को गर्म करके भी वाष्पोत्सर्जन को प्रभावित करता है, जिससे पत्ती की कोशिकाओं में उपस्थित जल का अधिक वाष्पीकरण होता है।

वायु वेग (wind velocity) का भी वाष्पोत्सर्जन की दर पर अत्यधिक प्रभाव होता है। ऐसा माना जाता है कि हवा नहीं चल रही हो तो वाष्पोत्सर्जन कर रही पत्ती के ऊपर जलवाष्प एकत्रित हो जाती है। यह वाष्प दाब प्रवणता को कम कर देती है जिससे वाष्पोत्सर्जन की दर कम हो जाती है। जब हवा चल रही हो, तो जलवाष्प तेजी से पत्ती की सतह पर से गति करती है, जिससे 'जलवाष्प दाब' की प्रवणता बढ़ जाती है, अतः वाष्पोत्सर्जन की दर बढ़ जाती है। हल्की पवन वाष्पोत्सर्जन की दर को बढ़ाने में उच्च वेग की हवा की तुलना में अधिक प्रभावी होती है। ऐसा माना जाता है कि वायु का पत्ती की वाष्पोत्सर्जन कर रही सतह पर शीतन प्रभाव होता है। इससे वाष्प दाब प्रवणता कम हो जाती है, जिससे वाष्पोत्सर्जन की दर कम हो जाती है। उच्च वायु वेग पर्णमध्योत्मक कोशिकाओं से जल की हानि की दर को बढ़ाकर वाष्पोत्सर्जन को कम कर देता है, जिससे अंततः जल तनाव होता है और रंध श्लथ (ढीले) होकर बंद हो जाते हैं।

अतः, वायु वेग भी प्रकाश की भांति ही वाष्पोत्सर्जन की दर को सकारात्मक और नकारात्मक दोनों रूप से प्रभावित करता है।

2.4 कार्यविधि

1) पहले एक सामान्य पोटोमीटर लें जिसके एक सिरे पर एक अंशांकित पिपैट से जुड़ी रबड की नली लगी हो।

2) अब इसे जल से भर लें जब तक कि जलस्तर पिपैट के स्केल पर सबसे ऊपर वाले चिन्ह् पर न पहुंच जाए।

3) अब *टैकोमा* के पौधे की टहनी को जल के अंदर एक पैने ब्लेड से काटें और इसे जल के भीतर ही रबड़ की नली के मुक्त सिरे पर लगा दें, जिससे वायु के बुलबुलों का प्रवेश न हो सके।

4) अब उपकरण को धूप में लगभग 10 मिनट (पश्चता अवधि) के लिए रख दें और पिपैट में जलस्तर में होने वाली कमी को रिकॉर्ड करें।

5) आपकों इस प्रक्रिया को दो और बार दोहराना है।

6) अब उपकरण को छाया में रख दें, लेकिन वहां पर सूर्य का विसरित प्रकाश होना चाहिए।

7) उपकरण को 10 मिनट की पश्चता अवधि के लिए रख दें और पुनः जलस्तर में कमी की दर को रिकॉर्ड कीजिए। इस प्रक्रिया को तीन बार करना चाहिए।

8) अब इसी प्रक्रिया को कमरे में दोहराएं और तीन रीडिंग लें।

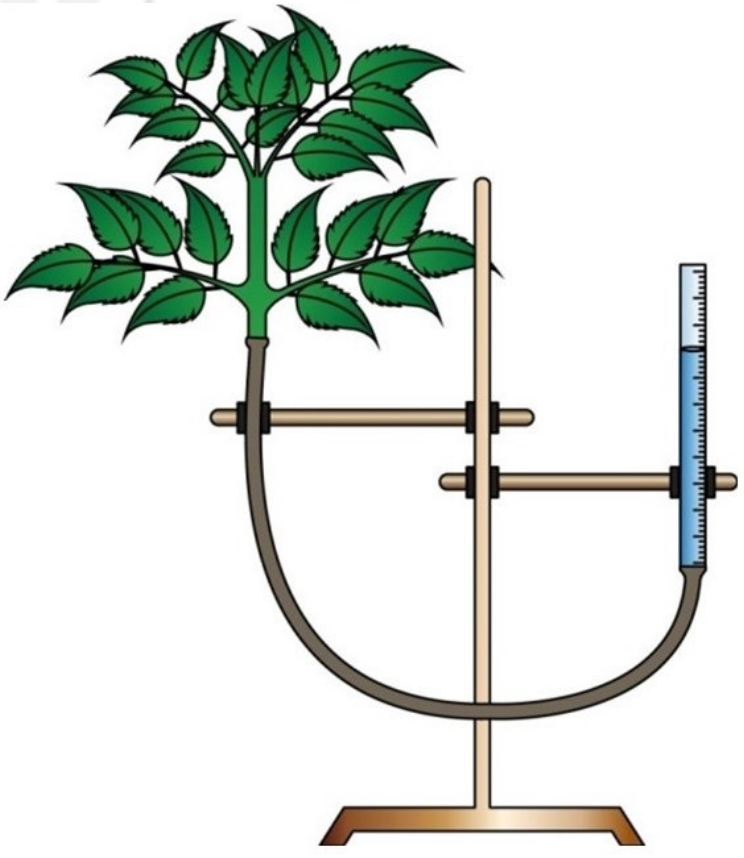
9) लक्समीटर या फोटोमीटर से प्रकाश की तीव्रता को रिकॉर्ड करें। अब उपकरण को मेज पर पंखा चलाकर उत्पन्न किये गए बहुत कम वायु वेग में रखें।

10) इसे 10 मिनट की पश्चता अवधि के लिए रखें और जलस्तर में प्रति मिनट होने वाली कमी को रिकॉर्ड करें।

11) इस प्रक्रिया को प्रत्येक स्थिति में पश्चता अवधि के साथ मध्यम वायु वेग और उच्च वायु वेग पर दोहराएं।

12) इनकी रीडिंग्स की तुलना करें और एक ग्राफ बनाएं।

13) आप एनीमोमीटर की सहायता से वायु वेग को माप सकते हैं।



चित्र 2.1 : पोटोमीटर की सहायता से वाष्पोत्सर्जन की दर का मापन।

2.5 प्रेक्षण

प्रेक्षण सारणी

क) वाष्पोत्सर्जन की दर पर प्रकाश की तीव्रता का प्रभाव

क्र.स	प्रकाश की तीव्रता	पिपैट का आरंभिक स्तर (mL)	पिपैट का अंतिम स्तर (mL)	अवशोषित जल की मात्रा (mL/मिनट)	वाष्पोत्सर्जन की दर
1.	लक्स	1) 2) 3)			
2.	लक्स	1) 2) 3)			
3.	लक्स	1) 2) 3)			

ख) वाष्पोत्सर्जन की दर पर वायु वेग का प्रभाव

क्र.स	प्रकाश की तीव्रता	पिपैट का आरंभिक स्तर (mL)	पिपैट का अंतिम स्तर (mL)	अवशोषित जल की मात्रा (mL/मिनट)	वाष्पोत्सर्जन की दर
1.	अल्प	1) 2) 3)			
2.	मध्यम	1) 2) 3)			
3.	उच्च	1) 2) 3)			

2.6 परिणाम

वाष्पोत्सर्जन की दर पोटोमीटर को उच्च तीव्रता के प्रकाश में रखने पर अधिकतम होती है लेकिन कम प्रकाश तीव्रता के क्षेत्र में ले जाने पर ये कम हो जाती है।

वाष्पोत्सर्जन की दर कम वायु वेग में कम होती है लेकिन मध्यम वायु वेग में यह बढ़ जाती है। उच्च वायु वेग होने पर वाष्पोत्सर्जन की दर पुनः कम हो जाती है।

2.7 सावधानियां

1) प्रयोग के लिए स्वस्थ टहनी का उपयोग करना चाहिए।

2) तने के पानी के अंदर रहने पर ही उसमें एक तिरछी काट लगानी चाहिए।

3) उपकरण वायुरोधी होना चाहिए।

4) पर्यावरणीय स्थितियों को बदलने से पहले नियत पश्चता अवधि अवश्य प्रदान की जानी चाहिए।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

प्रयोग 3

एक समोद्भिदी और मरूद्भिदी पादप में रंध्रांक और रंध्र-बहुलता का निर्धारण करना

रूपरेखा

3.1 प्रस्तावना

3.2 आवश्यक सामग्री

3.3 सिद्धान्त

3.4 कार्यविधि

3.5 प्रेक्षण

3.6 परिणाम

3.7 सावधानियां

3.1 प्रस्तावना

विभिन्न पर्यावासों में उगने वाले पौधों की पत्तियो में रंध्रों की संख्या, वितरण और व्यवहार परिवर्ती होते हैं। ये प्राचल वाष्पोंत्सर्जन की दर को प्रत्यक्ष रूप से प्रभावित करते हैं। रंध्र पौधों में कार्बन डाइऑक्साइड और ऑक्सीजन गैसों के विनिमय और जल की हानि में महत्वूपर्ण भूमिका निभाते हैं। रंध्र पत्ती की बाह्यत्वचीय परत में पाए जाते हैं। रंध्रीय छिद्र द्वार कोशिकाओं के एक जोड़े से घिरा रहता है जो उसके खुलने और बंद होने को नियंत्रित करता है। जब द्वार कोशिकाओं में स्फीति दाब बढ़ जाता है, तो रंध्र खुल जाते हैं और जब ये कम हो जाता है तो द्वार कोशिकाएं निपाती हो जाती हैं और रंध्र बंद हो जाते हैं। इस अभ्यास से आप एक समोद्भिदी और एक मरूद्भिदी पत्ती में रंध्रांक (stomatal index) और रंध्र-बहुलता (stomatal frequency) का निर्धारण करेंगे।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप :

