Муниципальное образовательное учреждение

Средняя общеобразовательная школа № 4

г. Калача - на – Дону

Волгоградской области

Муниципальное образовательное учреждение

средняя общеобразовательная школа № 4

г. Калача-на-Дону

Волгоградской области

**МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ**

**ИРИСА НИЗКОГО**

**ПУТЕМ ИЗОЛИРОВАНИЯ ЗАРОДЫША**

**КАК СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ ВИДА**

**Автор:**

ученица 8 «Б» класса

Куприянова Юлия

**Руководители:**

учитель биологии: Бородина Т.А.

учитель географии: Матюшенко С.В.

**Научный консультант:**

Научный сотрудник

ГУ «Волгоградский региональный

ботанический сад»: Утц Ю.Б.

2007г.

**Оглавление.**

Введение

Глоссарий

Основная часть

1. Обзор литературы

1.1 Методы биотехнологии для сохранения генофонда растений

1.2 Микроклональное размножение как способ сохранения редких и исчезающих видов растений

1.3 Биология вида Ириса Низкого

2. Место и время проведения исследования

3. Методика проведения исследования

4. Оборудование

5. Личный вклад

6. Результаты исследования и обсуждение

7. Выводы

Список литературы

Приложения

**Введение**

Проблема охраны видов растений в настоящее время становиться актуальной вследствие нерационального использования природных ресурсов, расширения воздействия человека на окружающую среду, ухудшения экологической обстановки. Для многих видов из-за сокращения их численности и распространения, возникла реальная угроза исчезновения.

В Волгоградской области разработана и действует программа по сохранению редких видов флоры, в рамках ведения региональной Красной книги. В Красной книге Волгоградской области[7] представлен список видов растений, которые на сегодняшний день находятся под угрозой исчезновения. К таким видам относится Ирис Низкий (Iris pumila 2(V) D.) Особо охраняемые природные территории обеспечивают наилучшее условия для длительного выживания растений, но не везде они есть. Для некоторых редких видов растений сохранение их культивированием в ботанических садах менее успешно, но может быть единственным средством выживания.

В последние годы в мире стало широко использоваться размножение редких и исчезающих видов растений в стерильной культуре, т.к. семенное размножение не всегда эффективно, из-за быстрой потери всхожести семян.

Наиболее эффективным способом культивирования является **клональное микроразмножение.**

К основным преимуществам этого приема относятся: получение генетически однородных копий природных особей, ценного селекционного материала в больших количествах в течение года, сокращение сроков получения укорененных растений, подготовка растений в условиях теплицы к началу вегетации в открытом грунте.

В лаборатории биотехнологии растений ГУ «Волгоградский региональный ботанический сад» ведется работа по разработке технологий микроразмножения многих видов растений. Одним из объектов исследования является Ирис Низкий.

**Проблема исследования**

состоит в том, чтобы отработать технологию введения Ириса Низкого в культуру in vitro, подобрать оптимальные питательные среды и условия культивирования эксплантов, изучить их рост и развитие.

**Объект исследования – Ирис Низкий.Предмет исследования** - оптимальные питательные среды и условия культивирования **Ириса низкого.**

**Цель исследования:** разработка технологии клонального микроразмножения **Ириса Низкого.**

**Задачи:**

1. Отработать технологию введения Ириса низкого в культуру in vitro.
2. Подобрать оптимальные питательные среды и условия культивирования эксплантов.
3. Изучить особенности роста и развития Ириса Низкого на этапе микроразмножения.

**Гипотеза:** если подобрать оптимальные условия введения, размножения и содержания в культуре in vitro **Ириса Низкого,** то это позволит сохранить его как вид.

**Глоссарий.**

**In vitro –** выращивание растительных объектов «в стекле» (пробирке, колбе, биореакторе) на искусственных питательных средах в асептических условиях.

**In vivo** – выращивание живого материала в естественных условиях.

**Эксплант** – фрагмент ткани или органа, инкубируемый на питательной среде самостоятельно или используемый для получения первичного каллуса.

**Культура эксплантов** – инкубация в стерильных условиях на питательных средах, вызывающих или не вызывающих пролиферацию фрагментов, изолированных из разных органов растений.

**Клональное микроразмножение** – получение in vitro неполовым путем растений, генетически идентичных исходному.

**Пролиферация** – новообразование клеток и тканей путем размножения.

**Каллус –** ткань, возникшая in vitro или in vivo путем неорганизованной пролиферации клеток растений и эксплантов.

**Дедифференциация** – переход специализированных клеток к пролиферации и неорганизованному каллусному росту.

**Клонирование –** получение генетически идентичных клеток, органов, популяций.

**Морфогенез** – процесс формирования органов (органогенез), тканей (гистогенез) и клеток (цитогенез или клеточная дифференциация).

**Органогенез** – процесс возникновения в неорганизованно растущей массе каллусных клеток зачатков органов (корней, листовых зачатков, побегов).

**Основная часть**

**1.** **Обзор литературы**

**1.1 Методы биотехнологии для сохранения генофонда растений**

Сохранение генофонда – одна из важнейших задач в деле сохранения природы, которой уделяют большое внимание во всем мире. Связано это с ограниченностью необходимых для существования человека биологических ресурсов и угрозой их истощения, вызванной мощным техногенным воздействием цивилизации на окружающую среду, от которого иногда страдают растения. Многие виды еще недостаточно хорошо изучены, однако все они являются генетическими ресурсами, которые человек может использовать. Поэтому потеря любого из них – невосполнимая утрата. Так, по данным Международного института генетических ресурсов растений (Рим), с начала ХХ века потеряно около 75% генетического разнообразия растений.

В настоящее время очень актуальна проблема сохранения генофонда, как культурных видов, так и дикорастущих растений, представляющих собой ценный селекционный материал. Существующие традиционные подходы сохранения генофонда базируются, во-первых, на создании разнообразных коллекций, а так же банков семян (хранение ex situ); во-вторых, на организации заповедников и заказников(in situ).

Создание коллекций растений невозможно без их первичного интродукционного изучения, когда они оцениваются на перспективность интродукции и поэтому критерию разделяются на три основные группы: очень перспективные, перспективные и малоперспективные. Для растений, входящих в две первые группы, чаще всего не возникает особых сложностей в формировании коллекции, тогда как для третьей группы обычные методы хранения живой ткани в вегетативной форме лимитируются трудностями создания оптимальных условий для выращивания.

Однако семена группы растений, относящихся к малоперспективным для интродукции, как правило, очень быстро теряют всхожесть при хранении. Представлены эти растения в основном видами, находящимися под угрозой исчезновения. Утрата таких растений в скором будущем может стать невосполнимой [4].

Применяемые традиционные методы сохранения генофонда трудоемки, а иногда и очень дорогостоящи, неприемлемы для ряда видов растений. Ценность сохраняемых растений часто лимитируется возможными болезнями и прихотливостью растений к новым средам обитания. Необходимы новые подходы, позволяющие преодолеть названные трудности и расширить список растений, сохраняемых в живых коллекциях.

Одним из альтернативных подходов к проблеме сохранения генофонда может стать использование методов биотехнологии растений. Но эти методы могут быть применимы только к таким видам, для которых разработаны методы регенерации и микроразмножения in vitro.Системы in vitrо, из которых невозможно получить растения-регенеранты, не представляют большого интереса для генетического сохранения [11]. Использование методов биотехнологии для сохранения генофонда имеет преимущества перед традиционными методами, заключающимися в том, что отпадает необходимость в большой площади земли и регулярном уходе за посадками, а также исключается возможность потери растений из-за заболеваний. Методические приемы, существующие в настоящее время, можно разделить на две группы. Одна группа методов базируется на хранении без нарушения процессов роста растений и, в дополнение к сказанному, именно эта группа методов имеет все те преимущества, которые с практической точки зрения дает использование методов культуры in vitro в размножении растений. Другие методы основаны на хранении при полной остановке роста либо при его замедлении [4].

В литературе не описываются приемы биотехнологии по выращиванию Ириса Низкого. И я считаю необходимым отработать технологию введения этого вида в культуру для его сохранения и размножения.

**1.2 Микроклональное размножение как способ сохранения редких и исчезающих видов растений**

Культура клеток растений – область биологии, тесно связанная с практикой. Почти каждый открытый здесь научный факт находит свое отражение в прикладных исследованиях. В отличие от клеток животных практически любая растительная клетка способна в определенных условиях и на соответствующих питательных средах регенерировать полноценные растения (свойство тотипотентности растительных клеток) Решающую роль во вторичном образовании органов (корней или почек) из недифференцированных тканей in vitro играет соотношение фитогормонов (ауксинов и цитокининов) и их концентраций в питательной среде. Изучение процесса экспериментального морфогенеза на всех уровнях организации, ототдельной клетки до верхушки побега, привело к созданию технологии клонального микроразмножения растений, которая уже в большинстве стран перешла на коммерческий уровень. Метод микроклонального размножения играет важную роль для ускоренного клонирования плодовых, ягодных, клубнеплодных, декоративных видов растений и древесных пород. Впервые этот метод применил французский исследователь Ж.Морель в 1960 г. для размножения орхидей. Из исходного экспланта ему удалось в течение года получить около четырёх миллионов новых растений, свободных от вирусной инфекции.

