

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ДЕТСКИЙ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
МИНИСТЕРСТВА ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
МАОУ «Центр образования № 35» городского округа г. Уфа

**Введение в культуру *in vitro* лука поникающего *Allium nutans* L. в рамках
сохранения биоразнообразия флоры Республики Башкортостан**

Ишбирдина Назгуль Айратовна, 9 класс
Ишбирдина Айгуль Айратовна, 9 класс

Научный руководитель:
Ишмуратова М.М. проф., д.б.н.,
проф. каф. биологии и экологии
Института природы и человека
Уфимского университета науки и технологий

Уфа – 2024 г.

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Обзор литературы (Особенности биологии лука поникающего и методы сохранения редких видов растений): Биотехнология как метод сохранения биоразнообразия редких видов растений Таксономический статус Распространение вида Жизненная форма. Экология Онтогенез. Феноритмы. Химический состав. Применение. Популяционные исследования. Лимитирующими факторами. Принятые меры охраны Селекция. Необходимые меры охраны.	4
Глава 2. Методика исследования	7
Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение	9
Выводы	16
Заключение	16
Список использованной литературы	17
Приложения	19-27

Введение

На фоне усиления антропогенного воздействия сокращается видовое разнообразие, сокращается численность особей в популяциях, виды становятся редкими. В связи с этим, охрана биоразнообразия, сохранение редких и исчезающих видов является актуальной задачей современности. Для решения этих задач в Российской Федерации приняты «Национальная стратегия сохранения биоразнообразия России» [1], «Стратегий сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов» [2, 3] и Красные книги разного уровня (федеральная и региональные).

Летом 2023 года мы с родителями выезжали в районы Башкирского Зайралья и были недалеко от деревни Туркменово (Республика Башкортостан). Рядом с деревней в степи росло много интересных растений, среди которых был лук – лук понижающий. Нам дали его попробовать, он оказался очень вкусным. Местные жители рассказали, что раньше этого лука было много, его даже собирали, а сейчас встречается он редко, т.к. ведутся разработки территории. Чуть позже мы узнали, что лук понижающий - это редкий вид растения.

Наша школа сотрудничает с Уфимским университетом науки и технологий и мы посещаем кружок «Биотехнология растений». Мы решили внести свой вклад в сохранение этого удивительного растения и размножить его методом культуры тканей, чтобы потом пересадить в те места, где он растет.

Известно, что многие редкие виды растений являются ресурсными, и ввиду того, что их широко собирали и использовали, они стали редкими и исчезающими. Для сохранения таких видов существует несколько подходов - введение их в культуру, а также сохранение в природных популяциях как генетических резерватов – источников для дальнейшей селекции.

К таким ресурсным видам относится лук понижающий *Allium nutans* L. – редкий вид флоры Республики Башкортостан (РБ), внесенный в Красную книгу РБ (2021) [4] с категорией редкости 3 – редкий вид.

Allium nutans нуждается в разработке различных методов сохранения *ex situ* и *in situ* – охрана в естественных местах обитания и разработка различных методов размножения, включая интродукцию и культуру *in vitro*.

В РБ лук понижающий охраняется на территориях памятников природы «Гора Куркак хр. Куркак», «Участок хр. Крыктытау с вершинами Бабай, Кушай и Хандык». Вид в настоящее время выращивается во многих ботанических садах. Успешно культивируется в ГБС РАН (г. Москва), СибБ ТГУ (г. Томск), ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск), БСИ УНЦ РАН (г. Уфа). На основе *A. nutans* в России выведено несколько пищевых сортов («Симбир», «Грин», «Карлик», «Лидер», «Очарование»). Введение в культуру лука понижающего позволит снизить нагрузку на его природные популяции и тем самым сохранить в естественной среде.

Исследования с луком понижающим в условиях культуры тканей (*in vitro*) и *ex vitro* в лабораторных условиях и в полевых условиях начаты нами в 2024 году, описаны некоторые особенности биологии вида *ex vitro* [5].

Цель исследования: изучить особенности биологии в условиях культуры тканей и в почвенных условиях растений лука поникающего с перспективой его дальнейшей реинтродукции.

Задачи:

1. Ввести в культуру *in vitro* семена лука поникающего.
2. Оценить условия стерилизации семян в условиях *in vitro*.
3. Подготовить растения лука поникающего для перевода в почвенный субстрат.
4. Исследовать темпы развития растений лука поникающего в условиях *in vitro* и *ex vitro*.
5. Проанализировать феноритмы растений лука поникающего в почвенных условиях (*ex vitro*).

Глава 1. ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ ЛУКА ПОНИКАЮЩЕГО И МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

К настоящему времени остро стоит вопрос сохранения биоразнообразия в целом, и сохранение редких и исчезающих видов с использованием широкого спектра методов. Особенный упор в этом вопросе стоит направить на редкие и исчезающие виды. В Российской Федерации (РФ) в рамках Стратегий сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов (Приказ МПР РФ от 06.04.2004; Распоряжение Правительства РФ от 17.02.2014) [2, 3] существуют два основных крупных направления [6]:

1. Разработка региональных стратегий сохранения биоразнообразия, компонентами которых являются выбор объектов охраны и создание Красных книг (КК), создание ООПТ (территориальная охрана);
2. Разработка видовых стратегий охраны, базирующихся на глубоком изучении биологии и стратегии жизни охраняемых видов, на выборе подходов, методов и способов сохранения.