- समोद्भिदी और मरूद्भिदी पादपों में रंध्रांक और रंध्र-बहुलता की तुलना कर सकेंगे और इसके पारिस्थितिकीय महत्व को समझ सकेंगे।

3.2 आवश्यक सामग्री

- एक समोद्भिदी पादप की पत्तियां : *विथैनिया सोम्नीफेरा* (*Withania somnifera*) अथवा कोई अन्य समोद्भिदी पादप।
- एक मरूद्भिदी पादप की पत्तियां : *ब्रायोफिल्लम* (*Bryophyllum*) या कोई अन्य मरूद्भिदी पादप।
- आसुत जल
- स्टेज माइक्रोमीटर/सूक्ष्ममापी (stage micrometer)
- चाक्षुष सूक्ष्ममापी/माइक्रोमीटर (ocular micrometer)
- पेट्री डिशें, स्लाइडें और कवर स्लिप
- संयुक्त सूक्ष्मदर्शी; रेजर ब्लेड, सोख्ता पत्र, ब्रुश और सुई।

3.3 सिद्धान्त

पत्ती की बाह्यत्वचीय सतह पर बड़ी संख्या में रंध्र होते हैं। आप रंध्रों को सूक्ष्मदर्शी में ही देख सकते हैं। रंध्रों की संख्या एक से दूसरी प्रजाति में भिन्न होती है और यह 1000 से 60,000 प्रति वर्ग सेन्टीमीटर के परास में होती है। आपको पत्ती की दोनों सतहों पर रंध्र दिख सकते हैं लेकिन अनेक प्रजातियों में ये या तो पत्ती की ऊपरी अथवा नीचे की सतह पर पाए जाते हैं। रंध्र गैसीय विनिमय (आदान-प्रदान) को नियंत्रित करने में महत्वूपर्ण भूमिका निभाते हैं। सामान्यतः ये प्रकाश में खुले और अंधकार में बंद रहते हैं। आप सूक्ष्ममिति (micrometry) से रंध्र-बहुलता का परिकलन कर सकते हैं।

रंध्रांक (%) $SI = \frac{S}{E+S} \times 100$

S = दृश्य क्षेत्र में रंध्रों की संख्या

E = उसी क्षेत्र में बाह्यत्वचीय कोशिकाओं की संख्या

रंध्र-बहुलता SF = प्रति इकाई क्षेत्रफल (प्रति वर्ग सेन्टीमीटर) में रंध्रों की संख्या

$$= \frac{\text{दिए गए सूक्ष्मदर्शीय क्षेत्र में रंध्रों की संख्या}}{\text{सूक्ष्मदर्शीय क्षेत्र का क्षेत्रफल}}$$

सूक्ष्मदर्शीय क्षेत्र का क्षेत्रफल = πr^2 [सूक्षमदर्शीय क्षेत्र की त्रिज्या]

सेलिसबरी ने निष्कर्ष निकाला कि रंध्र-बहुलता पर्यावरणीय स्थितियों, विशेषरूप से जल की उपलब्धता के साथ परिवर्ती होती है।

सूक्ष्ममिति तकनीक का उपयोग किसी सूक्ष्मदर्शीय पदार्थ के आयामों का निर्धारण करने के लिए किया जाता है। सूक्ष्ममापी/माइक्रोमीटर दो प्रकार के होते हैं – स्टेज और चाक्षुष सूक्ष्ममापी।

i) स्टेजमाइक्रोमीटर : ये एक कांच की स्लाइड के रूप में होता है जिसपर चिन्ह् अंकित होते हैं जो एक मिलीमीटर (mm) के 100 वें भाग तक का यथार्थता से मापन कर सकते हैं : अर्थात् 100 प्रभाग = 1 मिलीमीटर। स्टेज माइक्रोमीटर को सूक्ष्मदर्शी के स्टेज पर रख देते हैं और इसका उपयोग चाक्षुष सूक्ष्ममापी को अंशांकित करने और सूक्ष्मदर्शीय क्षेत्र के क्षेत्रफल का परिकलन करने के लिए भी किया जाता है।

ii) चाक्षुष सूक्ष्ममापी : ये एक गोल कांच की डिस्क के रूप में होता है जिसमें 100 समान दूरी लेकिन अज्ञात आयाम के प्रभाग होते हैं। इसे चाक्षुष और अभिदृश्यक लेन्स के बीच रखा जाता है। क्योंकि चाक्षुष सूक्ष्ममापी अंशांकित नहीं होता है, अतः स्टेज माइक्रोमीटर का प्रयोग करके अल्पतमांक (least count) का परिकलन किया जाता है।

3.4 कार्यविधि

1) *विथैनिया* (*Withania*) और *ब्रायोफिल्लम* (*Bryophyllum*) की पत्तियों की निचली सतह से कुछ बाह्यत्वचीय निशल्क निकालिए।

2) इनको तनु सेफ्रैनिन से अभिरंजित कीजिए; और ग्लिसरीन में आरोपित करके संयुक्त सूक्ष्मदर्शी के उच्च आवर्धन (6x, 30x) में देखिए।

3) पहले **अल्पतमांक** अर्थात् चाक्षुष सूक्ष्मदर्शी के प्रत्येक छोटे प्रभाग के आयाम का परिकलन स्टेज माइक्रोमीटर के प्रभागों से उनको संपातित (coincide) करके कीजिए।

4) सूक्ष्मदर्शीय क्षेत्र में रंध्रों की संख्या और बाह्यत्वचीय कोशिकाओं की संख्या की गिनती कीजिए।

5) तीन सुसंगत रीडिंग्स रिकॉर्ड कीजिए। 'रंध्रांक' और 'रंध्र बहुलता' का उपयुक्त सूत्रों के प्रयोग द्वारा परिकलन कीजिए।

3.5 प्रेक्षण

अपने प्रेक्षणों को निम्नलिखित सारणी में रिकॉर्ड कीजिए :

प्रेक्षण सारणी

अल्पतमांक = µm

पादप सामग्री	रंध्रो की संख्या (S)		बाह्यत्वचीय कोशिकाओं की संख्या (E)	रंध्रांक (SI) $\frac{S}{S+E}\times 100$	दृश्य क्षेत्र का क्षेत्रफल (A)	रंध्रांक S/A
	संख्या	औसत				
विथैनिया सोम्नीफेरा	A	a				
ब्रायोफिल्लम	B	b				
	C	c				

3.6 परिणाम

विथैनिया की पत्तियां *ब्रायोफिल्लम* की पत्तियों की तुलना में अधिक रंध्रांक और रंध्र बहुलता दर्शाती हैं। *ब्रायोफिल्लम* एक गूदेदार पौधा है, जिसमें वाष्पोत्सर्जन की दर को कम करने के लिए रंध्रों की संख्या कम होती है।

3.7 सावधानियां

1) निशल्कों को एक ही पत्ती से असमान दाब का प्रयोग करते हुए निकालना चाहिए।

2) दृश्य क्षेत्र के किनारों के समीप रंध्रों की संख्या की गिनती करने से बचें (सीमा प्रभाव)।

3) निशल्क एक कोशिका मोटाई के और हरे पर्णमध्योतक ऊतक से मुक्त होने चाहिए।

4) सूक्ष्मदर्शी का विभेदन पूरे परीक्षण के काल में एकसमान रहना चाहिए।

5) निशल्कों को तत्काल जल में रख देना चाहिए जिससे वायु के बुलबुले प्रवेश न कर पाएं।

प्रयोग 4

हिल अभिक्रिया को प्रदर्शित करना

रूपरेखा

4.1 प्रस्तावना

4.2 आवश्यक सामग्री

4.3 सिद्धान्त

4.4 कार्यविधि

4.5 प्रेक्षण

4.6 परिणाम

4.7 सावधानियां

4.1 प्रस्तावना

प्रकाश संश्लेषण की अभिक्रिया जीवित हरे पौधों के सबसे महत्वपूर्ण कार्यकलापों में से एक है। प्रकाश संश्लेषण द्वारा बने कार्बोहाइड्रेट मौलिक अपरिष्कृत सामग्री में योगदान देते हैं जो प्रत्यक्ष अथवा अप्रत्यक्ष रूप से वस्तुतः सभी पौधों और जंतुओ के समस्त कार्बनिक यौगिकों को उत्पन्न करते हैं। पौधों के प्रकाश संश्लेषण के लिए उपलब्ध कुल भूमंडलीय CO_2 लगभग 11.2×10^{14} टन है।

प्रकाश संश्लेषण में दो प्रावस्थाएं होती हैं : प्रकाश प्रावस्था और अप्रकाशिक प्रावस्था। प्रकाश प्रावस्था प्रकाश रासायनिक प्रावस्था होती है जिसे **'हिल अभिक्रिया'** कहते हैं। यह थाइलैकॉइड के अंदर विशेषरूप से ग्रेना के क्षेत्र में होती है।

अप्रकाशिक प्रावस्था जैवरासायनिक प्रावस्था है और स्ट्रोमा में होती है। इसे ब्लैकमेन अभिक्रिया कहते हैं। प्रकाश अभिक्रिया के समय जल का प्रकाश अपघटन हो जाता है (जल प्रकाश की उपस्थिति में विखंडित हो जाता है) और ऑक्सीजन तथा इलैक्ट्रोन निर्मुक्त होते हैं। ये इलैक्ट्रोन वाहकों की एक श्रेणी साइटोक्रोम, प्लास्टोक्वीनोन और फैरीडॉक्सिन से होकर गति करते हैं और अंततः $NADP^+$ को NADPH में अपघटित कर देते हैं।