По своей сути микроклональное размножение аналогично вегетативному типу размножения растений с той лишь разницей, что оно протекает в пробирке в условиях in vitro, где из клеток изолированных тканей в итоге можно получить достаточно большое количество новых растнеий. Обязательным условием микроклонального размножения является идентичность полученного материала исходному материнскому растению [15]. Еще недавно этот способ рассматривали как возможность ускоренного клонирования вегетативно размножающихся видов растений, а так же как вспомогательный метод освобождения растений от вирусов. Однако результаты некоторых исследований показали, что значение этого метода существенно возрастает для клоновой селекции растений (экспериментальный мутагенез и расхимеривание), криосохранение ценного исходного материала, а так же ряда других [4]. Способность к образованию больших количеств (несколько миллионов и более) соматических зародышей в условиях in vitro используется для разработки технологии массового и непрерывного получения «искусственных» семян. Более того, метод клонального микроразмножения может быть с успехом использован для создания синтетических сортов. К настоящему времени число видов, которые можно клонировать «в пробирке», уже составляет около одной тысячи.

Преимуществами данного метода по сравнению с традиционными являются:

* значительно более высокие коэффициенты размножения (можно получить до 100.000- 1.000.000 мериклонов в год, тогда как при обычном размножении – 5-100 растений за тот же срок;
* миниатюризация процесса, приводящая к экономии площадей, занятыми маточными и размножающимися растениями;
* оздоровление растений от грибных и бактериальных патогенов, вирусов, микоплазменных, вироидных и нематодных инфекций;
* возможность размножения и ускорения растений, размножение которых затруднено обычными способами.

Хотя метод микроклонального размножения растений является довольно трудоёмким и затратным, в ряде случаев на его основе уже стало возможным создавать экономически рентабельные технологии [5].

**1.3 Культура изолированных зародышей**

Метод выращивания изолированных зародышей на искусственной питательной среде успешно развивается, начиная с работ Ханнинга, проведенных еще в 1904г. Различают выращивание на искусственной питательной среде зародышей из зрелых семян и зародышей из незрелых семян, изолированных на ранних фазах развития.

В первом случае зародыши чаще всего полностью дифференцированы.Изолирование их и выращивание на искусственных средах служит целям изучения потребностей их в элементах питания. Особенно интересно для ученых выяснить роль в питании зародыша веществ, поступающих из других частей семени - или усваиваемых им прямо из питательного субстрата. Это физиологическое направление в выращивании изолированных зародышей можно дополнить изучением состояния покоя зародыша может быть непродолжительным, а может требовать применение специальных приемов обработки семян, таких, как стратификация (воздействие пониженных- 2-5º - температур) в течение продолжительного времени. Выращивание в стерильных условиях на искусственной питательной среде дает в этом случае возможность применить различные вещества для преодоления состояния состояние покоя и стимулирования роста зародыша. Изучение потребности растений в низких температурах для их дальнейшего развития также можно провести на изолированных зародышах. Практическое значение культуры изолированных зародышей из зрелых семян заключается в ускорении получения растений из трудно прорастающих семян. Семена ирисов имеют длительный период покоя и прорастают в течение 2-3 лет. Выращивание изолированных зародышей без эндосперма и покровов семени, которые и вызывают задержку прорастания семян, позволяет ускорить развитие растений. Для вычленения зародышей обычно используют набухшие семена. Их стерилизуют, иногда дополнительно обжигают в пламени спиртовки, а затем в стерильных условиях препарируют и выделяют зародыш.

Работа с изолированными зародышами из зрелых семян относительно проста и может быть организованна в любой лаборатории селекционной станции. Труднее работать с зародышами, изолированными на ранних стадиях развития из незрелых семян. Значительно меньшие размеры самого зародыша и органов из которых он вычленяется, создают технические трудности. Но наиболее сложным в этом случае является подбор питательных сред, которые должны обеспечить развитие зародыша до состояния, которое он имеет в зрелом семени, его прорастание и рост.

Требование к веществам высокой физиологической активности, которые вносят в питательную среду, неодинаковы на разных стадиях зародыша. В зависимости от природы растения, питательные среды могут значительно отличаться по составу, но почти во всех случаях, кроме минерально-сахарной основы, в их состав включают эндоспермы из незрелых семян разных растений, набор аминокислот, витамины и гормоны- ауксины, цитокинины (кинетин, 6-бензиламинопурин) и гиббереллины.

**1.4 Биология вида Ириса Низкого 2(V) D**

**1.4.1 Систематика**

**Отдел:** Покрытосеменные, или Цветковые растения

(Angiospermae, Anthophyta, или Magnoliophyta)

**Порядок:**

**Семейство:** Ирисовые или Касатиковые(Iridaceae, или )

**Род:** Ирис(Iris )

**Вид:** Ирис низкий (Iris pumila 2(V) D .)

**1.4.2 Описание вида Iris pumila 2(V) D –**

**Касатик низкий**

Невысокий (8-15см) травянистый короткокорневищный многолетник, степной геофит. Листья мечевидные, сизовато-зеленые. Цветки одиночные, на коротких цветоносах, желтые, фиолетовые, синие. Компонент типчаково-ковыльных степей. Трубка околоцветника тонкая, далеко выступающая над прицветниками, в 3-5 раз длиннее завязи, наружные доли околоцветника сверху у основания с бородкой, вниз отогнутые, продолговато-эллиптические, уже и несколько короче внутренних долей, обратнояйцевидных, внезапно суженных в ноготок; надрезы у верхней губы острые. Плод - трехгранная заостренная коробочка. От касатика безлистного (L. aphyllci L.) отличается тем, что у последнего стебель превышает мечевидные листья, цветков от 1 до 3, один верхушечный, доли околоцветника почти равные, с округленной верхушкой, нити тычинок почти равные пыльникам, завязь на ножке, равной ей по длине, 3-гранная.На территории обширного ареала распадается на несколько трудно распознаваемых по морфологическим признакам рас, возможно, подвидов. В Красной книге РФ.

**1.4.3 Из истории**

Ирис имеет плоские, как лезвие ножа листья. По этой причине немцы прозвали его «меч-лилия». Русское название ириса звучит очень ласково: «касатик». В переводе с латинского «ирис» означает «радуга». Последнее название обусловлено очень разнообразной окраской цветков. Они могут быть темно-фиолетовыми, светло-фиолетовыми, белыми, розовыми, желтыми, карминными, огненно-красными. Насчитывают около 300 оттенков цветков ирисов. Так, что вовсе не случайно эти растения олицетворяют радугу. По преданию, Меркурий и очаровательная Ирис провожают души усопших по семицветной радуге в страну вечного мира, жилище блаженных, украшенное вечнозеленым кипарисом. По этой причине, по-видимому, ирис считался символом мира и спокойствия. А вот в Древнем Египте он воспринимался как символ красноречия. Известно очень большое количество (более 30 тыс.) сортов культурного ириса, которые разводятся как прекрасные декоративные растения. Разнообразия окраски цветков ириса, их очень приятный нежный аромат, напоминающий запах цветков орхидей, декоративная зелень листьев, сохраняющихся до глубокой осени, - все это способствует широкой популярности растений. Существуют общества любителей ирисов и специальные журналы, посвященные культивированию этих высокодекоративных растений. Наиболее красивые и ароматные ирисы выращивались во Флоренции. Герб этого города несет изображение любимого цветка флорентинцев. Интересно отношения к ирису в Японии. 5 мая в Японии – день мальчиков, в этот день наряду с ветками дуба всюду можно встретить изображение ирисов, поскольку оба растения считаются олицетворением мужественности. Во время массового цветения, обычно в июне, по всей Японии совершается «ханами» - ритуальное созерцания цветов. Основная цель этого ритуала – вызвать в душе человека чувство радости, восхищения перед красотой жизни. Ирисы ценятся не только за красоту. При медленной сушке корневища некоторых видов (германского, бледного и флорентийского) приобретают аромат фиалки, так содержат душистое вещество «ирон» с запахом фиалки. По этой причине в народе их называют фиалковым корнем, который нередко используется при изготовлении зубных порошков, духов, одеколонов. Им ароматизируют кулинарные изделия, ликеры, вермуты, уксус. В Японии, Пакистане и США из волокнистых листьев некоторых ирисов вяжут веревки, делают щетки и грубые ткани. Из корневищ многих ирисов можно получить крахмал, а из цветков – зеленые чернила и так называемую ирисовую зелень – краску для живописи по слоновой кости.