Биотехнология как метод сохранения биоразнообразия редких видов растений

В Стратегии сохранения редких видов России [2, 3] выделяют различные методы сохранения растений: *in situ* (в естественных местах обитания, на охраняемых и иных территориях; внесение в Красные книги); *ex situ* (выращивание в ботанических садах, в культуре *in vitro*, сохранение в банках семян). Использование метода *in vitro* эффективно и очень компактно. Преимуществами метода являются следующие моменты - колбы занимают меньше места и растительный эксплант (семена, луковички, почки и побеги) находится в стерильных условиях. Метод удобен для размножения растений с вегетативным способом размножения. Из плюсов также можно выделить: отсутствие влияния внешних факторов, возможность использования метода в любое время года, при этом скорость произрастания побегов выше, чем в методе *ex situ*.

Для редких и ресурсных видов растений метод *in vitro* наиболее подходящий в связи с возможностью подбора состава питательной среды для выращивания растений. Кроме этого, метод *in vitro* позволяет сохранить ценный в генетическом плане материал редких видов растений и в асептических условиях его размножить. Так же метод может быть перспективным в рамках использования клеточной селекции для выведения новых форм и сортов редких ресурсных видов растений.

Именно поэтому мы решили использовать данный метод для размножения редкого вида Республики Башкортостан. Лук поникающий – редкий вид флоры Республики Башкортостан, внесенного в Красную книгу РБ (2021) [4] с категорией редкости 3 – редкий вид, Красную книгу Челябинской области (2017) [7], охраняется в ряде других регионов азиатской части РФ (Курганская, Тюменская, Томская области).

Таксономический статус лука понижающего

Allium nutans L. – лук понижающий, слизун, род *Allium*, сем. *Alliaceae* (<https://www.plantarium.ru/page/view/item/2089.html>).

Распространение вида

Казахстанско-западносибирский лесостепной вид, распространенный на Южном Урале, в Западной и Восточной Сибири, Средней Азии (в Казахстане). В РБ известен в 16-ти пунктах в Абзелиловском и Баймакском районах. На Южном Урале проходит западная граница его ареала.

Жизненная форма. Экология вида

Лук понижающий по жизненной форме относится к многолетним, рыхлодерновинным партикулирующим неявнополцентрическим корневищно-луковичным видам с горизонтально нарастающим корневищем [8]. Ксеромезофит. Встречается в степях, на луговых и каменистых склонах и скалах. Вид произрастает от не полноразвитых (на скальных уступах и по вершинам холмов) до полноразвитых (на шлейфах и западинах) выщелоченных тяжелосуглинистых черноземах, изредка на органогенно-щебнистых почвах, иногда заселяет нарушенные местообитания.

Онтогенез

Полный онтогенез (индивидуальное развитие) лука длительный, включает 4 периода (эмбриональный, прегенеративный, генеративный и постгенеративный) и 13 возрастных состояний (семена, проростки, ювенильное, имматурное, виргинильное, молодое генеративное, средневозрастное генеративное, старое генеративное, субсенильное, сенильное, отмирающее). В молодом генеративном состоянии лука понижающего уже формируется рыхлая дерновина [8]. Она имеет форму полукруга из-за неравномерного нарастания побегов и строго фиксированного положения боковых почек. Дальнейшее ветвление, рост корневища от центра к периферии и его отмирание с базального конца сопровождаются сначала разрастанием дерновины. Самые крупные дерновины могут достигать 1 м в диаметре. Побеги в дерновине лука понижающего располагаются по периферии, в центре же дерновины, вследствие отмирания корневищ, образуется свободное пространство, которое заселяется особями других видов, но иногда внутри дерновины поселяется и новые молодые особи лука понижающего. Длина живой части корневища достигает 10 см. Поскольку длина годового прироста 10-12 мм, то условный возраст разветвленных партикул в средневозрастном генеративном состоянии в такой дерновине не менее 10 лет, возраст самой дерновины может достигать 80-100 лет. В результате естественного распада и механического повреждения в состав дерновины могут входить как виргинильные, так генеративные разветвленные и неразветвленные партикулы. В субсенильном состоянии способность к цветению теряется. Размножается как семенным так и вегетативным способом.

Феноритмы. У лука понижающего отмечается максимальный период вегетации среди видов рода *Allium* - до 166 дней [9]. Вид начинает вегетировать весной и завершает вегетацию в первой декаде октября.

Химический состав. Химический состав видов рода *Allium* выделяется качеством и количеством, поэтому они имеют большую ценность как пищевые, лекарственные и кормовые растения. Содержат значительное количество белков,

жиров, сахаров, витаминов А, В1, В2, РР, С. В составе содержатся огромное количество антиоксидантов, стероидные и флавоновые гликозиды, органические кислоты, кумарины, фитонциды, в листьях накапливается Zn, Си, Cd и S. Содержание химических веществ, в пределах одного вида непостоянно, это зависит от места произрастания и возраста растения. Максимальное количество биологически активных веществ обнаружено в молодых листьях, и в луковицах взрослых растений. Отличается лук поникающий высоким содержанием каротина и аскорбиновой кислоты.

Применение. Лук поникающий можно использовать не только как пищевое и лекарственное растений, но также и как декоративное в различных способах озеленения - в одиночных посадках (клумбы, рабатки и т.д.). Введение редкого вида лука поникающего в культуру позволит снизить нагрузки на природные популяции и тем самым позволит сохранить его биоразнообразие.

Популяционные исследования. В районах Башкирского Зауралья ведутся популяционные исследования с луком поникающим с изучением демографической структуры ценопопуляций, проводятся эколого-фитоценотические исследования мест обитания вида [10,11]. Показано, что популяции с высокой плотностью особей. Возрастная структура популяций неполночленная, в популяциях много многолетних особей. Пространственная структура популяций представлена многолетними клонами.