रोबिन हिल और उनके सहयोगियों (1937) में सबसे पहले *स्टीलेरिया मीडिया* (*Stellaria media*) के वियुक्त क्लोरोप्लास्ट/हरितलवकों के प्रदीपित निलंबन द्वारा O_2 के निकास को प्रदर्शित किया था। ये CO_2 की अनुपस्थिति में कृत्रिम इलैक्ट्रोन ग्राहियों जैसे फैरीसायनाइड प्रदान करने से हुआ था। फैरीसायनाइड जल के प्रकाश अपघटन द्वारा फैरोसायनाइड में अपघटित हो जाता है।

वियुक्त क्लोरोप्लास्ट/हरितलवकों द्वारा रंजक का प्रकाश अपघटन सामान्यतः **हिल अभिक्रिया** कहलाता है।

$$2A + 2H_2O \xrightarrow[\text{क्लोरोप्लास्ट}]{\text{प्रकाश}} 2AH_2 + O_2$$

A एक हाइड्रोजन ग्राही है, और इसे **हिल ऑक्सीकारक** भी कहते हैं।

4.2 आवश्यक सामग्री

कांच के पात्र : परखनली, कीप, बीकर (25 ml), मापन सिलिन्डर (25 ml), पिपैट (5 ml), पिपैट (1 ml), अपकेन्द्रण नलियां।

पादप सामग्री : पालक की ताजी पत्तियां

रसायन : 0.5 M सुक्रोस विलयन

0.1 M Na_2HPO_4

0.01 M DCPIP (2, 6-डाइक्लोरोफीनोल इन्डोफीनोल)

आसुत जल

विविध/अन्य : ब्लैन्डर

बर्फ के टुकड़े और बर्फ रखने की बाल्टी

मलमल का कपड़ा

परखनली स्टैन्ड

काला कागज़

स्पैक्ट्रोफोटोमीटर

सेन्ट्रीफ्यूज/अपकेन्द्रित्र और टेबल लैम्प

4.3 सिद्धान्त

हिल अभिक्रिया में प्रदर्शित किया जाता है कि कृत्रिम इलैक्ट्रोन ग्राही प्राकृतिक रूप से पाए जाने वाले ग्राहियों को प्रतिस्थापित कर सकते हैं। इस अभ्यास में आप रंजक 2, 6-डाइक्लोरोफीनोल इंडोफीनोल (DCPIP) के प्रकाश अपघटन को देखेंगे जो ऑक्सीकृत अवस्था में (क्वीवोन रूप) नीला लेकिन अपघटित हो जाने पर (फीनोल रूप) रंगहीन यौगिक बन जाता है।

$$DCPIP(\text{नीला}) + H_2 \xrightarrow[\text{क्लोरोप्लास्ट}]{\text{प्रकाश}} DCPIP - H2(\text{रंगहीन}) + 1/2O_2$$

इस प्रयोग को करने के बाद आपः

- पत्तियों से क्लोरोप्लास्ट को वियुक्त कर पाऐंगे
- क्लोरोप्लास्ट के प्रदीपित निलंबन द्वारा रंजक (हिल ऑक्सीकारक) के प्रकाश अपघटन को दिखा सकेंगे।

4.4 कार्यविधि

i) **अभिरंजक को बनाना** : 10 mg रंजक को 100 mL आसुत जल में घोलकर 0.01 M DCPIP बना लें।

ii) बफर को बनाना : 68.5 mL, 0.2 M NaH_2PO_4 [सोडियम डाइहाइड्रोजन ऑर्थोफोस्फेट) और 31.5 mL, 0.2 M Na_2HPO_4 (डाइ सोडियम हाइड्रोजन फोस्फेट) को मिश्रित करके 6.5 pH का 0.2 M बफर (फॉस्फेट) बनाइए।

iii) क्लोरोप्लास्ट/हरितलवकों को वियुक्त करना

क) समांगीकरण (Homogenisation)

1) कांच के पात्रों और अभिकर्मकों को पूर्व-शीतित कर लें।

2) 50 g पालक की पत्तियां (अंधकार में प्रशीतित) लीजिए और उनके पर्णवृंत और मध्यशिरा को अलग करिए और इसमें 100 ml ठंडा 0.5ml सुक्रोस विलयन मिलाइए और

3) सामग्री को कांच के ब्लेन्डर में सबसे तेज़ गति पर लगभग 15 सैकिन्ड तक पीसिए और फिर कुछ मिनट के लिए रोकिए।

4) फिर पुनः कम गति से 10 सैकिन्ड तक पीसिए।

ख) निस्यंदन (Filteration)

समांग (homogenate) को मलमल के कपड़े से एक बीकर में पूर्व-शीतित कीप से छानिए।

ग) अपकेन्द्रीकरण (centrifugation)

1) अब निस्यंद (filterate) को दो पूर्व-शीतित अपकेन्द्रण नलियों में समान मात्रा में डाल लीजिए और धीमी गति पर (500×g) 3 मिनट तक अपकेन्द्रित कीजिए।

2) अधिप्लावी (supernatant) विलयन को एक अन्य परखनली में लें और पुनः उच्च गति 2000×g पर लगभग 7 मिनट तक अपकेन्द्रित कीजिए।

3) पत्रक (pellet) को परखनली में निकाल लें और अधिप्लाव विलयन को फेंक दीजिए।

4) पत्रक को पुनः 0.5 M सुक्रोस के ठंडे विलयन में निलंबित कीजिए। इसे एक बर्फ से भरी बाल्टी में अंधकार में रखिए।

हिल अभिक्रिया का प्रदर्शन

तीन परखनलियां लीजिए और उनमें निम्नलिखित सामग्रियों को डालिए :

परखनली I : 1 mL क्लोरोप्लास्ट/हरितलवक निलंबन + 2 mL फॉस्फेट बफर + 2 mL आसुत जल + 1 mL DCPIP

परखनली II : 1 mL क्लोरोप्लास्ट + 1 mL फॉस्फेट बफर + 2 mL आसुत जल + 1 mL DCPIP

परखनली III : 1 mL फॉस्फेट बफर + 1 mL आसुत जल + 0.5 ml DCPIP (कंट्रोल)।

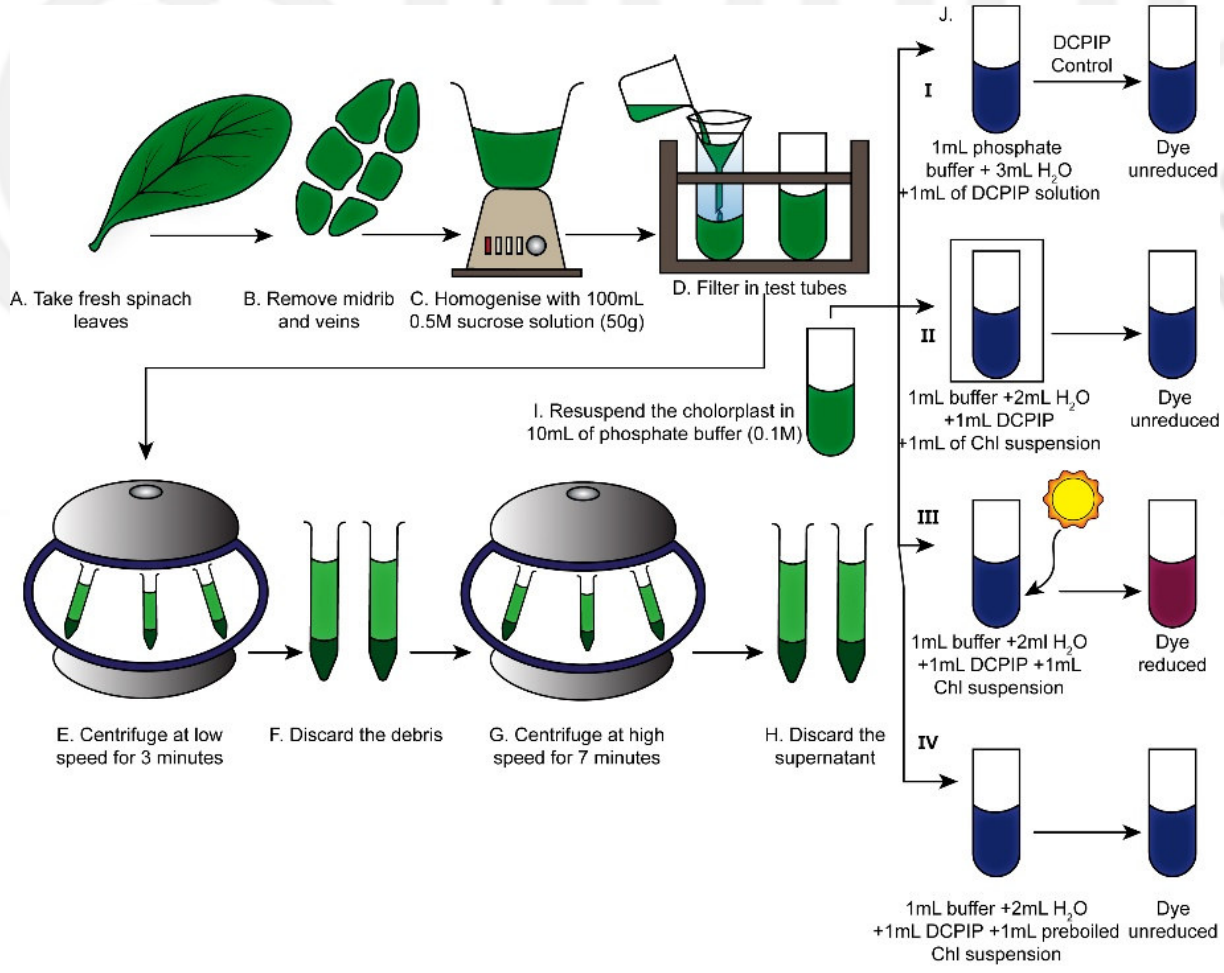
1) परखनली I को प्रकाश की स्थिति में रखिए।

