26 चिक भ्रूण की कोरकचर्म का अभिरंजन तथा आरोपण

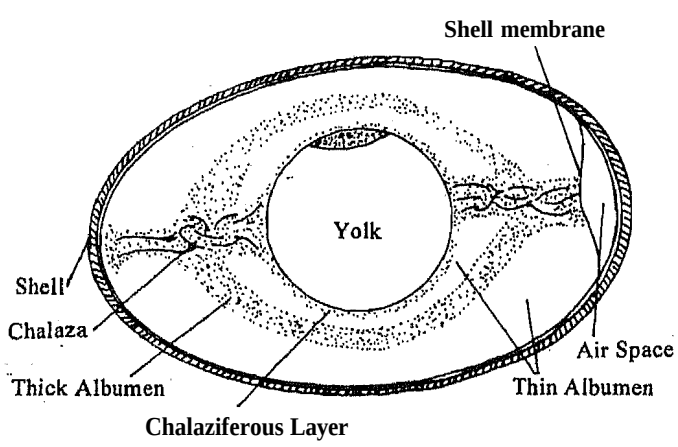
26.1 प्रस्तावना

चिड़ियों तथा सरीसृप (reptiles) के अण्डे भूमि पर दिये जाते हैं। मुर्गी का अण्डा उसके दिये जाने के पूर्व ही निषेचित हो जाता है तथा भ्रूण का परिवर्धन माता के शरीर के बाहर ही होता है। मुर्गी का अण्डा एक कवच (shell) से ढका रहता है तथा गैसों के आदान प्रदान के अतिरिक्त उसका बाहर के वातावरण से कोई संबन्ध नहीं रहता है। मुर्गी का अण्डा, पतीक के रूप में पोषक तत्वों से भरा रहता है जो भ्रूण के परिवर्धन में प्रयुक्त होता है। भ्रूण एक चपटी डिस्क कोरकचर्म (ब्लास्टोडर्म) के रूप में होता है तथा पतीक के ऊपर स्थित रहता है (चित्र 26.1)। पतीक एक पतली पारदर्शक पतीक झिल्ली (vitelline membrane) से चारों ओर घिरे रहते हैं। इस अभ्यास में आप अण्डे में से विकासशील भ्रूण को आरंभिक अवस्था में अलग करके उसको अभिरंजित करें तथा विभिन्न अंगों तथा अंग तंत्रों के विकास का निरीक्षण करें।

उद्देश्य

इस प्रयोग को करने के बाद आप:

- चिक भ्रूण के कोरकचर्म का अभिरंजन और आरोपण कर सकेंगे।
- 33 घंण्टे के चिक भ्रूण की विभिन्न संरचनाओं को पहचान सकेंगे, चिन्हित कर सकेंगे और उनके चित्र बना सकेंगे।



चित्र 26.1: कोरकचर्म की स्थिति को दिखाता हुआ मुर्गी का अण्डा

26.2 आवश्यक सामग्री

38°C पर 30 से 38 घंटे तक उष्मायित **(incubated)** किये हुए निषेचित अंडे

0.9% लवणीय (सेलाइन) घोल या चिक रिंगर घोल

अंगुलि कटोरा (finger bowl) **200** मि.ली. क्षमता का

पेट्री डिश

वाच ग्लास

विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी [द्विनेत्री त्रिविमी **(binocular stereoscopic)** विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी, को प्राथमिकता दी जाती है]