Лимитирующими факторами являются слабая экологическая пластичность и низкая конкурентоспособность вида, распашка степей, выпас скота и массовый сбор местным населением в качестве пищевого растения.

Принятые меры охраны. В РБ вид охраняется на территориях памятников природы «Гора Куркак хр. Куркак», «Участок хр. Крыктытау с вершинами Бабай, Кушай и Хандык» [4]. Вид в настоящее время выращивается во многих ботанических садах. Успешно культивируется в ГБС РАН (г. Москва), СибБ ТГУ (г. Томск), БСИ УНЦ РАН (г. Уфа), ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск) [9].

Селекция. На основе лука поникающего в России выведено несколько пищевых сортов («Симбир», «Грин», «Карлик», «Лидер», «Очарование»).

Необходимые меры охраны

Учреждение проектируемых ООПТ там, где встречен вид: природного парка «Крыкты» (3 популяции) и ландшафтного заказника «Гора Аян» в Абзелиловском районе [4]. Мониторинг состояния известных популяций. Поиск новых популяций. Продолжить реинтродукционные работы в критических популяциях.

Места обитания вида в районах Башкирского Зауралья испытывают интенсивную антропогенную нагрузку в виде вытаптывания, выпаса, сенокосения [10]. Лук широко используется местным населением как пищевое растение и нуждается в разработке мер охраны, среди которых и биотехнологические методы.

Введение редких видов в культуру, в т.ч. и лука поникающего, позволит снизить нагрузки на природные популяции и тем самым сохранить его биоразнообразие в естественной среде.

Исследования с луком понижающим в условиях культуры тканей в лабораторных условиях и в полевых условиях начаты нами в 2023-2024 году, описаны некоторые особенности биологии вида в условиях *ex vitro* [5].

Глава 2. Методика исследования

Семена лука понижающего были собраны в Баймакском районе Республики Башкортостан, вблизи д. Туркменово в августе 2023 году.

Исследования проводили в лаборатории Репродуктивной биологии и клонирования растений Института природы и человека Уфимского университета науки и технологий.

В качестве эксплантов для введения в культуру тканей (*in vitro*) использовали семена.

Работы в культуре *in vitro* проведены по принятым методикам [12].

Метод культуры *in vitro* включает несколько **этапов**:

1. Введение эксплантов в культуру *in vitro*;
2. Собственно микроразмножение;
3. Укоренение растений;
4. Перевод растений в почвенные условия культивирования;
5. Наблюдения за растениями в условиях *ex vitro*.

1 и 4 этапы метода наиболее сложные, т.к. на этих этапах наблюдается большой выпад растений.

Семена лука понижающего вводили в культуру *in vitro* в январе 2024 г. Для введения в культуру *in vitro* использовали семена, вводили в два срока: 29.01.24 и 06.02.24.

Стерилизацию эксплантов проводили поэтапно в следующей последовательности:

1. Мыльный раствор - 15 минут
2. Раствор Бриллианта – 10- 25 минут
3. Раствор доместоса – 5-15 минут
4. Хлоргексидин – 20-40 минут
5. Спирт - 1 минута

Между этапами промывали стерильной дистиллированной водой.

Семена вводили в ламинар-боксе (рис. 1, 2).

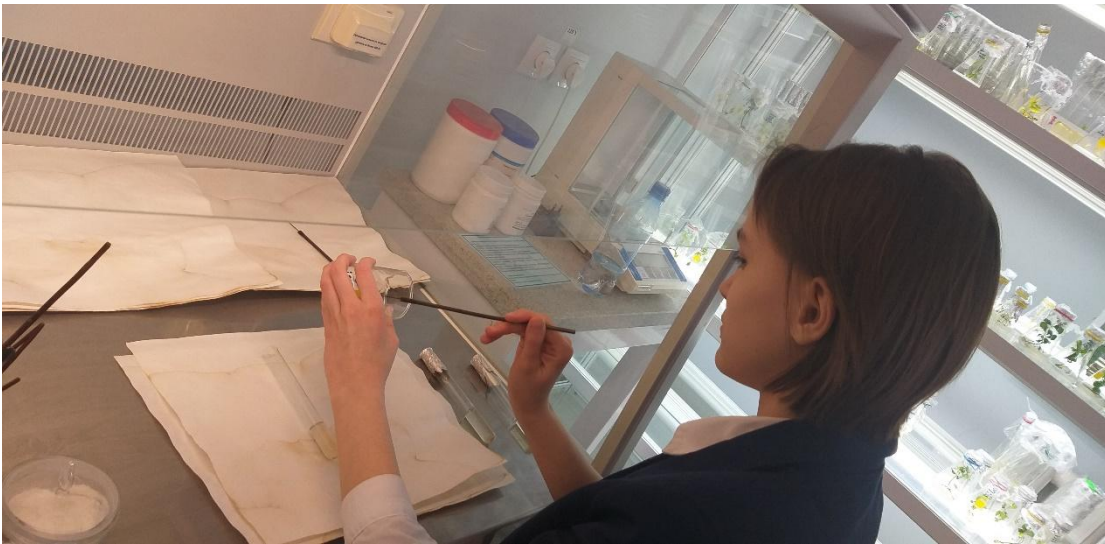


Рис.1. Подготовка к введению *in vitro* семян лука понижающего.