**1.4.4**

|  |  |
| --- | --- |
| Цикл развития: | |
|  | многолетник |
| Почва: | |
| pH: | нейтральная |
| механический состав почвы: | легкие почвы, суглинки  питательная, рыхлая, умеренно- влажная,  известковая, плодородная, деренированная |
| Посадка и размножение: | |
| способ посадки семенами: | безрассадный  не выносит заглублений  глубина заделки семян 3-4см |
| срок посева семян в открытый грунт: | после созревания или под зиму |
| вегетативное размножение: | • размножают после цветения делением корневища;  • требуется пересадка раз в четыре-пять лет |
| расстояние между растениями: | 30см |
| Зимостойкость: | |
| Степень зимостойкости | зимостоек |
| Укрытие на зиму | не требуется |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| Жизненная форма: | |
|  | длинно-корневищное растение |
| Высота: | |
|  | 10-15см |
| Сроки цветения: | |
|  | • конец апреля - начало мая;  • самый ранний из видовых ирисов |
| Декоративные свойства: | |
|  | листья, цветки |
| Размер цветка (соцветия): | |
|  | • цветок размером около 8 см;  • цветонос высотой до 3 см |
| Форма цветка (соцветия): | |
|  | • цветок крупный, простой, из шести лепестковидных долей околоцветника, с бородкой на наружных долях;  • цветонос одноцветковый, спрятан в листовом пучке |
| Форма и окраска листьев: | |
|  | все листья прикорневые, широколинейные, сизоватые |
| Прочее: | |
|  | • основной родоначальник группы карликовых бородатых ирисов;  • в природе распространен от степей Средиземноморья до юга Урала, но является редким;  • часто разные цветовые гаммы присутствуют в одной популяции |

|  |  |
| --- | --- |
| Касатик карликовый (кочеток)-Iris pumila |  |
| Региональный критерий редкости  * вид достаточно обычный на протяжении всего ареала, но сокращающий численность своих популяций в пределах региона под влиянием антропогенных факторов. | Категория 2 (V)Уязвимый вид |
| Морфологоанатомические особенности Многолетнее травянистое растение до 15см высотой, с коротким толстым корневищем и розетками сизоватых мечевидных листьев. Хорошо развита система придаточных корней; из почек возобновления на корневище ежегодно развивается 2-5 надземных побегов. корневище состоит из годичных короких приростков, сохраняющихся живыми до 8-10 лет. Образуется рыхлокустовая система горизонтально расположенных коневищ, формирующих круговину. Цветонос до 3см с одним цветком. Цветы до 4-6 см в диаметре, самой разнообразной окраски: синие, ярко-желтые , синие с желтым, розовато-фиолетовые. На верхней стороне отогнутых наружных долей венчика имеется бородка волосков. Растения советлыми окрасками (от белых до желтых) встречается чаще. Почки возобновления будущего года погружены в почву на 2-3см. Осенью в них почти полностью сформированы зачатки вегетативных органов и цветков. Плод – многосеменная локулицидная коробочка крупных размеров с прямым зародышем, окруженным твердым эндоспермом. Семенная кожура толстая. В корневищах содержится эфирное масло сложного состава, гликозид иридин, дубильные вещества, органические кислоты, жирное масло, крахмал, слизь и смолистые вещества. |  |
| Экология и биология  Ксеромезофит. Преимущественно степной [геофит](http://www.lyceum8.ru/redbook/termin.html#geofit), эфемероид, поликарпик компонент типчаково-ковыльных степей, однако многие популяции нередко заходят на солонцеватые понижения – «поды», где становятся компонентами полупустынной растительности. Предпочитает почвы легкого механического состава. Вегетация начинается в начале апреля. Через 3-4 недели наступает цветение. Цветет раньше других видов, в конце апреля - в начале мая. Цветение продолжается до 20 дней. Ежегодно плодоносит. Опыляющие ирисы насекомые - в основном шмели. Размножается семенами, но чаще вегетативно, разрастаясь по склонам в виде куртин- клонов, которые включают растения с цветками какой-либо одной окраски. При культивировании быстро стареет. |  |
| Распространение: Встречается в области редко и приурочен преимущественно к южным и Приволжским районам Правобережья. Достоверно известно его местообитание в Кузоватовском (с. Спешневка), Старокулаткинском (с. Бахтеевка, с. Средняя Терешка), Николаевском (Акуловская и Варваровская степи), Сенгилеевском (с. Шиловка) и Радищевском (гора Вотлама, урочище Малая Атмала) районах. В Левобережье обнаружена одна желтоцветковая популяция близ с. Вишенки Мелекесского района. Находится на северо-восточной границе ареала. За пределами Ульяновской области отмечается для юга европейской части России в пределах степной и отчасти лесостепной зон, на Северном Кавказе, Южном Урале и в Приуралье. За пределами России - в Закавказье, на Украине, в Республике Молдова, Казахстане, на востоке Центральной и Южной Европы.  Целинные разнотравно-дерновинные и дерновиннозлаковые степи; степные склоны балок | Все районы области, кроме Заволжья. |
| Лимитирующие факторы. Распашка  степных целинных склонов, интенсивный выпас скота, степные палы, урбанизация мест произрастания. Часть известных ранее местонахождений вида в настоящее время утрачено в результате деятельности человека. Так, в результате городской застройки уничтожено классическое местонахождение вида на западной окраине г. Волгограда. Уничтожение как раноцветущего растения: сбор цветов, выкопка корневищ для пересадки. | Использование  * декоративное растение. В культуре с 1588 года. Один из родоначальников сортов группы карликовых бородатых ирисов. |
| Численность и тенденции ее изменения.  Большая часть известных популяций находится в непосредственной близости к населенным пунктам и стремительно сокращает свою численность в результате действия факторов антропогенной природы. |  |
| Принятые меры охраны. Рекомендуется к региональной охране в Волгоградской и смежных областях. Необходимо создание заказников в местах массового произрастания вида и контроль за состоянием природных популяций. Следует рекомендовать широкое внедрение касатика карликового в культуру и запрет изъятия живых растений из дикорастущих популяций. Взят под охрану в Ростовской (категория 2), Саратовской (категория 1) и Астраханской (категория 2) областях и Республике Калмыкии (категория 2). |  |

**2. Место и время проведения исследований**

**2.1 Место проведения исследований**

Работа проводилась поэтапно

1) Материал для лабораторных исследований отобран на территории Волгоградской области, западной части Калачевского района, на правом

берегу реки Дон, к югу от моста через реку, в балке Красной.

2)На базе лаборатории биотехнологии растений ГУ «Волгоградский региональный ботанический сад». Эта лаборатория единственная в Волгоградской области, которая занимается проблемами микроклонального размножения растений. На базе лаборатории ведутся работы по созданию семенного банка, банка культур in vitro всего Южного Федерального округа.

**2.2 Время проведения исследований**

Май – июнь 2007 года – полевые сборы.

Август – октябрь 2007 года – лабораторные исследования.

Октябрь 2007 года – анализ и оформление работы.

**2.3 Методика проведения исследований**

В качестве исходного материала были использованы изолированные зародыши. Использовать в качестве первичных эксплантов побеги или листья-неудобно. Методика исследований базировалась на общепринятых классических приемах с культурами изолированных тканей и органов растений Зародыши высаживали на безгормональную питательную среду с минеральной основой по прописи Мурасиге-Скуга , на которой образовывались проростки. Далее их делили на фрагменты и пересаживали на модифицированные питательные среды для получения пролиферирующей культуры.

В условиях in vitro растения культивировали в чашках Петри и биологических пробирках при освещении с интенсивностью 3-5 клк, при 16-часовом фотопериоде, температуре 24 С и относительной влажности воздуха 70%.

Статистическая обработка данных проводилась по методике Б.А. Доспехова .

**2.4 Оборудование**

* Аналитические весы
* Пробирки
* Скальпели
* Пинцеты
* Линейка
* Песочные часы
* Чашки Петри
* Спиртовка
* Автоклав
* Штатив
* Фильтровальная бумага

**2.5 Личный вклад**

Автор работы принял личное участие в сборе полевого материала и лабораторных исследованиях под руководством научного сотрудника ГУ « Волгоградский региональный ботанический сад» Ю.Б. Утц и благодарит за предоставленную возможность проведения исследований директора ГУ «Волгоградский региональный ботанический сад» О.И. Короткова.

**2.6 Результаты исследований и обсуждение**

В качестве первичного материала для введения в культуру in vitro нами были использованы изолированные зародыши.Предварительно обрабатывали их 95%-ным этиловым спиртом в течение 50-60 секунд. В качестве стерилизатора использовали 3%-ый «Лизоформин» (действующие вещества: глутаровый альдегид, глиоксаль и дидецилдиметиламмоний хлорид). «Лизоформин» применяется для дезинфекции медицинских изделий и обладает не только бактерицидными, фунгицидными и спороцидными, но и вирулицидными свойствами, что является важным моментом для получения стерильных эксплантов.

О О

С–СН2–СН2–СН2–С

Н Н

О

О

Глутаровый альдегид С–С Сl-

Н Н С10Н4 + СН3

Глиоксаль N

Cl

С10Н4 СН3

дидецилдиметиламмоний хлорид

Схема 1. Молекулярная структура действующих веществ Лизоформина.

Оптимальное время стерилизации 7-10 мин. Поверхностно простерилизованные и промытые семена высаживали в чашки Петри на агаризованную питательную среду Мурасиге – Скуга без добавления фитогормонов. Основная часть семян прорастала на 7 – 10-е сутки, остальные на 13 – 15 сутки с момента помещения их на питательную среду. Полученные проростки в асептических условиях расчленяли на фрагменты и переносили для роста и размножения на питательную среду Мурасиге – Скуга с добавлением 0.5 мг/л 6-БАП.

Для оптимизации состава среды на этапе микроразмножения к питательной среде, содержащей минеральные соли по Мурасиге и Скугу, добавляли в различных концентрациях 6-БАП (0.1; 0.5; 1.0 мг/л), зеатин (0.1; 0.5; 1.0 мг/л), кинетин (1.0; 2.0; 5.0 мг/л) и для вытягивания побегов гибберелловую кислоту (0.2 и 0.4 мг/л). При этом снимались следующие показатели:

1. Коэффициент размножения – количество растений, развившихся из одного экспланта;
2. Количество аномальных (витрифицированных) растений;
3. Количество листьев;
4. Высота растения.