लैम्प

निस्यंदक पत्र **(Filter Pepcr)**

तेज धार वाली कैंची

छानने वाला छलनी चम्मच

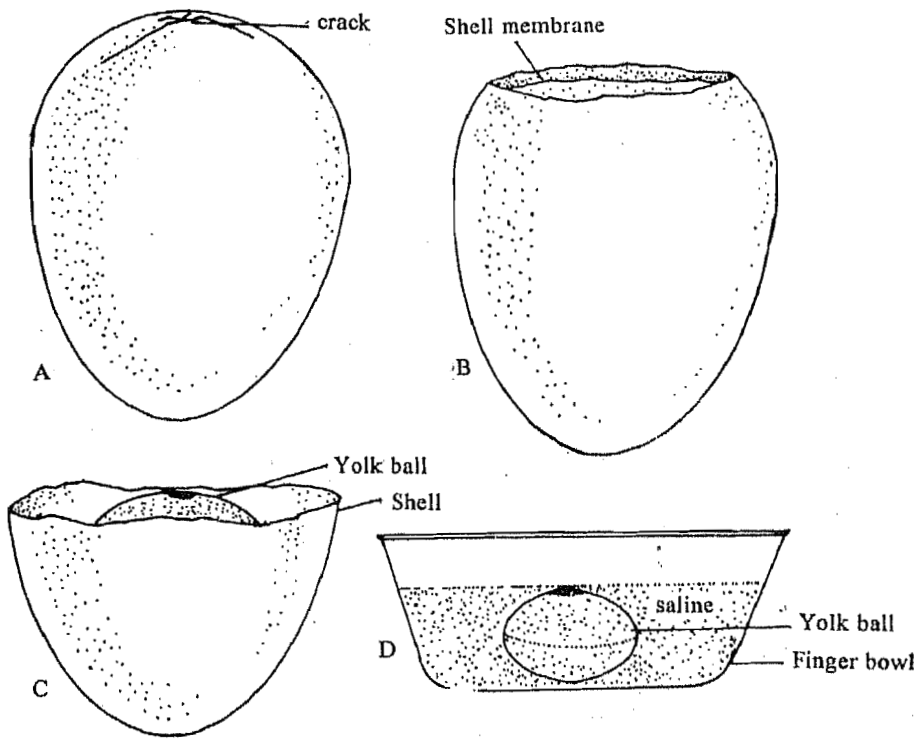
नुकीली चिमटी

पास्तेर पिपेट्स

न्युट्रल रेड अथवा नाइल ब्लू (0.1% घोल)

26.3 प्रयोग विधि

1) चिमटी के कुन्द (blunt) सिरे से अण्डे के कवच का छोटा सा हिस्सा चौड़े सिरे पर से तोड़िए (चित्र 26.2A)। कवच के टुकड़ों को सावधानीपूर्वक हटाइए जिससे कि आप अपारदर्शी कवच झिल्ली को देख सकें (चित्र 26.2B)। इसमें दो कवच झिल्लियां होती हैं जो कि अण्डे के कुन्द सिरे के अतिरिक्त और सब जगह पर एक दूसरे से जुड़ी रहती हैं। कुन्द सिरे पर ये एक छोटी 'हवा भरी हुई जगह को' परिबद्ध किये हुऐ एक दूसरे से अलग रहती हैं। कुन्द सिरे पर हवा भरी जगह होने के कारण, कुन्द सिरे पर से, भ्रूण को क्षति पहुंचाए बिना, अण्डे को खोलना अधिक आसान होता है।



चित्र 26.2: अण्डे में से भ्रूण को निकालने की प्रक्रिया

1) कवच झिल्लियों को चिमटी से अलग कर दीजिए। अब आप को पीले पतीक के साथ पतले एल्बुमिन में तैरते हुए कोरकचर्म दिखेगा।

2) पास्तेर पिपेट की सहायता से जितना संभव हो सके उतना एल्बुमिन निकाल दीजिए।

3) कवच के छेद को चौड़ा करिए जिससे कि आप आसानी से अंडे के सभी अंशों को रिंगर घोल भरे हुऐ अंगुलि कटोरे में डाल सके।

4) 0.1% न्यूट्रल रेड अथवा नाइल ब्लू घोल की बूंद, कोरकचर्म पर डालिए। पाँच मिनट के पश्चात् अतिरिक्त अभिरंजक को पास्तेर पिपेट से सावधानीपूर्वक रिंगर घोल का उत्क्षेपण **(squirting)** करके धो डालिए।

5) कोरकचर्म की संरचना का विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी, प्राथमिक रूप से द्विनेत्री लिविधि-(binocular stereoscopic) विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी द्वारा निरीक्षण कीजिए।