2) परखनली II को प्रकाश की कमी की स्थिति में रखिए। इसके लिए उसे काले कागज या एल्यूमीनियम फॉइल से लपेट दीजिए।

3) परखनली III को कंट्रोल परखनली के रूप में रखिए।

4) परखनलियों को कुछ समय तक ऐसे ही बिना छेड़े रखा रहने दीजिए।

5) प्रकाशिक घनत्व और स्पैक्ट्रोफोटोमीटर द्वारा % संचरण की रीडिंग लीजिए।



चित्र 4.1 : हिल अभिक्रिया की प्रक्रिया का चित्रमय प्रदर्शन।

4.5 प्रेक्षण

परखनली	स्पैक्ट्रोफोटोमीटर की रीडिंग		
I	0 मिनट OD/T	5 मिनट OD/T	10 मिनट OD/T
II	-	-	-
III	-	-	-

समय (X-अक्ष) और प्रकाशिक घनत्व -OD (Y-अक्ष) का ग्राफ बनाइए।

4.6 प्रेक्षण

परखनली 1 में अभिरंजक की अधिकतम कमी आती है जबकि II और III में बहुत कम या बिल्कुल भी कमी नहीं होती है।

4.7 सावधानियां

1) समांगीकरण ध्यानपूर्वक करना चाहिए जिससे पर्णहरित का यांत्रिक विकृतीकरण न हो पाए।

2) सभी उपकरण और अभिकर्मक पूर्व शीतित होने चाहिए।

3) सिर्फ ताजी पत्तियों का उपयोग करना चाहिए।

4) सभी अंर्तवस्तुएं ताजी बनी होनी चाहिए।

5) पालक की ताजी पत्तियों को हिमशीतित करके उनके पर्णवृंत और मध्यशिराएं निकाल देने चाहिए।

प्रयोग 5

कैटलेस की क्रिया का प्रदर्शन करना और pH तथा एन्जाइम सांद्रता के प्रभाव का अध्ययन करना

रूपरेखा

5.1 प्रस्तावना

5.2 आवश्यक सामग्री

5.3 सिद्धान्त

5.4 कार्यविधि

5.5 प्रेक्षण

5.6 परिणाम

5.7 सावधानियां

5.1 प्रस्तावना

सभी सजीव कोशिकाएं विविध प्रकार की जैवरासायनिक अभिक्रियाएं करती हैं, फिर भी वो बहुत बड़े और जटिल अणुओं को तेजी से निर्मित कर सकती हैं अथवा जटिल उपापचयी पथों से पूर्ण यथार्थ और सटीक रूप से सामग्रियों के प्रवाह को नियंत्रित करने में सक्षम होती हैं। एन्जाइम बगैर त्रुटि के ऐसा करना संभव बनाते हैं। एन्जाइम जैविक उत्प्रेरक हैं जो क्रियाधार अणुओं का उत्पादों में रूपांतरण संभव बनाते हैं, लेकिन ये स्वयं अभिक्रिया द्वारा स्थायी रूप से परिवर्तित नहीं होते हैं। कोशिकाओं में हजारों एन्जाइम होते हैं, जिनमें से प्रत्येक किसी अभिक्रिया विशेष को उत्प्रेरित करता है अथवा किसी अभिक्रिया के लिए विशिष्ट होता है।

एन्जाइमों की सबसे महत्वपूर्ण विशेषता उनकी उत्प्रेरकी क्षमता और विशिष्टता है। उत्प्रेरकी क्रिया एन्जाइम पर एक स्थान विशेष पर होती है जिसे **सक्रिय स्थान** (active site) कहते हैं। एन्जाइम अभिक्रिया की साम्य स्थिति को प्रभावित किए बगैर उसे लाखों गुना त्वरित कर देते हैं।

इस प्रयोग में, आप कैटलेस की क्रिया पर दो प्राचलों pH और एन्जाइम सांद्रता के प्रभाव का अध्ययन करेंगे।

5.2 आवश्यक सामग्री

- आलू (*सोलेनम ट्यूबरोसम; Solanum tuberosum*) के कंद
- 3% H_2O_2, मानक बफर विलयन (1.0, 4.0, 7.0, 9.0 और 12.0 pH का), आसुत जल।
- Y- आकार का उपकरण; ब्यूरेट (2), बीकर, मापन सिलिन्डर।
- क्लैम्प स्टैन्ड (2)।

5.3 सिद्धान्त

प्रकाश संश्लेषण से प्रकाश अभिक्रिया के समय जल का प्रोटोन और हाइड्रोक्सिल आयनों में विखंडन (प्रकाश अपघटन) हो जाता है।

$$H_2O \longrightarrow H^+ + OH^-$$

H^+ का उपयोग NADPH बनाने में किया जाता हैं जिसका उपयोग केल्विन चक्र में होता है। OH^- अभिक्रिया करके हाइड्रोजन परऑक्साइड बनाता है ($OH^- + OH^- + 2e^- \longrightarrow H_2O_2$) जो अत्यधिक विषाक्त होता है और कलाओं का निम्नीकरण कर सकता है या मुक्त रेडीकल/मूलक बनाता है। कैटलेस एन्जाइम H_2O_2 को जल और ऑक्सीजन में विखंडित करके उसे निकाल देता या उसको हटा देता है।

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\textit{कैटलेस}} 2H_2O + O_2$$

कैटलेस प्रकाशसंश्लेषी कोशिकाओं के लिए एक प्रमुख एन्जाइम है (इसे हरी पत्तियों और आलू के कंदों से भी प्राप्त किया जा सकता है)।

5.4 कार्यविधि और प्रेक्षण

1) *कैटलेस* एन्जाइम की क्रिया

- कैटलेस एन्जाइम की क्रिया का परीक्षण करने के लिए आपको 5ml कैटलेस एन्जाइम निष्कर्ष और 2 ml 3% H_2O_2 को एक परखनली में लेना होगा।
- दूसरी बार में उबले आलूओं के निष्कर्ष को लेना चाहिए।
- अभिक्रिया का निम्न तरीके से प्रेक्षण लें :

प्रेक्षण सारणी

क्र. स.	एन्जाइम की प्रकृति	प्रेक्षण		निष्कर्ष
		आरंभिक	अंतिम	
1)	सक्रिय	कोई झाग नहीं	झाग बनता हैं	झाग बनता है क्योंकि O_2 गैस निकलती है।

2)	विकृतीकृत (उबले आलू का निष्कर्ष)	कोई झाग नही	कोई झाग नहीं	कोई झाग नहीं क्योंकि O_2 गैस नहीं निकलती है। एन्जाइम मर जाता है।
3)	कंट्रोल (उबले आलू का निष्कर्ष)	कोई झाग नही	कोई झाग नहीं	कोई झाग नहीं क्योंकि अभिक्रिया मिश्रण में एन्जाइम नहीं होता है।

2) एन्जाइम क्रिया पर pH का प्रभाव

i) आप चित्र में दिखाए गए अनुसार एक प्रयोग सेट अप कर लें और ब्यूरेटों को जल से भर दें।

ii) फिर लगभग 5g आलू के कंद तौल कर लें और उन्हें खरल में रखकर 1-2 mL पानी मिलाएं और मूसल से कुचलें।

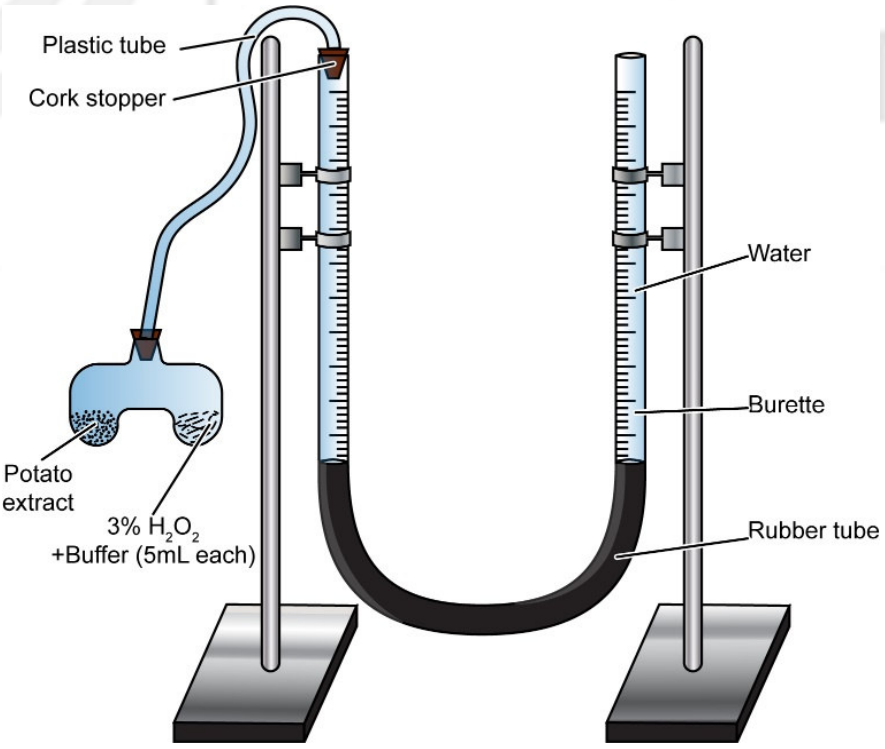
iii) आलू के निष्कर्ष को Y-आकार के उपकरण के एक भाग में रख दें।

iv) दूसरी तरफ, 5 ml 3% H_2O_2 मिलाएं और 5 mL बफर मिलाएं जिसका pH 1 हो। उपकरण को ब्यूरेट से जोड़ दें।

v) ब्यूरेट में बाईं ओर जल के आरंभिक स्तर को नोट कर लें।

vi) अब आपकों उपकरण के दोनों ओर की अंर्तवस्तुओं को मिलाना है और उसे लगभग 5 मिनट के लिए ऐसे ही रखा रहने दें। अब आप ब्यूरेट में जल के अंतिम स्तर को रिकॉर्ड कर लें। आप इसी प्रक्रिया को अन्य pH परासों यानी 4.0, 7.0, 9.0 और 12.0 के साथ भी दोहराइए।

vii) अब pH (X-अक्ष) और ब्यूरेट में प्रतिस्थापित जल की मात्रा (Y-अक्ष) का एक ग्राफ बनाइए।