**Таблица №1.** Влияние гормона зеатина на регенерацию и рост побегов Майкарагана волжского.

***1-ая повторность***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |  |  |
|  |  | 3.2 | 1 | 3,7 | 2 | 1 | 0,5 | 1 |
|  | 0,5 | 3 | 2 | 3,3 | 3 | 1 | 0,3 | 1 |
|  |  | 1,5 | 1 | 1,9 | 1 | 1 | 0,4 | 0 |
|  |  | 3,5 | 1 | 4,2 | 4 | 1 | 0,7 | 3 |
|  |  | 1,8 | 2 | 2,8 | 4 | 3 | 1 | 2 |
| зеатин | Среднее значение | 2,6  ±  0,4 | 1,4  ±  0,2 | 3,2  ±  0,4 | 2,8  ±  0,6 | 1,4  ±  0,4 | 0,6  ±  0,3 | 1,4±0,5 |
|  |  | 1,2 | 1 | 1,5 | 1 | 1 | 0,3 | 0 |
|  |  | 3 | 1 | 3,2 | 5 | 1 | 0,2 | 4 |
|  | 1 | 0,5 | 1 | 0,9 | 1 | 1 | 0,4 | 0 |
|  |  | 3,8 | 1 | 4,7 | 4 | 1 | 0,9 | 3 |
|  |  | 4,5 | 1 | 5,4 | 7 | 1 | 0,9 | 6 |
|  | Среднее значение | 2,6  ±0,8 | 1 | 3,14±0,9 | 3,6  ±1,2 | 1 | 0,54  ±0,2 | 2,6±1,2 |
|  |  | 1,2 | 1 | 1,6 | 1 | 1 | 0,4 | 0 |
|  |  | 1,7 | 1 | 1,9 | 1 | 1 | 0,2 | 0 |
|  | 0,1 | 3,2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 0,8 | 2 |
|  |  | 2 | 1 | 2,4 | 3 | 1 | 0,4 | 2 |
|  |  | 4 | 1 | 4,1 | 1 | 1 | 0,1 | 0 |
|  | Среднее значение | 2,4  ±0,5 | 1,4  ±0,4 | 2,8  ±0,5 | 2,2  ±0,8 | 1 | 0,4  ±0,1 | 1  ±0,3 |

***2-ая повторность***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |  |  |
|  |  | 3.2 | 1 | 3,6 | 3 | 1 | 0,4 | 2 |
|  | 0,5 | 1 | 2 | 3,2 | 2 | 1 | 2,2 | 0 |
|  |  | 3,5 | 1 | 3,7 | 1 | 1 | 0,2 | 0 |
|  |  | 3,4 | 2 | 4,3 | 3 | 2 | 0,9 | 1 |
|  |  | 1,8 | 2 | 2,6 | 4 | 2 | 0,8 | 2 |
| зеатин | Среднее значение | 2,6  ±0,5 | 1,6  ±0,2 | 3,4  ±0,3 | 2,6  ±  0,5 | 1,4  ±  0,2 | 0,9  ±  0,4 | 1,0 ±0,4 |
|  |  | 1,3 | 1 | 1,5 | 2 | 1 | 0,2 | 0 |
|  |  | 2,9 | 1 | 3,3 | 5 | 1 | 0,4 | 4 |
|  | 1 | 0,7 | 1 | 1,2 | 2 | 1 | 0,5 | 1 |
|  |  | 3,5 | 2 | 4,7 | 4 | 1 | 1,2 | 2 |
|  |  | 4,5 | 3 | 5,5 | 7 | 1 | 1 | 4 |
|  | Среднее значение | 2,6  ±0,7 | 1,6  ±0,4 | 3,24±0,8 | 4  ±0,9 | 1 | 0,6  ±0,2 | 2,2±,8 |
|  |  | 1,3 | 1 | 1,6 | 2 | 1 | 0,3 | 1 |
|  |  | 1,8 | 1 | 2,2 | 1 | 1 | 0,4 | 0 |
|  | 0,1 | 3,1 | 3 | 4 | 5 | 1 | 0,9 | 2 |
|  |  | 2,4 | 2 | 2,9 | 2 | 1 | 0,5 | 0 |
|  |  | 3,5 | 1 | 4 | 1 | 1 | 0,5 | 0 |
|  | Среднее значение | 2,4  ±0,5 | 1,6  ±0,4 | 2,9  ±0,4 | 2,2  ±0,7 | 1 | 0,5  ±0,1 | 0,6  ±0,4 |

**Таблица №2** Влияние гормона кинетина на регенерацию и рост побегов Майкарагана волжского.

***1-ая повторность.***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |  |  |
|  |  | 1,3 | 4 | 5,6 | 4 | 1 | 4,3 | 0 |
|  |  | 0,8 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2,2 | 0 |
|  | 1 | 1,6 | 3 | 2,4 | 4 | 1 | 0,8 | 1 |
|  |  | 1,4 | 4 | 3,9 | 5 | 4 | 2,5 | 1 |
|  |  | 2,4 | 2 | 4,3 | 4 | 1 | 1,9 | 2 |
| Кинетин | Среднее значение | 1,5  ±0,3 | 3,2  ±0,4 | 3,84  ±0,5 | 4  ±0,6 | 1,6  ±0,6 | 2,34  ±0,6 | 0,8  ±0,4 |
|  |  | 2 | 4 | 10,4 | 5 | 2 | 8,4 | 1 |
|  |  | 2,3 | 4 | 7 | 5 | 2 | 4,7 | 1 |
|  | 2 | 2,5 | 6 | 3,6 | 6 | 2 | 1,1 | 0 |
|  |  | 2,2 | 8 | 5,5 | 9 | 3 | 3,3 | 1 |
|  |  | 1,8 | 2 | 4 | 4 | 3 | 2,2 | 2 |
|  | Среднее значение | 2,16  ±0,1 | 4,8  ±1 | 6,1  ±1,2 | 5,8  ±0,8 | 2,4  ±0,2 | 3,94  ±1,2 | 1,2  ±0,09 |
|  |  | 2,2 | 6 | 3,9 | 7 | 1 | 1,7 | 1 |
|  |  | 0,8 | 2 | 4 | 4 | 1 | 3,2 | 2 |
|  | 5 | 2,8 | 5 | 6,3 | 5 | 1 | 3,5 | 0 |
|  |  | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 |
|  |  | 1 | 4 | 2,2 | 6 | 5 | 1,2 | 2 |
|  | Среднее значение | 1,56  ±0,4 | 3,8  ±0,8 | 3,9  ±0,6 | 5  ±0,7 | 1,8  ±0,8 | 2,32  ±0,4 | 1,2  ±0,8 |

***2-ая повторность***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |  |  |
|  |  | 2,5 | 2 | 4,5 | 4 | 2 | 2 | 2 |
|  |  | 1,5 | 5 | 3,6 | 6 | 1 | 2,1 | 1 |
|  | 1 | 1,6 | 2 | 2,5 | 3 | 2 | 0,9 | 1 |
|  |  | 0,9 | 4 | 3 | 5 | 1 | 2,1 | 1 |
|  |  | 1,5 | 4 | 5,7 | 4 | 2 | 4,2 | 0 |
| Кинетин | Среднее значение | 1,6  ±0,2 | 3,4  ±0,6 | 3,9  ±0,6 | 4,4  ±0,5 | 1,6  ±0,2 | 2,3  ±0,5 | 1±0,3 |
|  |  | 1,7 | 6 | 3,9 | 7 | 3 | 2,2 | 1 |
|  |  | 2,1 | 4 | 5,5 | 5 | 2 | 3,4 | 1 |
|  | 2 | 2,4 | 8 | 3,6 | 9 | 3 | 1,2 | 1 |
|  |  | 2,2 | 2 | 7 | 2 | 3 | 4,8 | 0 |
|  |  | 1,9 | 4 | 10 | 5 | 2 | 8,1 | 1 |
|  | Среднее значение | 2,06  ±0,1 | 4,8  ±1 | 6  ±1,2 | 5,6  ±1,2 | 2,6  ±0,2 | 3,94  ±1,2 | 0,8  ±0,2 |
|  |  | 2,7 | 4 | 6,1 | 6 | 1 | 3,4 | 2 |
|  |  | 0,5 | 1 | 1,2 | 1 | 2 | 0,7 | 0 |
|  | 5 | 0,8 | 5 | 3,6 | 5 | 3 | 2,8 | 0 |
|  |  | 2,1 | 2 | 3,7 | 4 | 2 | 1,6 | 2 |
|  |  | 1,1 | 6 | 4 | 7 | 1 | 2,9 | 1 |
|  | Среднее значение | 1,4  ±0,4 | 3,6  ±0,9 | 3,7  ±0,8 | 4,6  ±1 | 1,8  ±0,3 | 2,3  ±1,6 | 1  ±0,4 |

**Таблица №3** Влияние гибберелловой кислоты на регенерацию и рост побегов Майкарагана волжского.

***1-ая повторность.***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф.размноже  ния |  |  |
|  |  | 1,6 | 4 | 3,1 | 5 | 1 | 1,5 | 1 |
|  |  | 2,4 | 4 | 3,9 | 4 | 1 | 1,5 | 0 |
|  | 0,4 | 2,6 | 2 | 3 | 3 | 1 | 0,4 | 1 |
|  |  | 2,6 | 4 | 3,2 | 4 | 1 | 0,6 | 0 |
|  |  | 2,5 | 5 | 3,6 | 6 | 1 | 1,1 | 1 |
| ГБК | Среднее значение | 2,34±0,2 | 3,8  ±0,5 | 3,4  ±0,2 | 4,4  ±0,5 | 1 | 1,02  ±0,2 | 0,6  ±0,2 |
|  |  | 2,7 | 3 | 4,5 | 4 | 1 | 1,8 | 1 |
|  |  | 1,2 | 3 | 6,8 | 6 | 1 | 5,6 | 3 |
|  | 0,2 | 2 | 6 | 4 | 3 | 1 | 2 | 0 |
|  |  | 1,5 | 5 | 1,7 | 2 | 1 | 0,2 | 0 |
|  |  | 1 | 2 | 1,3 | 3 | 1 | 0,3 | 1 |
|  | Среднее значение | 1,7  ±0,3 | 3,8  ±0,5 | 3,6  ±1 | 4,8  ±0,6 | 1 | 1,8  ±1 | 1  ±0,5 |