6) कोरकचर्म को बाकी पतीक से अलग करने के लिये, निम्नलिखित प्रक्रिया को अपनाइए।

क) पेट्रीडिश तैयार कीजिए उसमें वाचग्लास की उत्तल (convex) सतह को ऊपर मध्य में रखिये तथा गर्म (37°C) चिक रिंगर तब तक डालिए जब तक कि द्रव ठीक वाचग्लास के शीर्ष को ना ढंक ले।

ख) पीतक झिल्ली (पीतक को ढंके रहने वाली झिल्ली) को अपनी चिमटी द्वारा उठाइए तथा उसको कोरकचर्म के किनारों के आगे से लगभग 3 मि.मी. के गोले में धीरे से काट लीजिए। इससे कोरकचर्म सही सलामत रहता है तथा आप उसे आसानी से अलग कर सकते हैं।

ग) झिल्ली के कटे हुए किनारे को अपनी चिमटी से पकड़िए और सावधानी से उसे पतीक की सतह से उठाकर छानने वाले चम्मच में रख लीजिए। झिल्ली को पकड़े रखिए और चम्मच को रिंगर से बाहर निकालिए तथा झिल्ली व कोरकचर्म को तैयार पेट्रीडिश में स्थानान्तरित कर दीजिए।

घ) सावधानीपूर्वक धीरे से थोड़ा चिक रिंगर घोल कोरकचर्म के ऊपर, कटे हुए किनारों को चिमटी से पकड़कर, पीतक की अधिक मात्रा को हटाने के लिए डालिए। पेट्रीडिश को विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी के नीचे रखिए। कोरकचर्म को ऊपर, वाचग्लास के शीर्ष पर खिसकाइए, जो कि पहले से ही रिंगर से ढका हुआ है । यदि कोरकचर्म वाचग्लास पर से फिसल रही हो, तो उसको निस्यंदक (फिल्टर) पत्र के एक छोटे टुकड़े को एक किनारे के शीर्ष पर रखकर रोका जा सकता है।

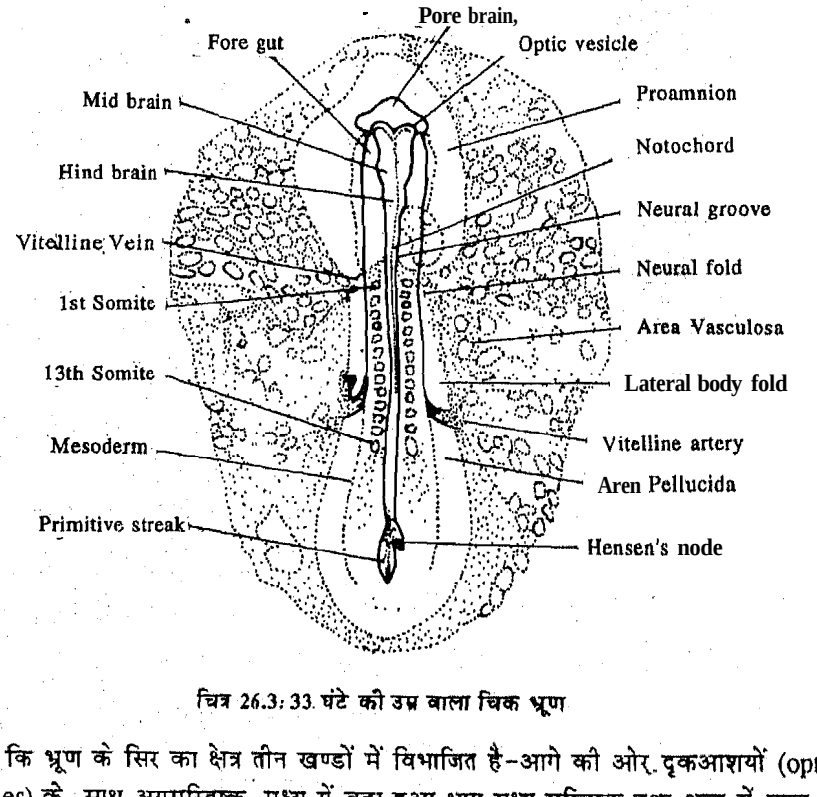
26.4 निरीक्षण

1) कोरकचर्म का सूक्ष्मदर्शी द्वारा निरीक्षण कीजिए। धड़कते (beating) हृदय के सर्वोत्तम दृश्य के लिये, भ्रूण को उसकी अधर सतह को ऊपर रखते हुए, रखिए। भ्रूण को पलटने के लिए, धीरे से कोरकचर्म को वाचग्लास के बाहर खिसकाइए, एक सिरे को अपनी चिमटी से पकड़िए तथा शीघ्रता से उसे पलट दीजिए। फिर उसे वापिस वाचग्लास के ऊपर खिसका दीजिए।

