

<https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-1-146-156>

УДК 582.661.21:635.052

© 2024



Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interests

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ / ORIGINAL ARTICLE

Введение в культуру *in vitro* *Salicornia europaea* L

Мария Ф. Коряжкина¹, Наталья А. Дмитриева²,
Екатерина В. Тризно^{3*}, Ариана Б. Седики¹,
Амина М. Утешева¹, Екатерина С. Скоробогатова¹

¹Государственное автономное образовательное учреждение
Астраханской области дополнительного образования «Региональный
школьный технопарк», г. Астрахань, ул. Анри Барбюса, 7,
414056, Российская Федерация

²ООО «Саликорния Нутришн», г. Астрахань, ул. Куликова, д. 73, к. 3, кв. 45,
Российская Федерация

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования ГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Минздрава
России. г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, 414000, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования состоит в разработке технологии введения *Salicornia europaea* L. в культуру *in vitro*. Для этого были изучены методы культивирования меристем и каллусных культур. Для культивирования меристем в качестве экспланта использовали кончик верхушечной почки. Для получения каллусной ткани использовали фрагменты стебля и листьев. Для изучения влияния различных факторов на всхожесть семена замачивали в стерильной водопроводной воде и в растворах гиббереллина, цитокинина, ауксина и NaCl, а также подвергали холодной стратификации (независимо и с последующим помещением на агаризованную среду Кнопа). Семена саликорнии стерилизовали различными антисептиками: 70% спиртом, 10% водным раствором гипохлорита натрия («Белизна»), амоксициллином и перекисью водорода 3%. Способность к образованию каллуса культурой изучалась на среде МС. В результате определили, что наибольшая всхожесть семян наблюдалась на среде Кнопа после обработки семян суспензией зеленых водорослей рода *Scenedesmus*, а также после предварительной холодной стратификации, чуть менее – после обработки семян раствором NaCl и гибберелловой кислотой. Самым эффективным методом стерилизации семян оказался метод обработки спиртом с последующей обработкой гипохлоритом натрия.

Проведен сравнительный анализ всхожести семян на фильтровальной бумаге в чашках Петри, агаризованной среде Кнопа, Мурасиге-Скуга (безгормональной). Была оценена способность к образованию *S. europaea* L. каллуса на среде МС с фитогормонами.

Заключение. Для улучшения всхожести семена рекомендуется предварительно подвергнуть

холодовой стратификации. Для быстрого получения асептических эксплантов рекомендуется проращивать семена на питательной среде Кнопа, предварительно простерилизовав их спиртом, затем гипохлоритом натрия с последующим промыванием дистиллированной водой. Наиболее подходящим для *S. europaea* L. типом микроклонального размножения является получение каллусной ткани с последующей индукцией органогенеза или эмбриогенеза.

Ключевые слова: *Salicornia*, галофит, солеустойчивость, всхожесть, гибберелловая кислота, холодовая стратификация, микроклональное размножение, культура *in vitro*, каллусная культура, фитогормоны, Мурасиге-Скуга, эксплант

Для цитирования: Коряжкина М.Ф., Дмитриева Н.А., Тризно Е.В. и др. Введение в культуру *in vitro* *Salicornia europaea* L. Новые технологии / *New Technologies* 2024; 20(1): <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-1-146-156>

Introduction of *Salicornia europaea* L into *in vitro* culture

Mariya F. Koryazhkina¹, Natal'ya A. Dmitrieva², Ekaterina V. Trizno^{3*},
Ariana B. Sediki¹, Amina M. Utesheva¹, Ekaterina S. Skorobogatova¹

¹*State Autonomous Educational Institution of Additional Education of the Astrakhan Region «Regional School Technopark», Astrakhan, 7 Henri Barbusse str., 414056, the Russian Federation*

²*«Salicornia Nutrition» LLC, Astrakhan, the Russian Federation*

³*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education SBEI HE «Astrakhan State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, 121 Bakinskaya str., 414000, the Russian Federation*