***2-ая повторность***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | | h2-h1 | Кол-во листьев2-кол-во листьев1 |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф.размноже  ния |  |  |
|  |  | 1,5 | 3 | 3,1 | 3 | 1 | 1,6 | 0 |
|  |  | 2,4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 1,6 | 0 |
|  | 0,4 | 2,5 | 3 | 3,1 | 4 | 1 | 0,6 | 1 |
|  |  | 2,6 | 4 | 4 | 5 | 1 | 0,4 | 1 |
|  |  | 2,5 | 4 | 3,7 | 4 | 1 | 1,2 | 0 |
| ГБК | Среднее значение | 2,3  ±0,2 | 3,6  ±0,2 | 3,6  ±0,2 | 4  ±0,3 | 1 | 1  ±0,3 | 0,4  ±0,2 |
|  |  | 2,8 | 2 | 4,7 | 3 | 1 | 1,9 | 1 |
|  |  | 1,3 | 3 | 6,7 | 3 | 1 | 5,4 | 0 |
|  | 0,2 | 1,9 | 5 | 4,2 | 5 | 1 | 2,3 | 0 |
|  |  | 1,6 | 3 | 1,8 | 4 | 1 | 0,2 | 1 |
|  |  | 1,1 | 6 | 1,5 | 8 | 2 | 0,4 | 2 |
|  | Среднее значение | 1,7  ±0,3 | 3,8  ±0,7 | 3,8  ±0,9 | 4,6  ±0,9 | 1,2  ±0,2 | 2  ±0,8 | 0,8  ±0,4 |

**Таблица № 4**Влияние гормона 6-бензиламинопурин на регенерацию и рост побегов Майкарагана волжского.

***1-ая повторность.***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | |
|  |  | h1 | Кол-во листьев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 4 |
|  | 1 |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 5 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
| 6-БАП | Среднее значение |  |  |  |  | 3,8  ±0,5 |
|  |  |  |  |  |  | 2 |
|  |  |  |  |  |  | 7 |
|  | 0,1 |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  | Среднее значение |  |  |  |  | 4  ±1 |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 2 |
|  | 0,5 |  |  |  |  | 2 |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  | Среднее значение |  |  |  |  | 2,5  ±0,3 |

***2-ая повторность***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| гормон | Концентрация, мг/л | В начале пассажа | | В конце пассажа | | |
|  |  | h1 | Кол-во листь  ев1 | h2 | Кол-во листьев2 | Коэф. размноже  ния |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  |  |  |  |  |  | 4 |
|  | 1 |  |  |  |  | 5 |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
| 6-БАП | Среднее значение |  |  |  |  | 3,8  ±0,5 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  |  |  |  |  |  | 2 |
|  | 0,1 |  |  |  |  | 6 |
|  |  |  |  |  |  | 4 |
|  |  |  |  |  |  | 2 |
|  | Среднее значение |  |  |  |  | 3  ±0,9 |
|  |  |  |  |  |  | 1 |
|  |  |  |  |  |  | 3 |
|  | 0,5 |  |  |  |  | 2 |
|  |  |  |  |  |  | 4 |
|  |  |  |  |  |  | 2 |
|  | Среднее значение |  |  |  |  | 2,4  ±0,5 |

**Таблица № 5 Влияние различных цитокининов на коэффициент размножения Майкарагана волжского.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Регулятор роста | Концентрация, мг/л | Коэффициент размножения | |
|  |  | 1-ая повторность | 2-ая повторность |
| Кинетин | 1,0 | 1,6±0,6 | 1,6±0,2 |
| 2,0 | 2,4±0,2 | 2,6±0,2 |
| 5,0 | 1,8±0,8 | 1,8±0,3 |
| Зеатин | 0,1 | 1 | 1 |
| 0,5 | 1,4±0,4 | 1,4±0,2 |
| 1,0 | 1 | 1 |
| 6-БАП | 0,1 | 3,8±0,5 | 3,8±0,5 |
| 0,5 | 4±1 | 3±0,9 |
| 1,0 | 2,5±0,3 | 2,4±0,5 |

**Таблица № 6 Влияние цитокининов и гибберелловой кислоты на регенерацию и рост побегов Майкарагана волжского в культуре in vitro.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Регулятор роста | Концентрация, мг/л | Коэффициент размножения | | Кол-во листьев, шт. | | Линейный рост, см | |
| 1-ая  повтор-  ность | 2-ая  повтор-  ность | 1-ая  повтор-ность | 2-ая  повтор-ность | 1-ая  повтор-ность | 2-ая  повтор-ность |
|  | 0,1 | 1 | 1 | 0,8±0,4 | 0,6±0,4 | 0,4±0,1 | 0,5±0,1 |
| Зеатин | 0,5 | 1,4±0,4 | 1,4±0,2 | 1,4±0,5 | 1±0,4 | 0,6±0,3 | 0,9±0,4 |
|  | 1 | 1 | 1 | 2,6±1,2 | 2,2±0,8 | 0,54±0,2 | 0,6±0,2 |
|  | 1 | 1,6±0,6 | 1,6±0,2 | 0,8±0,4 | 1±0,3 | 2,34±0,6 | 2,3±0,5 |
| Кинетин | 2 | 2,4±0,2 | 2,6±0,2 | 1,2±,09 | 0,8±0,2 | 3,94±1,2 | 3,94±1,2 |
|  | 5 | 1,8±0,8 | 1,8±0,3 | 1,2±0,8 | 1±0,4 | 2,32±0,4 | 2,3±1,6 |
| ГБК | 0,2 | 1 | 1 | 1±0,5 | 0,8±0,4 | 1,8±1 | 2±0,8 |
|  | 0,4 | 1 | 1,2±0,2 | 0,6±0,2 | 0,4±0,2 | 1,02±0,2 | 1±0,3 |

В качестве вторичных эксплантов брались фрагменты побега длиной 7-10 мм. Оптимальным временем пассажа для Майкарагана волжского является 30-35 дней. В дальнейшем увеличения коэффициента размножения не происходило, и замедлялись темпы роста. Кроме того, у значительной части растений in vitro начинали подсыхать листья.

Из всех цитокининов наибольший коэффициент размножения наблюдался при использовании в качестве гормона 6-БАП. (табл. №5). Однако при этом происходили изменения в морфологии побегов: междоузлия побегов сократились, уменьшились размеры листьев, изменилась их форма. Кроме того, у половины побегов при концентрации 1.0 мг/л 6-БАП наблюдалась витрификация побегов (остекленение). При пересаживании растений-регенерантов на среды с меньшей концентрацией не все растения принимали нормальную морфологию.

Кинетин оказывал стимулирующее действие на регенерационные процессы в широком диапазоне концентраций (от 1.0 до 5.0 мг/л). Под его действием коэффициент размножения составил от 1,6 до 2,4. Растения-регенеранты были нормальной морфологии и за пассаж выросли на 1,9 – 2,3 см (табл. №6).

Полученные результаты продемонстрировали нецелесообразность использования в качестве цитокининов зеатина, так как индуцировать регенерацию побегов удалось не у всех эксплантов, стебли растений были очень тонкие, намного уменьшались размеры листьев.

Нецелесообразным оказалось использование гибберелловой кислоты на этапе вытягивания побегов перед укоренением. Линейный рост при концентрации 0,2 мг/л составил 0,3 см, а при 0,4 мг/л – 1,1 см (табл. №6) в то время как при использование кинетина линейный рост составил от 1,9 до 2,3 см. При выращивании побегов на среде с кинетином не требуется помещать их на среду с другим составом для вытягивания побегов, так как они и так уже с вытянутыми междоузлиями. Таким образом, нам удалось сократить процесс микроклонального размножения на один этап.

Общее количество растений-регенерантов можно повысить, если применить в сочетании два метода: культуру пазушных почек и выращивание растений из первичного каллуса. В качестве доноров экспланта при получении каллуса использовали корни, гипокотиль и семядольные листья. Изучали два варианта питательных сред, в составе которых присутствовали регуляторы роста 2,4-Д, ИУК и 6-БАП, а также ЩУК и повышенные концентрации сахарозы. Каллус индуцировали в условиях темноты. Наличие ауксина и цитокинина явилось обязательным условием для получения активно растущей каллусной культуры, так как на среде без экзогенных регуляторов роста процессы пролиферации не происходили. Частота индукции (возникновения) каллуса на всех изучаемых средах составила 100 %. Однако темпы пролиферации каллуса различались и зависели как от состава среды так и от экспланта. Так на семядольных листьях каллус вообще не возникал, на корнях наблюдалось возникновение небольших очагов. На гипокотиле образовывался хорошо растущий, морфогенный каллус. Побеги полученные в каллусной культуре переносили на питательную среду другого состава и на свет.

**Выводы**

1. Оптимальным стерилизующим средством на этапе введения в культуру следует считать «Лизоформин» в концентрации 3 %.При его использовании наблюдалась 100 % стерилизация семян.

2. Экспериментально доказано, что из всех использованных цитокининов лучшим индуктором побегообразования является кинетин. Он оказал стимулирующее действие на регенерационные процессы в широком диапазоне концентраций (от 1 мг/л до 5 мг/л).