Вводили семена на безгормональную питательную среду Мурасиге и Скуга [13] в количестве 10-18 штук с дальнейшей пересадкой на гормональную среду. Пересадку осуществляли через 3-4 недели, подсчёт вели еженедельно. Высчитывали долю (%) проросших семян, долю заражённых семян и не заражённых. У проростков и последующих возрастных состояний растений определяли число листьев (шт.) и корешков (шт.), а также момент появления луковицы.



Рис.2. Момент введения семян лука понижающего препарировальной иглой

В питательную среду Мурасиге и Скуга для стимуляции ростовых процессов добавляли 0,5 мг/л БАП (цитокинин) и 0,25 мг/л ИУК (ауксин).

Перед пересадкой в почвенный субстрат (*ex vitro*), растения-регенеранты аккуратно отмывали в воде от питательной среды. Важно было удалить питательную среду с растений и не повредить корни.

В качестве субстрата использовали прокаленный песок.

В условия *ex vitro* пересаживали растения в ювенильном возрастном состоянии в июне месяце.

Определяли долю жизнеспособных растений (%). Проводили наблюдения за ростом и развитием растений лука поникающего в почвенном субстрате. Измеряли надземные органы: число листьев (шт.), число отмерших листьев (шт.), длину листьев (см). Вычисляли средний арифметический показатель.

Онтогенетические (возрастные) состояния растений выделяли в соответствие с описанными характеристиками возрастных состояний лука поникающего по В.А. Черемушкиной [8] и И.В. Ильиной [14].

Наблюдения за растениями *A. nutans* в условиях грунта проводили в г. Уфы.

Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение

3.1. Подбор методики стерилизации семян

Стерилизацию эксплантов (семян) проводили поэтапно в следующей последовательности в *первом варианте опыта*:

1. Мыльный раствор - 15 минут
2. Раствор «Бриллианта» – 10 минут
3. Раствор «Доместоса» – 5 минут
4. Раствор «Хлоргексидина» – 20 минут
5. 96-ый % раствор этилового спирта - 1 минута

во втором варианте опыта:

1. Мыльный раствор - 15 минут
2. Раствор «Бриллианта» – 25 минут
3. Раствор «Доместоса» – 15 минут
4. Раствор «Хлоргексидина» – 40 минут
5. 96-ый % раствор этилового спирта - 1 минута

Результаты стерилизации семян лука поникающего при введении в культуру тканей представлены в табл. 1, 2.

3.2. Введение в культуру *in vitro* лука поникающего

Семена лука высевали в культуре *in vitro* на безгормональную питательную среду Мурасиге и Скуга.

Таблица 1.

Введение в культуру *in vitro* лука поникающего (29.01.24)

Дата введения/ наблюдения	Число введенных семян, шт.	Число зараженных семян, шт.	Доля зараженных семян, %	Состояние стерильных эксплантов
29.01.24	18	3	17	-
06.02.24	18	3	17	Начало прорастания семян, формирование колеоптиля
12.02.24	18	3	17	Начало формирования мочковатой корневой системы

Введение в культуру *in vitro* лука понижающего (06.02.24)

Дата введения	Число введенных семян, шт.	Число зараженных семян, шт.	Доля зараженных семян, %	Состояние стерильных эксплантов
06.02.24	10	0	0	-
12.02.24	10	0	0	Начало прорастания семян, появление корешка, формирование колеоптиля. 3 семени не проросли.
18.02.24	10	0	0	Начало формирования мочковатой корневой системы

Стерильность семян лука понижающего при эксплантировании (введении в культуру тканей) высокая – 83-100 % в различных вариантах опыта. Условия стерилизации влияли на стерильность эксплантов. Это отражалось на доле зараженных семян. Относительно длительная экспозиция при выдерживании семян в стерилизующих растворах (раствор «Бриллианта», раствор «Доместоса», раствор «Хлоргексидина») позволяет получить высокий процент стерильных эксплантов. Второй вариант эксперимента оказался лучше в 2,35 раз.

Жизнеспособность семян в условиях *in vitro* сохранилась высокая – до 100 %. Начало прорастания наблюдали на 3-5 день от момента введения в культуру *in vitro* (рис.3).

Для стимуляции ростовых процессов и убыстрения темпов онтогенеза, пересаживали растения, выросшие из семян, введенных в культуру *in vitro* 29.01.24, на питательную среду Мурасиге и Скуга + 0,5 мг/л БАП (цитокинин) + 0,25 мг/л ИУК (ауксин). Часть растений оставили на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (это был контроль).

Изучали темпы онтогенеза растений, растущих на разных питательных средах. Результаты исследования представлены в табл. 3,4.

Характеристика возрастных состояний. Проросток характеризуется наличием одной семядоли и зародышевого корешка. Ювенильное возрастное состояние (j) *in vitro* характеризуется наличием корневой системы, состоящей из 1-4 придаточных корней и 2 листочков у каждого растения. Переходные растения ювенильное в имматурное возрастное состояние (j→im): уже есть корневая система, состоящая из 3-4 придаточных корней, 3 листочка у каждого растения, сохраняется семядоля. Имматурное возрастное состояние (im)– формирование луковицы.

На питательной среде Мурасиге-Скуга с гормональными добавками в виде цитокининов и ауксинов растения *Allium nutans* быстрее проходят онтогенез, темпы индивидуального развития убыстряются (табл. 3). Растения проходят состояния

проростка, ювенильное и все переходят в имматурное возрастное состояние с формированием луковичек. На безгормональной питательной среде темпы развития растений замедлены (табл. 4), 52, 1% растений не сформировали луковички.