Abstract. The goal of the research was to develop a technology for introducing *Salicornia europaea* L. into *in vitro* culture. Methods of cultivating meristems and callus cultures were studied. To cultivate meristems, the tip of the apical bud were used as an explant. Fragments of stems and leaves were used to obtain callus tissue. To study the influence of various factors on germination, seeds were soaked in sterile tap water and in solutions of gibberellin, cytokinin, auxin and NaCl, and were also subjected to cold stratification (independently and with subsequent placement in Knop's agarized medium). *Salicornia* seeds were sterilized with various antiseptics: 70% alcohol, 10% aqueous solution of sodium hypochlorite («Belizna»), amoxicillin and 3% hydrogen peroxide. The ability of the culture to form callus was studied in MS medium. As a result, it was determined that the highest germination of seeds was observed in Knop medium after treating the seeds with a suspension of green algae of the *Scenedesmus* genus, as well as after preliminary cold stratification, and slightly less after treating the seeds with a solution of NaCl and gibberellic acid. The most effective method of seed sterilization turned out to be treatment with alcohol followed by treatment with sodium hypochlorite. A comparative analysis of seed germination in filter paper in Petri dishes, Knop agar medium, Murashige and Skoog (hormone-free) was carried out. The ability of *S. europaea* L. to form callus in MS medium with phytohormones was assessed. Conclusion. To improve germination, it is recommended to subject the seeds to cold stratification. To obtain aseptic explants quickly, it is recommended to germinate the seeds in the Knop nutrient medium, having previously sterilized them with alcohol, then with sodium hypochlorite, followed by washing with distilled water. The most suitable type of microclonal propagation for *S. europaea* L. is the production of callus tissue followed by induction of organogenesis or embryogenesis.

Keywords: *Salicornia*, halophyte, salt tolerance, germination, gibberellic acid, cold stratification, microclonal propagation, *in vitro* culture, callus culture, phytohormones, Murashige and Skoog, explant

For citation: Koryazhkina M.F., Dmitrieva N.A., Trizno E.V. et al. Introduction of *Salicornia europaea* L into in vitro culture /Novye tehnologii / New Technologies 2024; 20(1): <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-1-146-156>

Введение. Астраханская область – один из самых засушливых регионов России. Температура может колебаться от -25°C зимой до $+50^{\circ}\text{C}$ в летние месяцы. Такие жёсткие условия вынуждают растения накапливать биологически активные вещества, необходимые для выживания. К таким растениям-экстремалам относятся представители рода *Salicornia* (или солерос) – суккулентные однолетние растения, галофиты. В их состав входит большой набор микро- и макроэлементов, благодаря которым растение может переносить долгое отсутствие воды и высокий уровень засоления почвы. Саликорнию выращивают в Израиле, Китае и других азиатских странах [1, 2]. Её мясистые побеги едят как спаржу, предварительно подвергнув обработке кипятком [3]. Растение играет важную роль в улучшении экологической среды засоленных земель, может использоваться в ветрозащитных полосах и фиксации песка. Также данное растение может применяться для биоремедиации почв от вторичного засоления [7–11]. Саликорния используется как модельный объект для изучения механизмов солеустойчивости [12]. Набор солей в экстракте саликорнии зависит от места произрастания. Структурная организация растения позволяет ему проявлять высокую солеустойчивость. В частности, являясь облигатным галофитом аккумулятивного типа, саликорния секвестрирует ионы Na и Cl в вакуолях в изолированном от цитоплазмы состоянии [13].