2) भ्रूण अपेक्षाकृत स्पष्ट क्षेत्र से घिरा रहता है, जो पारदर्शी क्षेत्र (area pellucida) कहलाता है जो स्वयं अपारदर्शी क्षेत्र (area opaca) से घिरा रहता है।

3) आप पीतकी परिसंचरण देखेंगे। पहले पीतक से भ्रूण तक पोषक तत्व ले जाने वाली रक्त वाहिनी को देखिये फिर वो रक्त वाहिनों को देखने की कोशिश करिये जो वापिस पतीक के ऊपर स्थित वेशिकाओं में आती है।

4) भ्रूण का अध्ययन कीजिए तथा चित्र 26.3 की सहायता से निम्नलिखित संरचनाओं को पहचानिए।



चित्र 26.3: 33 घंटे की उम्र वाला चिक भ्रूण

क) देखिए कि भ्रूण के सिर का क्षेत्र तीन खण्डों में विभाजित है–आगे की ओर दृकआशयों (optic vesicles) के साथ अग्रमस्तिष्क, मध्य में बढ़ा हुआ भाग मध्य मस्तिष्क तथा अन्त में पश्च मस्तिष्क जो कि तंत्रिक नली के रूप में भ्रूण की पूरी लम्बाई में से जाती है।

ख) देखिए कि तंत्रिक मोड़ (neural folds) पीछे की ओर जुड़े हुए नहीं हैं। आदि धारियों के अवशेष (remnants of primitive streak) खुले तंत्रिक मोड़ों के पीछे की ओर देखे जा सकते हैं।

ग) पृष्ठरज्जु (notochord) को एक मोटी धारी के रूप में भ्रूण के मध्यभाग में, तंत्रिक नली के पास तथा आगे की ओर अग्रमस्तिष्क में एक ठोस छड़ के रूप में प्रवेश करते हुए देखिए।

घ) मस्तिष्क तथा तंत्रिक नली के अग्रभाग के नीचे आप नलिकाकार हृदय को देखेंगे, जिसमें अभी तक संरचना विकास (morphogenesis) पूरा नहीं हुआ है।

ङ.) बड़ी नाभि-आंत्रयोजनी शिराओं (omphalo mesenteric veins) के द्विपक्षी जोड़े को पीछे के भाग से हृदय में प्रवेश करते हुए देखिए। ये शिराऐं हृदय में, पीतक के क्षेत्र में विकसित होने वाली पीतक वाहिनियों के द्वारा, रक्त लाती हैं।

च) शरीर के मध्य भाग में कायखंडों (somites) को देखिए। ये मध्यत्वचा से व्युत्पन्न होते हैं। ये विभिन्न प्रकार की पेशियों को जन्म देते हैं। भ्रूण की इस उम्र में विकसित हुऐ कायखंडों की संख्या को गिनिए।

छ) आंत्र की रूपरेखा को भी देखिए जो मध्य मस्तिष्क के भाग में दोनों तरफ स्पष्ट रूप से दिखाई पड़ती है।

बोध प्रश्न 1

अपने द्वारा आरोपित किए गये भ्रूण का चिन्हित आरेख बनाइए।

नोट: यदि अंडे को खोलने पर आपको कोरकचर्म ना दिखाई पड़े तथा अण्डे के पतीक में सिर्फ सफेद धब्बा सा दिखे, तब इसका मतलब है कि भ्रूण विकसित होने में असफल रहा है। इस अंडे को फेंक दीजिए तथा दूसरे उष्मायित अंडे का उपयोग करिए। अण्डे को फेंकने से पहले अपने काउन्सलर से भी जांच ज़रूर करवा लीजिए।