चित्र 5.1 : Y-आकार के उपकरण द्वारा *कैटलेस* क्रिया का आकलन।

प्रेक्षण सारणी

क) pH का प्रभाव

क्र.स.	बफर विलयन (5 mL) का pH	क्रियाधार (5 mL)	एन्जाइम निष्कर्ष (5 g)	ब्यूरेट रीडिंग		प्रतिस्थापित जल की मात्रा (mL)
				आरंभिक (mL)	अंतिम (mL)	
1)	1.0	3% H_2O_2	आलू का कंद			
2)	4.0	3% H_2O_2	आलू का कंद			
3)	7.0	3% H_2O_2	आलू का कंद			
4)	9.0	3% H_2O_2	आलू का कंद			
5)	12.0	3% H_2O_2	आलू का कंद			

ख) एन्जाइम सांद्रता का प्रभाव

ऊपर वाले प्रयोग के समान अपरिष्कृत एन्जाइम निष्कर्ष बनाइए। उससे वैसे ही एन्जाइम निष्कर्ष बनाइए।एन्जाइम और pH 7.0 के बफर की यथार्थ मात्राओं को पिपेट से निकालकर स्टॉक विलयन को 4%, 3% और 1% तक तनुकृत कीजिए।

क्र.स.	क्रियाधार (5 ml)	एन्जाइम निष्कर्ष	बफर pH 7.0 का	ब्यूरेट रीडिंग		प्रतिस्थापित जल की मात्रा (mL)
				आरंभिक (mL)	अंतिम (mL)	
1)	3% H_2O_2	1 mL	4 mL			
2)	3% H_2O_2	2 mL	3 mL			
3)	3% H_2O_2	3 mL	2 mL			
4)	3% H_2O_2	4 mL	1 mL			
5)	3% H_2O_2	5 mL	O mL			

5.5 परिणाम

ब्यूरेट में प्रतिस्थापित जल की मात्रा निकलने वाली O_2 की मात्रा को इंगित करती है जो *कैटलेस* क्रिया पर निर्भर करती है। प्रत्येक pH पर प्राप्त होने वाले अपने परिणामों की चर्चा कीजिए और पता लगाइए कि कितना जल प्रतिस्थापित हुआ है। pH (X-अक्ष) और प्रतिस्थापित जल की मात्रा (Y-अक्ष) का ग्राफ बनाकर प्रदर्शित कीजिए कि किस pH पर अधिकतम क्रिया रिकॉर्ड की गई थी।

इसीप्रकार एन्जाइम की सांद्रता (X-अक्ष) और प्रतिस्थापित जल की मात्रा (Y-अक्ष) का एक ग्राफ बनाइए जिससे कैटलेस क्रिया के पैटर्न पर उसकी सांद्रता के प्रभाव को रिकॉर्ड किया जा सके। अभिक्रिया की दर एन्जाइम सांद्रता में वृद्धि के साथ बढ़ जाती है। लेकिन, एक नियत स्तर के बाद अभिक्रिया की दर स्थिर हो जाती है क्योंकि सक्रिय स्थानों के लिए क्रियाधार उपलब्ध नहीं होता है।

5.6 सावधानियां

1) बफर विलयन और एन्जाइम निष्कर्ष परीक्षण के समय ताजे बनाने चाहिए।

2) अभिक्रिया का समय सभी रीडिंग्स के लिए नियत होना चाहिए।

3) Y- आकार के उपकरण में अंतर्वस्तुओं को मिलाने से पहले जल के आरंभिक स्तर को अवश्य रिकॉर्ड कर लेना चाहिए।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

प्रयोग 6

प्रकाश संश्लेषण में O_2 के निष्कासन पर प्रकाश की तीव्रता और बाइकार्बोनेट सांद्रता के प्रभाव का अध्ययन करना

रूपरेखा

6.1 प्रस्तावना
6.2 आवश्यक सामग्री
6.3 सिद्धान्त
6.4 कार्यविधि
6.5 प्रेक्षण
6.6 परिणाम
6.7 सावधानियां

6.1 प्रस्तावना

प्रकाश संश्लेषण एक उपचय (anabolic) ऊर्जाशोषी (endergonic) उपचय-अपचय प्रक्रिया है और इसे CO_2 और H_2O से प्रदीपित हरी (पर्णहरित युक्त) कोशिकाओं द्वारा कार्बोहाइड्रेटों के बनने के रूप में परिभाषित किया जा सकता है जिसमें O_2 और H_2O सहउत्पाद होते हैं।

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow[\text{पर्णहरित}]{\text{प्रकाश}} \underset{\text{कार्बोहाइड्रेट}}{C_2H_{12}O_6} + 6O_2 + 6H_2O$$

प्रकाश संश्लेषण की अभिक्रिया को प्रभावित करने वाले विभिन्न बाह्य कारक – प्रकाश, CO_2, O_2, तापमान और उपलब्ध जल की मात्रा हैं। क्योंकि प्रकाश संश्लेषण अनेक कारकों द्वारा प्रभावित होता है जो परस्परक्रिया करते हैं, यह **सीमाकारी कारकों के नियम** (ब्लैकमेन) (Law of limiting factors; Blackmann) द्वारा भी नियंत्रित होता है।

साक्स (1880) द्वारा प्रस्तुत किए गए तीन प्रधान बिंदुओं की संकल्पना के अनुसार, प्रकाश संश्लेषण के संबन्ध में प्रत्येक कारक के लिए न्यूनतम, इष्टतम और अधिकतम होते हैं। उदाहरण के लिए, किसी भी प्रजाति के लिए एक न्यूनतम तापमान होता है जिससे कम पर कोई प्रकाश संश्लेषण नहीं होता है, एक इष्टतम तापमान होता है

जिसपर अधिकतम प्रकाश संश्लेषण होता है, और एक अधिकतम तापमान होता है जिससे अधिक पर प्रकाश संश्लेषण बंद हो जाता है।

6.2 आवश्यक सामग्री

पादप सामग्री : *हाइड्रिला वर्टीसिलेटा* (*Hydrilla verticillata*); कुल – हाइड्रोकैरीटेसी।

रसायन : तालाब का फिल्टर किया हुआ पानी, सोडियम बाइकार्बोनेट।

कांच के उपकरण : मापन सिलिन्डर (100 ml), कांच की छड़, बीकर, पिपैट, एक बड़ी पेट्री डिश।

अन्य / विविध : मीटर रॉड, ब्लेड, धागा, स्टॉप वाच; टैली काउन्टर, लक्स मीटर, टेबिल लैम्प, इलैक्ट्रिक बैलेन्स (विद्युत चालित तुला), ग्राफ पत्र।

6.3 सिद्धान्त

प्रकाश का प्रभाव : प्रकाश अपनी तीव्रता, गुणवत्ता और समयावधि से प्रकाश संश्लेषण को प्रभावित करता है। प्रकाश संश्लेषण की दर और प्रकाश की तीव्रता के बीच प्रत्यक्ष संबन्ध अपेक्षाकृत कम प्रकाश तीव्रताओं पर दिखाई देता है। जब प्रकाश की तीव्रता एक नियत स्तर से अधिक बढ़ जाती है, तो प्रकाशसंश्लेषी दर में कुछ अन्य सीमाकारी कारक अथवा उच्च प्रकाश तीव्रता के विनाशकारी प्रभाव (प्रकाश–ऑक्सीकरण) के कारण कमी आ जाती है। साथ ही, संतृप्तता का बिंदु प्राप्त हो जाता है जिसके बाद प्रकाश संश्लेषण की दर स्थिर रहती है।

CO_2 की सांद्रता का प्रभाव : वायु में CO_2 की मात्रा यद्यपि कम है लेकिन अपेक्षाकृत स्थिर रहती है। ये पादप जगत को कार्बन डाइऑक्साइड की निरंतर और पर्याप्त आपूर्ति प्रदान करती है। CO_2 की सांद्रता के निम्न स्तरों पर CO_2 की सांद्रता में वृद्धि के साथ प्रकाश संश्लेषण की दर में वृद्धि होती है। उच्च सांद्रताओं पर दर में कमी देखी जाती हैं; क्योंकि ये संभवतः श्वसन को संदमित कर देती है और कोशिका क्षति भी करती है।