3. Использование кинетина позволило сократить процесс клонального микроразмножения на один этап, так как не требовалось помещать растения перед укоренением на среду для вытягивания.

4. Наибольший коэффициент размножения наблюдался при использовании 6-БАП при концентрации 0,1 мг/л.

5. Эффективным оказалось сочетание метода культуры пазушных почек и выращивание растений из первичного каллуса. В этом случае регенеранты, полученные первым методом, выступают в качестве растений- доноров эксплантов, используемых для получения каллуса.

*Таким образом, результаты проведенных исследований показывают реальную возможность использования методов биотехнологии для введения в культуру и сохранения вида. Считаем необходимым продолжить исследования по данной тематике.*

**Список литературы**

1. Борисова А. Г. Род Calophaca Fisch. – Майкараган // Флора Юго-Востока европейской части СССР. Вып. 5. М.; Л.: Гос. изд-во с.-х. и колх. - коопер. лит-ры, 1931. С. 585.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе. Учебное пособие. М.: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.
3. Васильева Л. И. Род Майкараган – Calophaca Fisch. Ex DC. // Флора европейской части СССР. Т. 6. Л.: Наука, 1987. С. 45-47.
4. Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохра нении генофонда растений.: монография/Барнаул: Издательство Алтайского университета,2004.с.93-131.
5. Володин В.,Филиппова В. Микроклональное размножение как способ сохранения редких и исчезающих видов растений//Бюллетень Главного Ботанического сада. М.: Наука,2004. с.125-127.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - М.: Колос, 1979. 416с.
7. Красная книга Волгоградской области. Т.2. Волгоград: Волгоград, 2006. 236с.
8. Камелин Р.В. Биотехнологическое разнообразие и интродукция растений

//Растительные ресурсы, 1997, Т.33. Вып. 3. С.1 – 11.

1. Камелин Р. В. Майкараган волжский - Calophaca wolgarica (L. fil.) Fisch. ex DC. // Красная книга РСФСР (растения). М.: Росагропромиздат, 1988. С. 184-185.
2. Лабораторно-практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии.

Методические указания. М.: Издательство МСХА, 1996. 90 с.

1. Молканова О.И. Сохранение генофонда ценных растений с помощью культуры

тканей// Тезисы докл. VIII междунар. конф. – Саратов, 2003. – С.261.

1. Сагалаев В. А. К флоре степей правобережной части Волгоградской области // Бюл. Моск. об-ва исп. прир. Отд. биол. 1988. Ц93. вып. 3. С. 104-113.
2. Сагалаев В. А., Сурагина С. А., Игнатов С. М., Веденеев А. М., Баштаник Д. Ф. Перечень объектов растительного мира, рекомендуемых для занесения в Красную книгу Волгоградской области // Доклад о состоянии окружающей среды Волгоградской области в 2003 году. Волгоград, 2004г. С. 236-248.
3. Сагалаев В. А., Веденеев А. М., Сурагина С. А., Игнатов С. М., Баштаник Д. Ф. Аннотированный список редких и нуждающихся в охране видов растений и грибов Волгоградской области (материалы для Красной книги Волгоградской области) // Государственный доклад «О состоянии окружающей среды Волгоградской области в 2003 году». Волгоград, 2004г. С. 247-267.
4. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, С.В. Дегтярев, Г.М. Артамонова и др. М.: изд-во МСХА, 1995, 310 с.
5. Связева О. A. Calophaca wolgarica (L. fil.) DC. - Майкараган волжский // Ареалы деревьев и кустарников СССР. Т. 3. Л.: Наука, 1986. С. 26 [карта 11Д].
6. Шипчинский Н. В. Род Майкараган – Calophaca Fisch. // Деревья и кустарники СССР. Т.4. Москва – Ленинград, издательство Академии наук СССР, 1958. С. 197-198.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures// Phsiol. Plant.1962.Vol. 15, N 3. P. 473-497.

**ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ДАННЫЕ.**

**17. 05. 07.**

Закладка транссект.

Цель: определить состояние популяции Ириса Низкого

Методом закладки транссект для регионального кадастра редких видов растений.

Лимитирующий фактор: опушка леса, грунтовая дорога, пахота.

Координата:

N 48 40 949

E 043 27 388 Высота 519

Исследуемый вид: **Ирис Низкий.**

Географическое положение: Волгоградская область, Калачевский район

Правый берег реки Дон, склон балки.

Микрорельеф: надпойменная терраса.

Мезорельеф: склон балки.

Тип почв: лугово-каштановые.

Структура: плотная.

Механический состав: глинистый.

Мощность подстилки: степной войлок 0,5 см. Мощность гумусового горизонта, 40 см.

Условие увлажнения и уровень грунтовых вод: увлажненная, 100-150 м.

Исследуемый вид: Ирис низкий.

Площадь популяции изучаемого вида: 800м².

Длина территории популяции по наиболее длинной оси, 40м

Ширина территории популяции по наиболее длинной оси, 20 м.

2-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 65%-5б | Колошение |
| 2.Мышиный  горошек | 15%-2б | Бутонизация Вегетация |
| 3.Мятлик живородящий | 8%-2б | Колошение |
| 4.Молочай  прутьевидный | 4%-1б | Вегетация |

4-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 50%-4б | Колошение |
| 2.Мышиный  горошек | 15%-2б | Бутонизация Вегетация |
| 3. Лапчатка  Серебристая | 15%-2б | Бутонизация Вегетация |

6-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 59%-5б | Колошение |
| 2.Мятлик  живородящий | 20%-3б | Колошение |
| 3.Ястребинка волосистая | 10%-2б | Вегетация |
| 4.Лапчатка серебристая | 5%-1б. | Вегетация |

8-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 64%-5б | Колошение |
| 2.Мышиный  горошек | 12%-2б | Бутонизация Вегетация |
| 3.Мятлик живородящий | 4%-1б | Колошение |
| 4.Молочай  прутьевидный | 2%-1б | Вегетация |

10-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 40%-5б | Колошение |
| 2.Мышиный  горошек | 12%-2б | Бутонизация Вегетация |
| 3.Мятлик живородящий | 10%-2б | Колошение |

Спектр возрастных состояний изучаемого вида ( путем прямого подсчета)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| %п /п | Проростки, p | Ювенильные,  j | Имматурные  im | Виргинильные,  v | Генеративные,  g | Сенильные,  s | Всего |
| 1. | 6 | 30 | 6 | 5 | - | - | 47 |
| 2. | 6 | 31 | 7 | 6 | - | 1 | 50 |
| 3. | 10 | 8 | 15 | 3 | 10 | - | 46 |
| 4. | 6 | 18 | 27 | 4 | 13 | - | 68 |
| 5. | 4 | 24 | 34 | 3 | 13 | 1 | 79 |
| 6. | 2 | 10 | 10 | 2 | 9 | 1 | 34 |
| 7. | 2 | 8 | 4 | 1 | 10 | - | 25 |
| 8. | 9 | 17 | 28 | 6 | 36 | 1 | 97 |
| 9. | 4 | 9 | 6 | 2 | - | - | 21 |
| 10. | 7 | 7 | 3 | 1 | 1 | - | 19 |

Морфометрические измерения.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №п/п | Высота | Кол-во листьев | Диаметр | Длина листа | Ширина листа | Высота цветоноса | Диаметр  цветка | Кол-во цветков на раст. | Высота цветка |
| 1.1р | 26 | 12 | 7 | 27  19  15  18  5 | 1,3  1  0,9  1  0,5 | 20 | 4  4,5  3,8 | 3 | 2  2,3  1,9 |
| 2р | 21 | 14 | 7,5 | 6  17  16  18  17,5 | 0,5  0,7  1  0,9  1 | 17 | 4,1  3,9 | 2 | 2,2  2,2 |
| 2. 1р | 21 | 16 | 6 | 21  16  16,5  11  13 | 1  1  1,5  1  1 | 16 | 4,3  4,2 | 2 | 2,1  2,2 |
| .2р | 20,5 | 15 | 5 | 15,5  16  14  12  12 | 0,9  0,8  0,5  0,9  0,6 | 19 | 3,9 | 1 | 2,4 |
| 3.1р | 18 | 13 | 6,5 | 16  15  12  11,5  12,5 | 0,9  1  0,8  0,6  0,7 | 12,5 | 3,7  3,9  4,1 | 3 | 2,5  2,4  2,2 |
| 2р | 15 | 13 | 7 | 15,5  16  12  14  11 | 1  0,9  0,8  0,6  1 | 15 | 3,8  4,2 | 2 | 2  2,1 |
| 4.1р | 19 | 10 | 4,5 | 13  18  19  8  17 | 1  1,5  1,8  1,5  1,8 | 11 | 3,8  4,4  4,3 | 3 | 2,5  1,9  3 |
| 2р | 19,5 | 9 | 4,6 | 16  13  17  7  8 | 1,1  1,1  1,1  0,5  0,6 | 10,7 | 4  4,1 | 2 | 2,2  1,2 |
| 5.1р | 13 | 14 | 4,5 | 14,2  13  12,8  13,1  10,5 | 0,8  1  1  1,1  0,9 | 13,5 | 4,1  4  3,9  3,8 | 4 | 2,3  2,9  2,7  1,9 |
| 2р | 15,2 | 16 | 4,7 | 15,3  15,2  13,2  11,2  8,1 | 0,7  1  1  1  0,9 | 11,2 | 3,7 | 1 | 2,5 |
| 6.1р | 16,1 | 18 | 9,8 | 13,3  15,4  10,5  9,4  9,2 | 1  1,1  0,8  0,6  1,3 | 12 | 4  4,1  3,7 | 3 | 2  1,9  2,3 |
| 2р | 13,7 | 18 | 5,5 | 10,5  12,5  12  12,5  13 | 0,7  0,9  10,7  0,9 | 14 | 3,8  4  5,1  3 | 4 | 2,1  1,9  2  2,7 |
| 7.1р | 15 | 17 | 5 | 13,5  15  11,7  10  15 | 1,5  1  1,5  0,6  0,5 | 12 | 3,7 | 1 | 2,1 |
| 2р | 13,1 | 15 | 4 | 12,5  13  10,5  9  11 | 0,9  0,7  0,8  1,1  1 | 8 | 4,2  3,9  3,7 | 3 | 2,8  2,5  2,3 |
| 8.1р | 19 | 15 | 5,7 | 19,5  13,2  15  14  10 | 1,5  1,6  0,5  1  0,7 | 12,5 | 4,5  4  3,9 | 3 | 1,5  1,8  2,5 |
| 2р | 16 | 13 | 6 | 14,5  11  10  9  15,5 | 1,2  1,4  1  1,9  1,1 | 12 | 4,5  3,2 | 2 | 2  2,3 |
| 9.1р | 15,6 | 16 | 6,2 | 15  11  8  7  12 | 1,3  1,3  1,3  1  0,9 | 11 | 3,5 | 1 | 2,9 |
| 2р | 13,4 | 17 | 8,1 | 11  6,5  9  8,5  11,2 | 0,8  1  0,9  0,8  0,9 | 10 | 2,8  3,4 | 2 | 1,5  1,9 |
| 10.  1р | 19,6 | 16 | 5,4 | 18,5  15  14,4  14  9,5 | 1,7  1,5  1,3  1,51 | 14 | 3  2  2,3 | 3 | 1,7  1,5  2 |
| 2р | 18,7 | 15 | 2,3 | 18,5  18,4  12  16  15 | 1  1,21,11,1  1,3 | 16 | 2,9 | 1 | 3,5 |