В условиях культуры *in vitro* через 60 дней культивирования на питательной среде Мурасиге-Скуга с гормональными добавками растения *Allium nutans* проходят цикл развития от семян до имматурного возрастного состояния. В естественных условиях растения лука поникающего обладают медленными темпами онтогенетического развития [14]. Условия культуры *in vitro* позволяют существенно сократить темпы индивидуального развития.

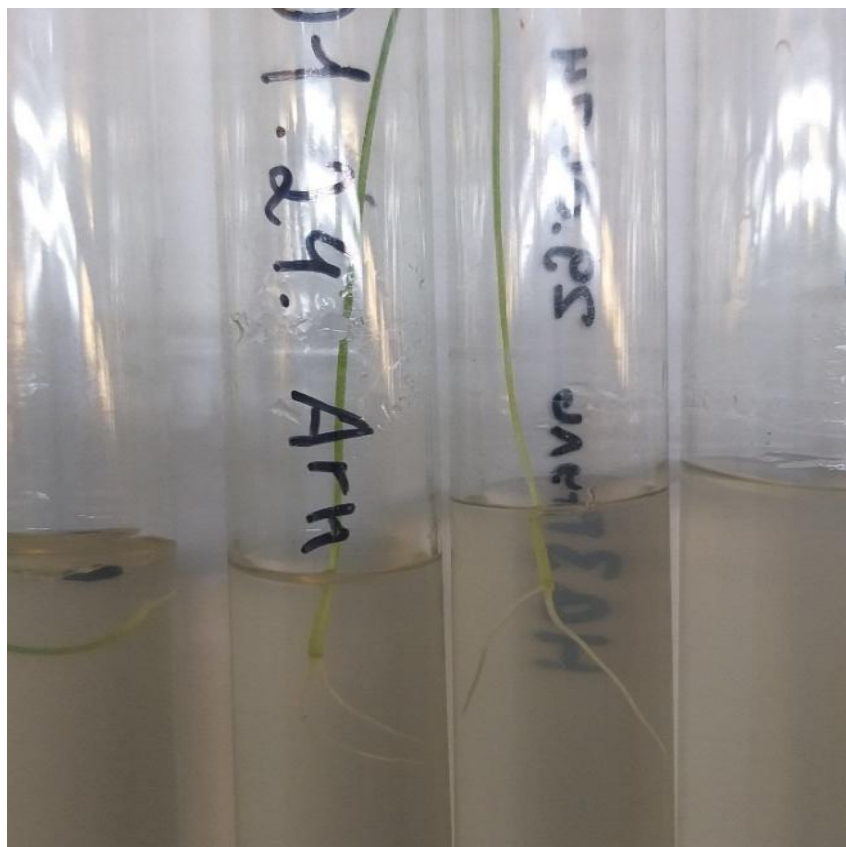


Рис. 3. Проращивание семян *Allium nutans* в условиях культуры *in vitro*

Для пересадки в почвенный субстрат (в условия *ex vitro*) была выборка из одинаковых растений ювенильного возрастного состояния (растения без луковиц). Было высажено 17 растений *Allium nutans*. Ювенильное возрастное состояние характеризуется наличием 1-2 листьев и отсутствием сформированной луковички (рис. 4).

Таблица 3.

Темпы онтогенетического развития лука поникающего
(введение в культуру тканей 29.01.24)
на питательной среде Мурасиге-Скуга с гормональными добавками

Дата введения/наблюдения	Периоды	Доля не проросших, шт. (%)	Доля проростков, шт. (%)	Доля ювенильных, шт. (%)	Доля имматурных, шт. (%)
29.01.24	прегенеративный	-	-	-	-
26.02.24	прегенеративный	0	0	87	13 (j→im)
04.03.24	прегенеративный	0	0	40	60 (j→im)
01.04.24	прегенеративный	0	0	0	100 с луковичками: 100

Характеристика растений-регенерантов *Allium nutans* в условиях *ex vitro*, выполненная в конце сентября, представлена в табл. 5. Растения *Allium nutans* характеризовались наличием 3-5 настоящих листьев, доля отмерших листьев составила 0-2 шт. Размеры ассимилирующих листьев составили 4,7-15,5 см. При подкопе растений, были обнаружены луковички. Все это свидетельствует, что растений находились в имматурном возрастном состоянии.

Таблица 4.

Темпы онтогенетического развития лука понижающего
(введение в культуру тканей 06.02.24)
на безгормональной питательной среде Мурасиге-Скуга

Дата введения/наблюдения	Периоды	Доля не проросших, шт. (%)	Доля проростков, шт. (%)	Доля ювенильных, шт. (%)	Доля имматурных, шт. (%)
06.02.24	-	-	-	-	-
26.02.24	прегенеративный	16,7	16,7	66,6	0
04.03.24	прегенеративный	16,7	0	83,3	0 (j→im)
01.04.24	прегенеративный	16,7	0	0	83,3 из них: без луковиц: 31,2 с луковичками: 52,1



Рис. 4. Растения *Allium nutans* после пересадки *ex vitro*

Приживаемость растений лука понижающего в почвенном субстрате в условиях г. Уфа в 2024 году составила 64,7 % (6 растений погибли). Наверное высокая доля погибших растений связана с условиями дождливого лета 2024 года и очень влажным субстратом. Известно из литературы [4,8,14], что этот лук ксеромезофит и обитает в условиях степных ландшафтов и не выносит переувлажнения.

Таблица 5.

Характеристики растений-регенерантов лука понижающего в условиях *ex vitro* (30 сентября 2024 г.)