प्रकाश संश्लेषण के मापन के लिए बुद्बुद् गणन विधि (bubble counting method) का उपयोग किया जाता है जिसमें निमज्जित जलीय पौधे द्वारा बुलबुलों के निकलने की दर को दृष्य प्रकाश संश्लेषण की दर के समानुपाती माना जाता है।

6.4 कार्यविधि

1) *हाइड्रिला* (*Hydrilla*) की एक स्वस्थ या सक्रिय रूप से वृद्धि करने वाली टहनी को जल के अंदर ही काटिए, जिसकी लंबाई लगभग 15 cm (शीर्ष को अक्षुण्ण रखते हुए) हो। तने को तिरछा काटना चाहिए।

2) इसे एक मापन बेलन में रखिए जिसमें 100 mL फिल्टर किया हुआ तालाब का पानी हो।

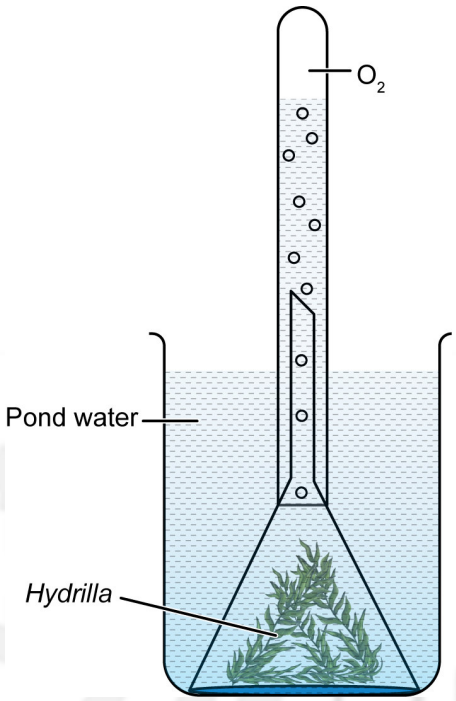
3) एक कांच की छड़ की सहायता से टहनी को ढ़ीला बांध दीजिए जिससे पानी में रखने पर ये जल में डूबी रहे। टहनी के कटे सिरे को ऊपर की ओर अभिमुख होना चाहिए जबकि अक्षुण्ण प्ररोह शीर्ष नीचे की ओर रहना चाहिए।

4) जब टहनी से बुलबुले निरंतर निकलने लगें, तो एक मिनट के अंतराल पर, टेली काउन्टर का प्रयोग करके कटे सिरे से बुलबुलों के निकलने की संख्या की गणना कीजिए। गणना को कम से कम तीन बार दोहराइए।

क) प्रकाश की तीव्रता का प्रभाव

बुलबुलों की गणना को प्रकाश की भिन्न तीव्रताओं में दोहराइए, ऐसा प्रकाश के स्रोत और पादप सामग्री के बीच की दूरी को परिवर्तित करके किया जाता है।

गणना शुरू करने से पहले प्रकाश की प्रत्येक तीव्रता में पादप को 5 मिनट के लिए रखा रहने दें। लक्स मीटर से प्रकाश की तीव्रता को रिकॉर्ड कीजिए।



चित्र 6.1 : प्रकाश संश्लेषण पर प्रकाश और CO_2 के प्रभाव का अध्ययन करने के लिए प्रयोग का सेट-अप।

6.5 प्रेक्षण

प्रेक्षण सारणी

1. मापन बेलन = 100 mL, तालाब का पानी + 0.1g $NaHCO_3$

क्र. सं	पर्यावरणीय कारक	प्रकाश की तीव्रता (लक्स)	प्रति मिनट निकलने वाले ऑक्सीजन के बुलबुले	औसत
1.	सूर्य का विसरित प्रकाश		i) ii) iii)	
2.	सूर्य का विसरित प्रकाश + 1 लैम्प		i) ii) iii)	

3.	सूर्य का चटक प्रकाश + 2 लैम्प		i) ii) iii)	

ग्राफ : एक ग्राफ पत्र पर अपने द्वारा रिकॉर्ड किए गए प्रेक्षणों (प्रकाश की तीव्रता -X अक्ष) और (प्रति मिनट निकलने वाले बुलबुलों की संख्या - Y-अक्ष) का ग्राफ बनाइए।

ख) CO_2 की सांद्रता का प्रभाव

$NaHCO_3 \rightleftharpoons Na^+ + HCO_3^-$

$H_2O \rightarrow H^+ + OH^-$

$Na^+ + OH^- \rightarrow NaOH$

$H^+ + HCO_3^- \rightarrow \underset{\text{कार्बोनिक अम्ल}}{H_2CO_3} \longrightarrow \underset{\text{दोनों प्रकाश संश्लेषण में अभिकारक की भांति कार्य करते हैं}}{H_2O + CO_2}$

इस परीक्षण के लिए सेटअप 6.4 a में बताए गए अनुसार के समान ही है। $NaHCO_3$ की विभिन्न सांद्रताओं (CO_2 का स्रोत) के प्रकाश संश्लेषण पर प्रभाव का अध्ययन स्थिर/नियत प्रकाश तीव्रता पर किया जाता है।

0.01 g $NaHCO_3$ को 100 mL तालाब के फिल्टर किए पानी में घोलिए। 5 मिनट प्रतीक्षा कीजिए और *हाइड्रिला* की टहनी के कटे सिरे से प्रति मिनट निकलने वाले ऑक्सीजन के बुलबुलों की संख्या रिकॉर्ड कीजिए (3 सुसंगत रीडिंग्स)।

विलयन B बनाने के लिए 5 mL विलयन A लीजिए और उसमें 0.09 g $NaHCO_3$ घोलिए और फिर विलयन को वापस A में डाल दीजिए। 5 मिनट प्रतीक्षा कीजिए और *हाइड्रिला* की टहनी से प्रति मिनट निकलने वाले ऑक्सीजन के बुलबुलों की संख्या नोट कीजिए (3 संगत रीडिंग)। प्रेक्षणों को नोट कीजिए। इसीप्रकार विलयन C बनाने के लिए 5 mL विलयन B लीजिए, उसमें 0.9 g, $NaHCO_3$ को घोलिए और विलयन को वापस B में मिला दीजिए। A और B विलयनों के समान प्रेक्षणों को रिकॉर्ड कीजिए। सोडियम बाइ कार्बोनेट पाउडर को फलास्क में सीधे नहीं डाला जाता है क्योंकि ये समान रूप से नहीं वितरित होता है।

विलयन A : 0.01% - 0.01g प्रति 100 mL तालाब के पानी में घुली हुई।

विलयन B : 0.1% - 0.09 g+ विलयन A (0.1 g/100 mL)।

विलयन C : 1% - 0.9 g + विलयन B (1 g/100 ml) ।

स्थिर/नियत पर्यावरणीय कारक = विसरित प्रकाश +1 लैम्प (12" की दूरी पर)

क्र. सं.	$NaHCO_3$ की सांद्रता	प्रति मिनट निकलने वाले O_2 के बुलबुले	औसत
1.	0.01%	i) ii) iii)	

2.	0.1%	i) ii) iii)	
3.	1%	i) ii) iii)	

ग्राफ : अपने द्वारा रिकॉर्ड किए गए प्रेक्षणों का ग्राफ पत्र पर ग्राफ बनाइए $NaHCO_3$ सांद्रता (X- अक्ष) और प्रति मिनट निकलने वाले बुलबुलों की संख्या (Y-अक्ष)।

6.6 परिणाम

प्रकाश की तीव्रता में वृद्धि के साथ, प्रकाश संश्लेषण की दर में तब तक वृद्धि होती रहती है जब तक कोई अन्य कारक (CO_2 या तापमान) सीमाकारी नहीं हो जाते हैं। अत्यधिक उच्च प्रकाश की तीव्रता से प्रकाश संश्लेषी दर में कमी आ जाती है।

CO_2 की सांद्रता में वृद्धि के साथ, प्रकाश संश्लेषण की दर में तब तक वृद्धि होती है जब तक कोई अन्य कारक (प्रकाश/तापमान) सीमाकारी नहीं हो जाता है। साथ ही, CO_2 की उच्चतर सांद्रताएं पादप के लिए विषाक्त होती हैं।

6.7 सावधानियां

1) *हाइड्रिला* की टहनी स्वस्थ, गहरे हरे रंग की, क्षति–मुक्त और अक्षुण्ण प्ररोह शीर्ष वाली होनी चाहिए।

2) टहनी को जल के अंदर तिरछी काट से काटना चाहिए।

3) टहनी को सिलिन्डर की पार्श्व भित्तियों का स्पर्श नहीं करना चाहिए और इसे कांच की छड़ द्वारा सहारा दिया जा सकता है।

4) पूरे परीक्षण में एक ही टहनी का प्रयोग किया जाना चाहिए।

5) टहनी को प्रकाश की प्रत्येक तीव्रता में 3–5 मिनट के लिए रखने के बाद ही बुलबुलों के निकलने की गिनती करनी चाहिए।

6) टहनी को बुलबुलों की गिनती आरंभ करने से पहले 3–5 मिनट तक $NaHCO_3$ की प्रत्येक सांद्रता में रखा जाना चाहिए।

7) तालाब के फिल्टर किए हुए पानी में $NaHCO_3$ की पर्याप्त मात्रा (लगभग 0.1 g/100 ml) मिलानी चाहिए जिससे CO_2 सीमाकरी कारक न बनें। $NaHCO_3$ की विभिन्न सांद्रताओं को सिलिंडर के विलयन में सीधे ही नहीं मिला देना चाहिए, बल्कि उसे पहले पिपेट के प्रयोग द्वारा सिलिन्डर से निकाले गए 5 ml विलयन में घोलकर फिर वापस मिलाना चाहिए।