Семенная продуктивность.

2-я площадка

1-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 8 | 1 | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 8 | 1 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | 4,5 | 1,6 | 12 | 26 | 1 |

2-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | | | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 8 | 1 | | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 8 | 1 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 6 | | 1,8 | 38 | | | 14 | 0 |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

4-я площадка

Семенная продуктивность 1-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | | Кол-во недоразвитых  плодов | %  плода | | Длина плода, см | | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт | |
|  | |  |  | |  | |  | | |  |  | |  | |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 3 | 1 | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 9 | 2 | | | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 4,5 | | 1,7 | 31 | | | 14 | | 0 |

2-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | | | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 3 | 1 | | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 9 | 3 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 4,3 | | 1,6 | 31 | | | 24 | 0 |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

6-я площадка

Семенная продуктивность 1-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | | Кол-во недоразвитых  плодов | %  плода | | Длина плода, см | | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт | |
|  | |  |  | |  | |  | | |  |  | |  | |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 6 | 1 | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 14 | 1 | | | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 4,3 | | 1,4 | 18 | | | 35 | | 0 |

2-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | | | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 6 | 1 | | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 14 | 0 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 4,1 | | 1,7 | 14 | | | 34 | 0 |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

8-я площадка

Семенная продуктивность 1-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | | Кол-во недоразвитых  плодов | %  плода | | Длина плода, см | | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт | |
|  | |  |  | |  | |  | | |  |  | |  | |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 1 | 1 | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 7 | 2 | | | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 5,5 | | 1,7 | 20 | | | 36 | | 0 |

2-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | | | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 1 | 0 | | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 7 | 2 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 0 | | 0 | 0 | | | 0 | 0 |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

10-я площадка

Семенная продуктивность 1- е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | | Кол-во недоразвитых  плодов | %  плода | | Длина плода, см | | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт | |
|  | |  |  | |  | |  | | |  |  | |  | |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 3 | 1 | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 6 | 3 | | | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 5,2 | | 2,1 | 36 | | | 32 | | 0 |

2-е растение

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кол-во полноценных плодов | Кол-во недоразвитых  плодов | | | %  плода | Длина плода, см | Ширина плода,  см | | | Число полноценных семян в плоде, шт | Число неполноценных семян в плоде, шт | | Число поврежденных  Вредителями в плоде,  шт |
| |  |  | | --- | --- | | На  площадке | растение | | 3 | 1 | | | |  |  | | --- | --- | | На площадке | растение | | 6 | 1 | | |  | | --- | | 1 | | 2 | | 3 | | | 5 | | 1,9 | 32 | | | 21 | 0 |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

Описание почвенного разреза.

15.05

2м /80см

Географическая привязка: балка Красная, верхняя часть склона, к югу от моста через реку.

Рельеф:

Мезорельеф: склон балки.

Микрорельеф: равнинный участок, верхняя часть балки, правый берег реки Дон.

Ассоциация: груднично-ястребинно-типчаковая.

Окружение: С юга грунтовая дорога, на севере мост через реку Дон,

На востоке балка, на западе поросль дуба черешчатого.

Глубина разреза 155см.

Хар-ка слоев

А- степной войлок 0- 0,5см

А¹-гумусово-акумулятивный, уплотненный, пылеватая, суглинок, новообразований не обнаружено, включения: корни растений, хар-ка перехода: плавная.

А²-горизонт вымывания, структура плотная, пылеватая, суглинок, новообразования: каолин, включения: корни растений, переход постепенный.

В-вмывание, в верхней части плотная, в нижней уплотненная, зернистая, мех. состав:

глинистый, новообразования: каолин, оксид железа, включения: корни растений, переход плавный.

ВС-промежуточный между материнской породой,структура плотная, пылеватая, мех. состав: глинистый, новообразования: каолин, включения: корни растений.

С- материнская порода.

Мощность слоев:

А¹-0,5-29,5

А²-29,6-59,5

В-59,6-112,5

ВС-112,6 и глубже.

Окраска:

А- степной войлок

А¹-коричнево-серая

А²-темно-коричневая

В-коричневая с темными оттенками

ВС-желтая.

Влажность:

А¹-свежая

А²-увлажненная

С-увлажненная

ВС-увлажненная

|  |
| --- |
| А |
| А¹ |
| А² |
| В |
| ВС |
| С |

**06.07.07**

**Определение состояния ценопопуляции Ириса Низкого(Iris pumila)**

**Путем закладки транссект.**

Исследуемый вид: Ирис Низкий.

Географическое положение: Волгоградская область, Калачевский район,

Правый берег реки Дон, Красная балка.

Микрорельеф: надпойменная терраса.

Мезорельеф: склон балки.

Тип почв: лугово-каштановые.

Мощность подстилки: 0,7см.

Структура плотная

Механический состав: легкий суглинок.

Площадь ценопопуляции: 300м².

Длина территории ценопопуляции по наибольшей длинной оси: 20м.

Ширина территории ценопопуляции по наибольшей длинной оси: 18м.

1-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 50%-4б | Колошение |
| 2.Лапчатка серебристая | 4%-1б | Бутонизация |
| 3.Веснянка | 4%-1б | Вегетация после цветения |
| 4.Люцерна желтая | 1%-1б | Бутонизация  Цветение |
| 5.Полынь | 1%- 1б. | Вегетация. |

Общее покрытие: 5б- 100%

Проективное покрытие изучаемого вида: 4б- 40%

Спектр возрастных состояний:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| %п /п | Проростки, p | Ювенильные,  j | Имматурные  im | Виргинильные,  v | Генеративные,  g | Сенильные,  s | Всего |
| 1. | 9 | 13 | 10 | 3 | - | - | 33 |

Морфометрические измерения

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №п/п | Высота | Кол-во листьев | Диаметр | Длина листа | Ширина листа | Высота цветоноса | Диаметр  цветка | Кол-во цветков на раст. | Высота цветка |
| 1.1р | 13 | 14 | 8 | 13,9  9  7,8  8  12 | 0,5  0,4  0,3  0,4  0,5 | - | - | - | - |
| 2 р | 11 | 12 | 7,8 | 9  8,6  7  9,5  10,5 | 0,5  0,4  0,5  0,6  0,3 | - | - | - | - |

Вывод: растения находятся в угнетенном виде, под воздействием антропогенных и абиотических факторов.

2-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 70%-5б | Колошение |
| 2.Скабеоза иссетская | 13%-2б | Бутонизация |
| 3.Молочай  прутьевидный | 7%-2б | Вегетация |
| 4.Ястребинка волосистая | 6%-2б | Вегетация |
| 5.Лапчатка  серебристая | 4%- 1б. | Вегетация. |

На данной площадке исследуемого вида не обнаружилось.

3-я площадка

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доминирующие  виды. | Покрытие | Фенофаза |
| 1.Типчак | 20%-3б | Колошение |
| 2Люцерна  желтая | 4%-2б | Цветение  вегетация |
| 3.Тысячалистник | 6%-2б | Цветение |
| 4.Грудница | 6%-2б | Бутонизация |
| 5.Перловник | 3%- 1б. | Плодоношение |
| 6.Мятлик живородящий | 1%- 1б. | Плодоношение |
| 7.Полынь | 1%-1б | Вегетация |
| 8. Молочай  прутьевидный | 1%-1б. | Вегетация |

Общее проективное покрытие: 90%

Проективное покрытие вида: 50%

Спектр возрастных состояний:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| %п /п | Проростки, p | Ювенильные,  j | Имматурные  im | Виргинильные,  v | Генеративные,  g | Сенильные,  s | Всего |
| 3. | 10 | 11 | 13 | 5 | 4 | - | 43 |

Морфометрические измерения

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №п/п | Высота | Кол-во листьев | Диаметр | Длина листа | Ширина листа | Высота цветоноса | Диаметр  цветка | Кол-во цветков на раст. | Высота цветка |
| 3.1р | 26 | 20 | 7,8 | 14  26  17  15  16,5 | 1  0,9  1,5  0,5  0,7 | - | - | - | - |

Вывод: растения на данной площадке чувствуют себя превосходно.