Номер растения	Число листьев, шт.	Доля отмерших листьев (%/шт.)	Средняя длина ассимилирующего листа, см	Средняя длина ассимилирующего листа для выборки, см
1	4	25/1	10,7	9,8
2	3	0/0	9,2	
3	4	50/2	11,9	
4	4	50/2	10,8	
5	4	50/2	9,6	
6	5	40/2	7,8	
7	4	50/2	8,4	
8	4	25/1	12,5	
9	5	40/2	8,5	
10	4	20/1	8,9	
11	3	0/0	9,3	
Min-max	3-5	0-2	4,7-15,5	

Видовые характеристики фенологических ритмов развития лука поникающего, после выращивания в условиях *in vitro*, сохраняются. На 30 сентября 2024 года особи находились в вегетирующем состоянии и сохраняли, свойственный для вида, длительный вегетационный ритм. К 12.10.2024 наблюдали начало отмирания листьев, которое завершилось к 23.10.2024. Вегетация растений была завершена к 30.10.2024.

Таким образом, растения лука поникающего - *Allium nutans* выращенные в условиях *in vitro* и пересаженные в условия *ex vitro* демонстрируют высокую жизнеспособность, обладают быстрыми темпами онтогенетического развития, сохраняют свойственный виду длительный период вегетации. В условиях г. Уфы в 2024 году завершают вегетацию в третьей декаде октября.

Выводы

1. Применение метода культуры *in vitro* позволило нам вне сезона размножить лук поникающий *Allium nutans* L. – редкий вид флоры Республики Башкортостан, внесенный в Красную книгу РБ (2021).

2. Подобраны оптимальные условия (последовательное выдерживание в растворах «Бриллиант» (25 минут), «Доместос» (15 минут), «Хлоргексидин» (40 минут), этиловом спирте (1 минута)) для стерилизации семян на этапе эксплантирования их в культуру *in vitro*.

3. Условия культуры *in vitro* позволили сократить время прорастания семян лука поникающего до 7 дней.

4. Условия культуры *in vitro* способствуют убыстрению темпов онтогенеза растений лука поникающего: растений через 2 месяца культивирования достигают имматурного возрастного состояния.

5. Растения лука, выращенные в культуре *in vitro*, сохраняют видовые длительные феноритмы в почвенных условиях и завершают вегетацию в условиях г. Уфы в третьей декаде октября.

Заключение

Полученные нами результаты исследования могут быть использованы при разработке видовой стратегии охраны *Allium nutans* L. – редкого вида флоры Республики Башкортостан с перспективой интродукции и дальнейшей реинтродукции. Вид внесен в Красную книгу РБ (2021) [3] с категорией редкости 3 – редкий вид, а также в Красные книги иных регионов, и нуждается в сохранении в условиях *ex situ* и *in situ*.

В результате этой работы мы в октябре 2024 г. поучаствовали с докладом в научной конференции - IV Международной научной конференции «Актуальные вопросы охраны биоразнообразия», посвященной 60-летию башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию со дня рождения профессора Е.В.Кучерова (г. Уфа) и опубликовали свои результаты исследования: Ишбирдина Н.А., Ишбирдина А.А., Тухбатшина А.З. Особенности биологии *ex vitro Allium*

nutans // Материалы IV Международной научной конференции «Актуальные вопросы охраны биоразнообразия», посвященной 60-летию башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию со дня рождения профессора Е.В.Кучерова (г. Уфа, 2-4 октября 2024 г.). Уфа: РИЦ УУНиТ, 2024. С. 567-571.

Выражаем искреннюю признательность проф., д.б.н. Ишмуратовой М.М. и ассистенту Тухбатшиной А.З. лаборатории Репродуктивной биологии и клонирования растений Института природы и человека Уфимского университета науки и технологий за помощь в выполнении работы и методическую поддержку.

1. Национальная стратегия сохранения биоразнообразия России (2001): https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://www.biodat.ru/vart/doc/gef/A25.html&ved=2ahUKEwjklMvs5_aJAxXSIxAlHZ55Md0QFnoECBkQAQ&usg=AOvVaw0dUNOLIMYGyC4rqrWneCUK

2. Стратегии сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов. Приказ МПР РФ от 06.04.2004. N 323 «Об утверждении Стратегии сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов». https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99311/

3. Стратегии сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов. Распоряжение Правительства РФ от 17.02.2014. N 212-р «О Стратегии сохранения редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных, растений и грибов в Российской Федерации на период до 2030 г.».

4. Красная книга Республики Башкортостан: в 2 т. Т. 1. Растения и грибы / под ред. д-ра биол. Наук В.Б.Мартыненко. 3-е изд., доп. и переработ. Москва: Студия онлайн, 2021. 392 с.

5. Ишбирдина Н.А., Ишбирдина А.А., Тухбатшина А.З. Особенности биологии *ex vitro Allium nutans* // Материалы IV Международной научной конференции «Актуальные вопросы охраны биоразнообразия», посвященной 60-летию башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию со дня рождения профессора Е.В.Кучерова (г. Уфа, 2-4 октября 2024 г.). Уфа: РИЦ УУНиТ, 2024. С. 567-571.

6. Ишмуратова М.М., Ишбирдин А.Р., Тухбатшина А.З. Опыт ведения Красной книги (растения) Республики Башкортостан // Научные чтения памяти профессора Б.М.Козо-Полянского – 2024 (LXVI): материалы всероссийской научной конференции с международным участием (Воронеж, 23-24 января 2024 г.) / отв. ред. А.В. Агафонов. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2024. С. 43-48.