प्रयोग 7

पादप के किन्हीं दो भागों में श्वसन की दर की तुलना करना

अभ्यास की रूपरेखा

7.1 प्रस्तावना

7.2 आवश्यक सामग्री

7.3 सिद्धान्त

7.4 कार्यविधि

7.5 प्रेक्षण

7.6 परिणाम

7.7 सावधानियां

7.1 प्रस्तावना

हम सभी जानते हैं कि प्रकाश संश्लेषण के समय प्रकाश ऊर्जा रासायनिक ऊर्जा में परिवर्तित हो जाती है जो ग्लूकोस और स्टार्च के रूप में कार्बोहाइड्रेट अणुओं में भंडारित रहती है। जीवित जीव इस ऊर्जा का उपयोग इन अणुओं को सरल अणुओं अर्थात् कार्बन डाइऑक्साइड और जल में ऑक्सीकृत करके करते हैं। यह अभिक्रिया श्वसन कहलाती है। आप श्वसन को एक ऐसी प्रक्रिया के रूप में परिभाषित कर सकते हैं जिसके द्वारा जीवित कोशिकाएं उच्च ऊर्जा के जटिल अणुओं को कम ऊर्जा के सरल अणुओं, CO_2 और H_2O में विघटित कर देती हैं, और रासायनिक बंधों में पाशित ऊर्जा को निर्मुक्त कर देती हैं। यह ऊर्जा एक मध्यवर्ती यौगिक, जिसे एडीनोसिन ट्राइफॉस्फेट (ATP) कहते हैं, के द्वारा विभिन्न कार्यकलापों के लिए उपलब्ध होती है।

7.2 आवश्यक सामग्री

- *एजीरेटम कोनीजॉइडेस* (*ageratum conizoides*) का पूर्ण पादप
- लवण जल (NaCl का संतृप्त विलयन); KOH पत्रक
- बुकनर फ्लास्क (दो सेट), मापन सिलिन्डर (1000 ml), बीकर (250 ml), ज्वलन नलियां (ignition tubes)
- खरल और मूसल, विद्युत तुला, क्लैम्प स्टैन्ड और काला कागज।

7.3 सिद्धान्त

आप जानते हैं कि कोशिकीय श्वसन की अभिक्रियाएं स्वतंत्र पथों की एक श्रेणी से गुजरती हैं, जिनके द्वारा कार्बोहाइड्रेट और कुछ अन्य अणु प्रकाशसंश्लेषी उत्पादों में भंडारित ऊर्जा को प्राप्त करने के लिए ऑक्सीकृत हो जाते हैं। श्वसन में होने वाली अभिक्रिया को निम्न प्रकार से सार रूप में प्रस्तुत किया जा सकता है :

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{ऊर्जा}$$

श्वसन की दर जीवद्रव्य की मात्रा और उसकी क्रिया की अवस्था पर निर्भर करती है। नई कोशिकाओं में सक्रिय वर्धन क्षेत्रों के कारण सर्वाधिक जीवद्रव्यी क्रिया होती है, जबकि बीजाणुओं और शुष्क बीजों या सूख रही पत्तियों में श्वसन की दर कम होती है। पर्यावरणीय स्थितियां भी श्वसन दर को प्रभावित करती हैं।

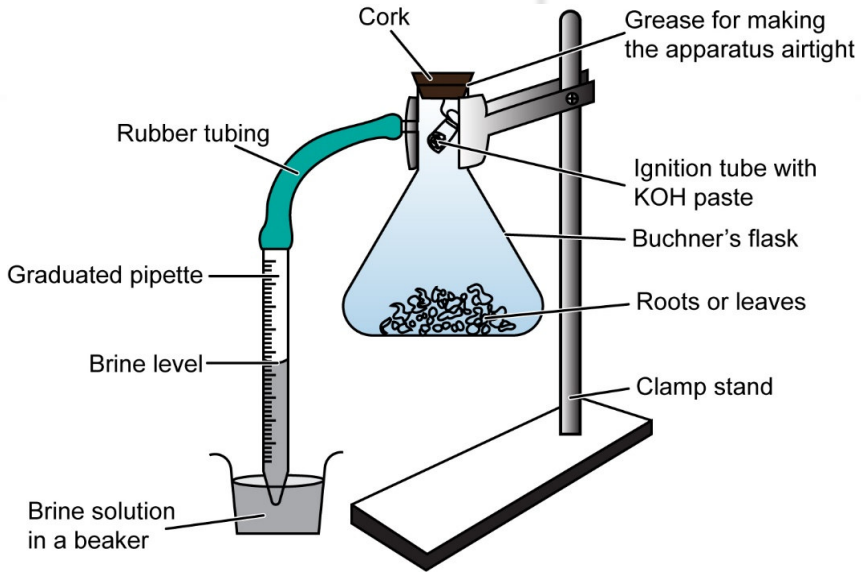
7.4 कार्यविधि

1) पहले एक ही पौधे के दो अंगों : पत्ती और जड़ों की समान मात्रा (770 g) को तोल लें।

2) अब दो सेटअप तैयार करें जिनमें रबड़ कॉर्क युक्त बुकनर फ्लास्क, एक ज्वलन नली जिसमें KOH पत्रकों का गाढ़ा पेस्ट और लवण विलयन युक्त एक बीकर हों, जैसा कि चित्र 7.1 में दिखाया गया है।

3) जड़ों और पत्तियों को पृथक बुकनर फ्लास्कों में रखिए। अब हरी पत्तियों वाले फ्लास्क को लीजिए और उपकरण को वायु रोधी बना लीजिए, जबकि पार्श्व नली को लवण विलयन युक्त मापन सिलिन्डर में डुबों लीजिए। अब फ्लास्क को काले कागज से आवरित कर दें जिससे प्रकाश संश्लेषण न हो पाए।

4) पार्श्व नली को एक 250 mL के बीकर में निलंबित कीजिए जिसमें लवण विलयन हो और लवण विलयन के आरंभिक स्तर को नोट कीजिए और फिर सेट अप के स्तर में वृद्धि को क्रमशः 5, 10, 15 मिनट के अंतराल पर रिकॉर्ड कीजिए। इस प्रक्रिया को पौधे की जड़ों के साथ भी दोहराइए।



चित्र 7.1 : बीजों में श्वसन के आकलन के लिए सेटअप।

7.5 प्रेक्षण

प्रेक्षण सारणी

पादप सामग्री	लवण जल के स्तर में वृद्धि				श्वसन की दर d/t (ml)
जड़ें	आरंभिक	5 मिनट	10 मिनट	15 मिनट	
पत्तियां					

7.6 परिणाम

जड़ों और पत्तियों से श्वसन के समय निकलने वाली CO_2 को ज्वलन नली में KOH द्वारा अवशोषित कर लिया जाता है और फ्लास्क में निर्वात उत्पन्न हो जाता है जिससे लवण जल का स्तर ऊपर उठता है। 5, 10 और 15 मिनट के बाद लवणजल के स्तर में वृद्धि का परिकलन दिए गए सूत्र के अनुसार किया जा सकता है। पत्तियों और जड़ों से प्राप्त मानों की तुलना कीजिए और देखिए कि किस अंग में श्वसन अधिक होता है।

7.7 सावधानियां

- दोनों सेट–अप में पादप सामग्री की समान मात्रा रखनी चाहिए।
- पूरे परीक्षण में आपकों ज्वलन नली को खुला रखना चाहिए।
- अशांकित पार्श्व नली को बीकर की सतह से स्पर्श नहीं करना चाहिए।
- उपकरण ऊर्ध्वाधर और वायुरोधी होना चाहिए।
- परीक्षण आरंभ करने से पहले पादप सामग्री को धोना नहीं चाहिए।

प्रयोग 8

पत्र वर्णलेखन द्वारा ऐमीनो अम्लों को पृथक करना

प्रयोग की रूपरेखा

8.1 प्रस्तावना

8.2 आवश्यक सामग्री

8.3 सिद्धान्त

8.4 कार्यविधि

8.5 प्रेक्षण

8.6 परिणाम

8.7 सावधानियां

8.1 प्रस्तावना

जीवित जीवों में एक ही कोशिका में हजारों भिन्न अणु होते हैं। यदि हम एक अणु का अध्ययन करना चाहते हैं तो उसे अन्य से पृथक करना आवश्यक होता है। वर्णलेखन (chromatography) जैवअणुओं के पृथक्करण और पहचान के लिए व्यापक रूप से उपयोग की जाने वाली और सबसे प्रभावी तकनीकों में से एक है। हाल के वर्षों में विभिन्न प्रकार की वर्णलेखन तकनीकें विकसित की गई और उनमें सुधार किए गए हैं।

इस अभ्यास में आप सीखेगे कि किसप्रकार पत्र वर्णलेखन द्वारा दिए गए मिश्रण में से ऐमीनो अम्लों को पृथक कर सकते हैं।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने बाद आप :

- ❖ दिए गए मिश्रण से ऐमीनो अम्लों को पृथक कर सकेंगे;
- ❖ वर्णलेखन की तकनीक को सीखेंगे; और
- ❖ पत्र वर्णलेखन की तकनीक का उपयोग पर्ण वर्णकों के पृथक्करण के लिए कर सकेंगे।

8.2 आवश्यक सामग्री

- ऐमीनो अम्ल, निनहाइड्रिन (0.2% ऐसीटोन में)