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 | - |

Факторы антропогенного воздействия.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реакреация | Террасирование склонов | Выпас скота | сенокошение | пожары | Строительство | Сбор на букеты | Загрязнение отходами | Разработка мела |
| 1 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - |

**Микроклональное размножение. Изолирование зародышей**

Семена Ботанического Сада - круглые 5-6мм

Семена, привезенные с Калачевской популяции – мелкие 4мм.

Зародыши с белым эндоспермом.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Дата закладки | Дата наблюдений | №п/п | Кол-во  зародышей | Семена, привезенные с Калачевской популяции (незрелые). Показания |
| 31.07.07 | 01.08.07 | 1.1 | 3 | 1 набух |
|  |  | 1.2 | 3 | 2 набухли |
|  |  | 1.3 | 2 | Набухли оба |
|  |  | 1.4 | 2 | 1 набух |
|  |  | 1.5 | 2 | Набухли оба |
|  |  | 1.6 | 2 | Без изменений |
|  |  | 2.1 | 4 | Без изменений |
|  |  | 2.2 | 5 | 1 набух |
|  |  | 9.1 | 3 | Зеленый проросток 25мм с белым корешком |
|  |  | 9.2 | 2 | Набухший светло-зеленый проросток с корешком в 1мм.  Зеленый проросток с белым корешком. |
|  |  | 9.3 | 5 | 1.Без изменений  2.Без изменений  3.Зародыш набух  4Зародыш набух  5.Без изменений |
| 27.07.07 | 01.08.07 | 2.1 | 2 | Без изменений |
|  |  | 1.1 | 3 | Проросток в 2см,у основания белый, у конца светло-зеленый с набухшим в 3мм корешком. |
|  |  | 4.1 | 2 | Без изменений |
|  |  | 6.8 | 3 | Без изменений |
|  |  | 6.1 | 2 | Без изменений |
|  |  | 5.1 | 3 | Без изменений |
|  |  | 3.1 | 2 | Без изменений |
|  |  | 8.1 | 3 | 1 набух |
|  |  | 7.1 | 4 | Проросток белого цвета с корешком 0,5см, набухший у основания. |
|  |  | 2.2 | 2 | Без изменений |
|  |  | 4.2 | 2 | Проросток в 2см, у основания светло-зеленый с корешком в 7см |
|  |  | 6.9 | 3 | Без изменений |
|  |  | 6.2 | 2 | Без изменений |
|  |  | 1.2 | 2 | Проросток в 3см у основания белый, на конце светло-зеленый с белым корешком в 2,5мм. |
|  |  | 5.2 | 3 | Без изменений |
|  |  | 3.2 | 2 | 1 набух |
|  |  | 7.2 | 3 | Зеленый проросток 5см с корешком в 1,5см |
|  |  | 2.3 | 3 | Без изменений |
|  |  | 6.10 | 2 | Без изменений |
|  |  | 6.3 | 4 | Без изменений |
|  |  | 5.3 | 3 | Без изменений |
|  |  | 3.3 | 2 | Без изменений |
|  |  | 2.4 | 2 | Без изменений |
|  |  | 2.5 | 3 | Без изменений |
|  |  | 6.4 | 2 | 1 набух |
|  |  | 6.5 | 3 | Без изменений |
|  |  | 6.6 | 2 | 1 набух |
|  |  | 6.7 | 3 | Без изменений |
|  |  | 5.4 | 2 | 1 набух |
|  |  | 5.5 | 3 | Без изменений |
|  |  | 5.6 | 3 | 1 набух |
|  |  | 3.4 | 2 | 1 набух |
|  |  | 3.5 | 3 | 1 набух |
| 31.07.07 | 02.08.07 | 1.3 | 2 | Проросток 0,1см светло-желтый |
|  |  | 1.4 | 2 | Набухли оба |
|  |  | 1.5 | 2 | Набухли оба |
|  |  | 1.6 | 2 | 1 набух |
|  |  | 1.1 | 3 | 2 набухли |
|  |  | 1.2 | 3 | 2 набухли |
|  |  | 2.2 | 5 | 1 набух |
|  |  | 2.1 | 4 | Без изменений |
|  |  | 9.2 | 2 | 2 проростка: 1)0,9мм с корешком в 0,5мм  2)набухший зеленый в 0,2мм |
|  |  | 9.1 | 3 | Проросток с 2-мя листочками в 2см и корешком в 4см. |
|  |  | 9.3 | 5 | Без изменений |
|  | 03.08.07 | 2.1 | 4 | Зародыш белый, прямой, до 3мм |
|  |  | 2.2 | 5 | Зародыш белый, прямой, до 3мм |
|  |  | 1.1 | 3 | Без изменений |
|  |  | 1.2 | 3 | Без изменений |
|  |  | 1.3 | 2 | Без изменений |
|  |  | 1.4 | 2 | Без изменений |
|  |  | 1.5 | 2 | Без изменений |
|  |  | 1.6 | 2 | Без изменений |
|  | 17.08.07 | |  |  |  | | --- | --- | --- | | 2.1 | 4 | Без изменений | | 2.2 | 5 | 1 без изменений, 2-й до 7мм, коричневого цвета | | 1.1 | 3 | Набухли оба | | 1.2 | 3 | Без изменений | | 1.3 | 2 | Без изменений | | 1.4 | 2 | Набухли оба | | 1.5 | 2 | Без изменений | | 1.6 | 2 | Без изменений | | |  |  | | --- | --- | | 4 | Без изменений | | 5 | 1 без изменений, 2-й до 7мм, коричневого цвета | | 3 | Набухли оба | | 3 | Без изменений | | 2 | Без изменений | | 2 | Набухли оба | | 2 | Без изменений | | 2 | Без изменений | | |  | | --- | | Без изменений | | Проросток до 7мм коричневого цвета | | Набухли оба | | Без изменений | | Без изменений | | Набухли оба | | Без изменений | | Без изменений | |
|  | 24.08.07 | |  |  |  | | --- | --- | --- | | 2.1 | 4 | Без изменений | | 2.2 | 5 | 1 без изменений, 2-й до 7мм, коричневого цвета | | 1.1 | 3 | Набухли оба | | 1.2 | 3 | Без изменений | | 1.3 | 2 | Без изменений | | 1.4 | 2 | Набухли оба | | 1.5 | 2 | Без изменений | | 1.6 | 2 | Без изменений | | |  |  | | --- | --- | | 4 | Без изменений | | 5 | 1 без изменений, 2-й до 7мм, коричневого цвета | | 3 | Набухли оба | | 3 | Без изменений | | 2 | Без изменений | | 2 | Набухли оба | | 2 | Без изменений | | 2 | Без изменений | | |  | | --- | | Без изменений | | Без изменений | | 2 зеленых в 4мм проростка. | | Без изменений | | Без изменений | | Без изменений | | Без изменений | | Без изменений | |
|  |  |  |  | ВРБС |
| 31.07.07 | 01.08.07 | 3.1 | 4 | Набухли |
|  |  | 3.2 | 7 | Без изменений |
|  |  | 3.3 | 8 | 2 набухли |
|  |  | 3.4 | 6 | Без изменений |
|  |  | 3.5 | 6 | Без изменений |
|  | 02.08.07 | 3.1 | 4 | Без изменений |
|  |  | 3.2 | 7 | 1 набухло |
|  |  | 3.3 | 8 | Без изменений |
|  |  | 3.4 | 6 | 3 набухли |
|  |  | 3.5 | 6 | 1 набух |
|  | 03.08.07 | 3.1 | 4 | Зародыши белые, прямые, до 5мм |
|  |  | 3.2 | 7 | Зародыши белые, прямые, до 5мм |
|  |  | 3.3 | 8 | Зародыши белые, прямые, до 5мм |
|  |  | 3.4 | 6 | Зародыши белые, прямые, до 5мм |
|  |  | 3.5 | 6 | Зародыши белые, прямые, до 5мм |
|  | 17.08.07 | 3.1 | 4 | 1)До 10мм, в виде изогнутой палочки, светло-зеленого цвета  2)До 4мм, светло-зеленый, толстый  3)Листочек до 20мм с корешком.  4) 6мм, светло-зеленый, тонкий |
|  |  | 3.2 | 7 | Без изменений |
|  |  | 3.3 | 8 | 4 зародыша набухли, со светло-зеленым кончиком, до 5мм, толстый,  4 без изменений |
|  |  | 3.4 | 6 | Без изменений |
|  |  | 3.5 | 6 | 3 без изменений, 1-й проросток в виде зеленой пластинки в 4мм, 2-й-2 листочка до 30мм. |
|  | 24.08.07 | 3.1 | 7 | 1)4 листочка до 4,5см с длинным корешком  2),3),4) Без изменений |
|  |  | 3.2 | 7 | Без изменений |
|  |  | 3.3 | 8 | Без изменений |
|  |  | 3.4 | 6 | 1-й проросток зеленого цвета, в виде розетки из белых листьев, до 10см, остальные без изменений. |
|  |  | 3.5 | 6 | Без изменений |