7. Красная книга Челябинской области: животные, растения, грибы. Изд. 2-е. М.: ООО «Реарт», 2017. 504 с.

8. Черемушкина В.А. Биология луков Евразии. Новосибирск: Наука, 2004. 280 с.

9. Буко Т.Е., Роднова Т.В. Результаты первичной интродукции видов рода *Allium* L. (лук) в Кузбасском ботаническом саду // Вестник Алтайского государственного аграрного университета № 7 (117), 2014. С. 92-96.

10. Ильина И.В. К вопросу охраны некоторых редких видов рода *Allium* на территории Республики Башкортостан // Проблемы красных книг регионов России. Пермь, 2006. С. 138-142.

11. Тарасова А.О., Ильина И.В. Эколого-демографические характеристики ценопопуляций *Allium nutans* на территории Башкирского Зауралья // Матер. 3 научно-практической конференции «Эколого-биологические и медицинские исследования на Южном Урале». Сибай, 2016. С. 57-60.

12. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272 с

13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant*. 1962. V. 15, № 95. P. 473- 497.

14. Ильина И.В. Эколого-биологические характеристики и оценка состояния ценопопуляций некоторых видов рода *Allium* L. в степном Зауралье Республики Башкортостан: Авторефер. дисс...канд.биол.наук. Уфа, 2007. 20 с.

Материалы нашего исследования опубликованы:

Ишбирдина Н.А., Ишбирдина А.А., Тухбатшина А.З. Особенности биологии *ex vitro Allium nutans* // Материалы IV Международной научной конференции «Актуальные вопросы охраны биоразнообразия», посвященной 60-летию башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию со дня рождения профессора Е.В.Кучерова (г. Уфа, 2-4 октября 2024 г.) / отв. редактор Ишбирдин А.Р. Уфа: РИЦ УУНиТ, 2024. С. 567-571.

Сборник размещен на платформе Elibrary (<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=75206374>)

на сайте библиотеки ЭБС Уфимского университета науки и технологий (https://elib.bashedu.ru/dl/local/IshbirdinA_otvred_Aktual.voprosi%20ohrani%20bioraznoobr._sb_2024.pdf/info).

рябины обыкновенной и данные показатели служат индикатором оценки экологического состояния окружающей среды.

Список литературы

1. Булгаков М.В. Опыт создания защитных насаждений в городе Красноуральске / М.В. Булгаков // Растительность и промышленные загрязнения. Охрана природы на Урале. – Свердловск, 1964. – Вып. 4. С. 153-169.
2. Кригер Н.В., Козлов М.А., Баранов Е.С. Влияние техногенной нагрузки на содержание аскорбиновой кислоты в листьях древесных растений, произрастающих в разных районах города Красноярска // Вестник КрасГАУ. 2013. № 10. С. 116-119.
3. Кузьмина Н.А., Кузьмина А.И. // Вестник Башкирского университета. Фоторегуляция роста и некоторых физиологических показателей проростков и каллусной ткани твердой пшеницы. 2001. № 2 (I). С. 140-142.
4. Кулагин Ю.З. О способности древесных растений к повторному облиственному // Ботанический журнал. № 51, 1966.
5. Физиология растений и микробиология. Методические указания к летней полевой практике, отв. ред. Г.Г. Борисова. – Екатеринбург, изд-во Уральского университет, 2006. – 66 с.
6. Шаблювский В.В. Повреждения дымовыми отходами на промплощадках цветной металлургии / В.В. Шаблювский. – М., 1950. – 257 с.

УДК 57.085.23

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ *EX VITRO ALLIUM NUTANS* L.

© ИШБИРДИНА Н.А.¹, ИШБИРДИНА А.А.¹,
ТУХБАТШИНА А.З.²

¹МАОУ «Центр образования № 35» городского округа г. Уфа РБ,
г. Уфа, Россия

²Уфимский университет науки и технологий, г. Уфа, Россия

Научный руководитель: Ишмуратова М.М. проф., д.б.н., проф. каф. биологии и экологии ИПЧ УУНиТ*

*ishmuratova@mail.ru

В статье представлены результаты выращивания в условиях *ex vitro* (в почвенных условиях) *Allium nutans* L. – редкого вида флоры Республики Башкортостан, внесенного в Красную книгу РБ (2021) с категорией редкости 3 – редкий вид. Приживаемость растений *A. nutans* после перевода их из условий *in vitro* в условия *ex vitro* составила 64,7 %. Растения-регенеранты к концу вегетации (вторая

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Министерство природопользования и экологии Республики Башкортостан
Уфимский университет науки и технологий
Уфимский федеральный исследовательский центр РАН
Башкирский государственный заповедник
Башкирское отделение русского ботанического общества
Евразийский научно-образовательный центр
Академии наук Республики Башкортостан
Институт ботаники Министерства науки и образования
Республики Азербайджан
Самаркандский государственный университет им. Шарафа Рашидова
Таджикский национальный университет
Институт ботаники и фитоинтродукции Министерства экологии и
природных ресурсов Республики Казахстан

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ОХРАНЫ БИОРАЗНООБРАЗИЯ**

*Материалы
IV Международной научной конференции», посвященной 60-летию
башкирского отделения Русского ботанического общества, 100-летию
со дня рождения профессора Е.В.Кучерова
(г. Уфа, 2 – 4 октября 2024 г.)*