- कार्बनिक विलायक (ब्यूटेनॉल : ऐसीटिक अम्लः आसुत जल : 3:1:1)
- ढक्कन युक्त वर्णलेखन जार। कांच की प्लेट, कोशिका नली या माइक्रोसिरिन्ज
- वाटमैन पत्र (नं. 1), एटमाइजर/कणित्र, हेयर ड्रायर, अवन, पेन्सिल

8.3 सिद्धान्त

इस तकनीक में विलेय का पृथक्करण द्रव-द्रव विभाजन पर आधारित होता है। पत्र वर्णलेखन तकनीकों का सिद्धान्त दो अमिश्रणीय प्रावस्थाओं - एक **स्थायी** जलीय प्रावस्था जो प्रबल रूप से पत्र के सेलुलोस रेशों से बद्ध होती है और **सचल** कार्बनिक प्रावस्था जो केशिका क्रिया के द्वारा पत्र से होकर प्रवाहित होती है-के बीच विलेय कि विभाजन में अन्तर पर आधारित है। सचल प्रावस्था में विलेय जितना अधिक घुलनशील होता है, उतनी ही अधिक दूरी तक अणु पत्र पर गति करते हैं। पदार्थ की अभिगमन दर (migration rate) को उसके **Rf** (विभेदन अग्रांत/सापेक्ष अग्रांत; Resolution front/ relative front) मान के अनुसार अभिव्यक्त किया जा सकता है।

किसी यौगिक के लिए Rf लगभग स्थिर होता है, यदि उसके विलायक तंत्र, विलेय सांद्रता, तापमान और pH को घ्यानपूर्वक नियंत्रित किया गया हो।

$$Rf = \frac{\text{विलेय द्वारा तय की गई दूरी}}{\text{विलायक अग्रांत द्वारा तय की गई दूरी}}$$

8.4 कार्यविधि

1) पहले आप वाटमेन नं. 1 पत्र की उचित आमाप की एक शीट काट लें। पेन्सिल की सहायता से पत्र के किनारे से 2.5 cm पर एक रेखा बना लें।

2) अब बारीक केशिका नलियों से सेम्पल को उसपर डालें और बिंदु के व्यास को जितना कम हो सके उतना कम रखें। इस प्रक्रिया को 5 से 6 बाद दोहराना चाहिए। प्रत्येक बार के प्रयोग के बाद आपकों पहले बिंदु को हेयर ड्रायर से सुखा लेना चाहिए।

3) इसी बीच आपको उस जार को **पूर्व-संतृप्त** कर लेना चाहिए जिसमें आप वर्णलेखी पत्र को रखने वाले हैं। आप जार के ढकने को बंद करके कार्बनिक विलायक की वाष्प से ऐसा कर सकते है जिससे जार विलायक की वाष्प से संतृप्त हो जाए।

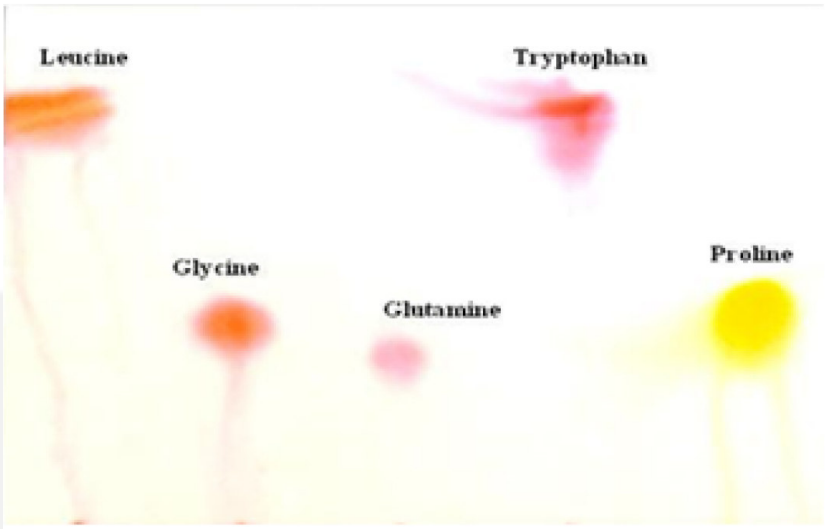
4) अब वर्णलेखी पत्र को विलायक में नीचे ले जाकर पट्टी को जार के मध्य भाग में रख दें। एक मोटा वर्गाकार पत्र लें, जो जार के मुख से कुछ इंच बड़े आमाप का हो। इसे मोड़ दें और वाटमेन फिल्टर पत्र की पट्टी को वलन की रेखा के ऊर्ध्वाधर वलनों के बीच रख दें। उन सभी को एक पेपर क्लिप से एकसाथ बांध दें। मुड़े हुए भाग को खोलिए। अब पट्टी को जार में अपेक्षाकृत मोटे पत्र को जार के मुख के ऊपर रखकर लटकाया जा सकता है। आप पत्र को लटकाने के लिए किसी अन्य युक्ति का भी प्रयोग कर सकते हैं। ये सुनिश्चित कर लें कि उसका निचला सिरा विलायक की परत में डूबा रहे लेकिन बिंदु उसके काफी ऊपर रहे। पत्र को जार के किनारों की सतह को स्पर्श नहीं करना चाहिए।

5) जार को बगैर हिलाए ऐसे ही रखा रहने दें। कुछ समय अंतरालों पर विलायक अग्रांत को नोट करते रहें और विलायक को पत्र की लगभग 2/3 लंबाई तक गति करने दें।

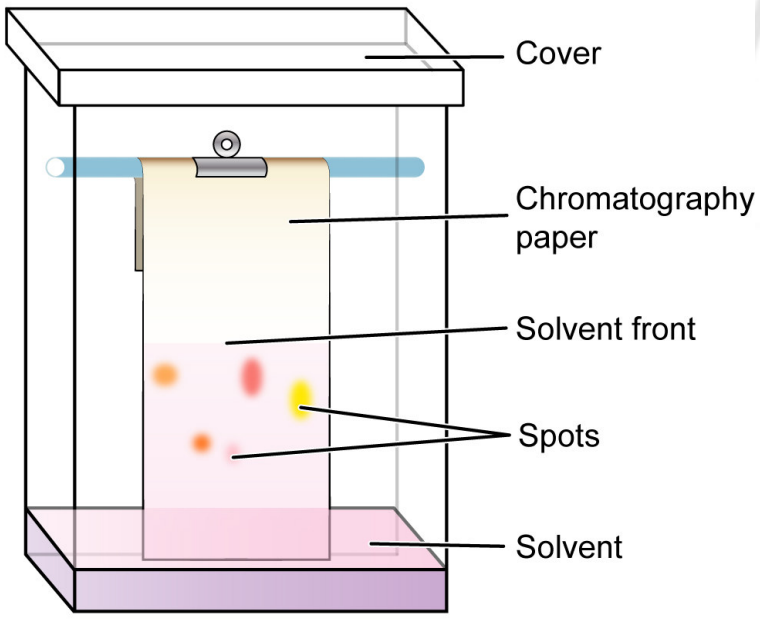
6) जार से पत्र को बाहर निकाल लें और पेन्सिल से तत्काल **विलायक अग्रांत** (solvent front) के स्थान को चिन्हित कर लें।

7) क्रोमेटोग्राम को हेयर ड्रायर से सुखा लें। अब एटमाइजर से पत्र पर निनहाइड्रिन का छिड़काव कीजिए।

8) पत्र को 5 मिनट तक कमरे के तापमान पर सुखाएं और फिर 2-3 मिनट के लिए अवन में 100° C पर सुखाएं।



(a)



(b)

चित्र 8.1 : पत्र वर्णलेखन।

8.5 प्रेक्षण

प्रेक्षण सारणी

विलायक अग्रांत = cm

ऐमीनों अम्ल द्वारा तय की गई दूरी	विलायक द्वारा तय की गई दूरी	Rf मान
A		A/S
B		B/S
C		C/S

8.6 परिणाम

क्रोमेटोग्राम को देखिए और ऐमीनों अम्लों को प्रदर्शित कीजिए जो नीले/पीले/बैंगनी बिंदुओं के रूप में दिखाई देते है (पेन्सिल का उपयोग कीजिए)।

क्रोमेटोग्राम पर दिखाई देने वाले बिंदुओं को रेखांकित कीजिए। प्रत्येक बिदुं के केन्द्र से लेकर किनारे तक की दूरी को मापिए। प्रत्येक एमीनो अम्ल के लिए Rf का परिकलन कीजिए।

8.7 सावधानियां

1) क्रोमेटोग्राम को किनारे से ही पकड़िए जिससे उस पर उंगली के निशान न पड़ें।

2) बिदुंओं को अधिकतम विभेदन के लिए छोटा ही रखना चाहिए।

3) जार विलायक से संतृप्त होना चाहिए। इसलिए क्रोमेटोग्राम को लटकाने के अतिरिक्त और कभी इसे ढकने के बिना नहीं रखना चाहिए।

4) एक बार सेट कर देने के बाद उपकरण से कोई छेडछाड़ नहीं करनी चाहिए।

5) निनहाइड्रिन विलयन सदैव उसी समय ताजा बनाना चाहिए।

6) निनहाइड्रिन के साथ संपर्क से बचना चाहिए। वातित कक्ष का उपयोग बेहतर रहता है।

7) आपको पत्र के गीला रहते ही विलायक को चिन्हित कर लेना चाहिए (पेन्सिल से)।

8) वर्णलेखी पत्र की पट्टियों को सदैव मशीन की दिशा में काटना चाहिए।