Уфа
РИЦ УУНыТ
2024



Рис. 1. Лук поникающий в природе

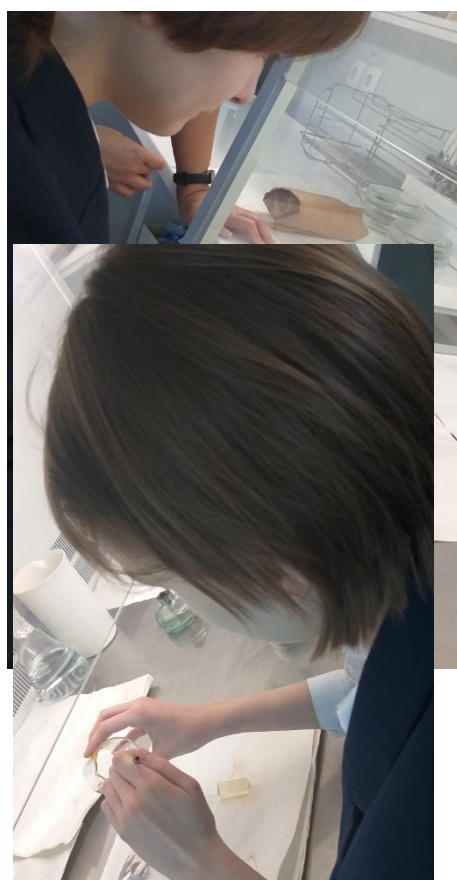


Рис. 2. Работа в ламинар-боксе *in vitro* с луком поникающим



Рис. 3. Выращенный нами в пробирках лук понижающий



Рис. 4. Ведем наблюдения и подсчитываем зараженные семена



Рис. 5. Отмываем от агар-агара растения лука поникающего перед высадкой в почвенный субстрат (ex vitro)

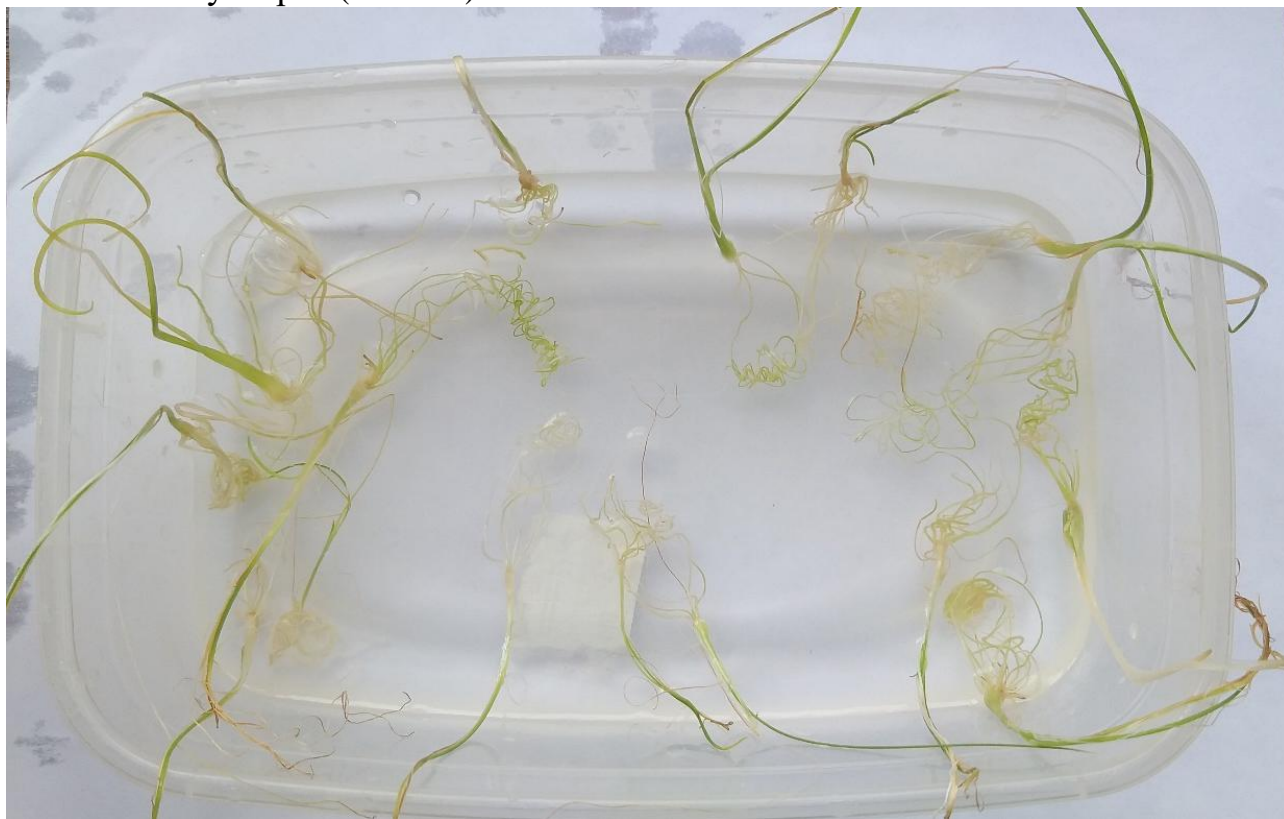


Рис. 6. Отмытые от агара растения лука поникающего



Рис. 7. Посадка растений лука поникающего в песок (*ex vitro*)





Рис. 8. Растения лука поникающего в почвенном субстрате (*ex vitro*) (30 сентября 2024 г.).



Рис. 9. Сезонное отмирание и пожелтение листьев на растениях лука поникающего (23 октября 2024 г.).



Рис. 10. Работа с литературой и статистическая обработка результатов исследования