Астраханская компания ООО «САЛИКОРНИЯ НУТРИШН» производит растительный солезаменитель «Зелёная соль» из *Salicornia*. В 2020 году компания решила увеличить в несколько раз переработку саликорнии. Однако данный галофит сложно культивируется в тепличных условиях или в открытом грунте, что не позволяет увеличить объёмы производства. Техно-

логия микрклонального размножения, разработанная специально для саликорнии, позволит получить посадочный материал в необходимых объёмах в короткий срок. Однако информации о подобных технологиях, разработанных для этого галофита, крайне мало, и она плохо систематизирована [1]. Кроме того, подобные технологии разрабатываются индивидуально в зависимости от вида растения и являются трудоемкими. Все это обусловило необходимость разработки технологии микрклонального размножения саликорнии.

Цель исследования. Разработать технологию введения *Salicornia europaea* L. в культуру *in vitro*.

Методы исследования. Исследования проведены в период с 2022 по 2023 год на базе биологической лаборатории регионального центра выявления, поддержки и развития способностей и талантов у детей и молодежи Астраханской области (ГАОУ АО ДО «Региональный школьный технопарк»).

Для микрклонального размножения использовались семена саликорнии европейской (*Salicornia europaea* L.) (Fuyang Bestop Import And Export Ltd, Китай).

Всхожесть семян определялась согласно ГОСТ 12038-84¹. Семена в количестве 15 штук помещали на фильтровальную бумагу в стерильные чашки Петри с добавлением 15 мл изучаемых растворов. Контрольные семена замачивались в стерильной водопроводной воде. Семена инкубировали при температуре 25°C в течение 14 суток. Всхожесть определяли на 14 сутки эксперимента. Повторность опыта семикратная.

Для получения стерильных эксплантов исследовались различные методики стерилизации. В качестве эксплантов для

¹ ГОСТ 12038 – 84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М., 1984. – 29 с.

микрклонального размножения были использованы асептические побеги и листья саликорнии.

Для ввода саликорнии в культуру *in vitro* были изучены различные методы [14–16], из которых самыми подходящими оказались два: культивирование меристем и метод каллусных культур. Для культивирования меристем в качестве экспланта использовали кончик верхушечной почки, который был изолирован из побега и помещался на питательную среду МС с фитогормонами. Для получения каллусной ткани в условиях ламинар-бокса простерилизованным скальпелем вырезались фрагменты стебля, листьев и корней. Для лучшего каллусообразования делались подсечки (поранения) по всей поверхности сегментов. Подготовленные экспланты переносились на стерильную питательную среду для микрклонального размножения Мурасиге Скуга (МС) с фитогормонами ИУК (2 мг/л) и кинетином (0,2 мг/л) [16].

Результаты. Семена саликорнии находились в состоянии физиологического покоя, что затрудняло культивирование, а также осложняло работу с данным галофитом.

Для стимуляции прорастания покоящихся семян различных видов растений в настоящее время, как правило, используют

предпосевную обработку фитогормонами и холодовую стратификацию². В работах иранских ученых показано, что высокое засоление оказывает слабое влияние на проростки *Salicornia*, остальные признаки указывают на высокий уровень солеустойчивости и высокую способность растений адаптироваться к засолению [9, 10, 17]. Концентрации NaCl играют важную роль на всех этапах микрклонального размножения представителей рода *Salicornia* [1, 17, 18]. Поскольку вопрос предпосевной обработки семян *S. europaea* L. освещен в публикациях недостаточно, на начальном этапе исследования было проведено изучение влияния различных факторов на всхожесть семян.

Варианты опыта: 1. Замачивание семян в стерильной водопроводной воде (контроль); 2. Холодовая стратификация (4 недели при температуре +5°C); 3. Замачивание в растворе гиббериллина (ГК 0,5 мл/л); 4. Замачивание в растворе цитокинина (кинетин); 5. Замачивание в растворе ауксина (ИУК 1г/л); 6. Замачивание в растворе NaCl (5 г/л). Результаты эксперимента представлены на рисунке 1.

² Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. отв. ред. М.Ф. Данилова; АН СССР, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова. – Л.: Наука, 1985. – 346 с.

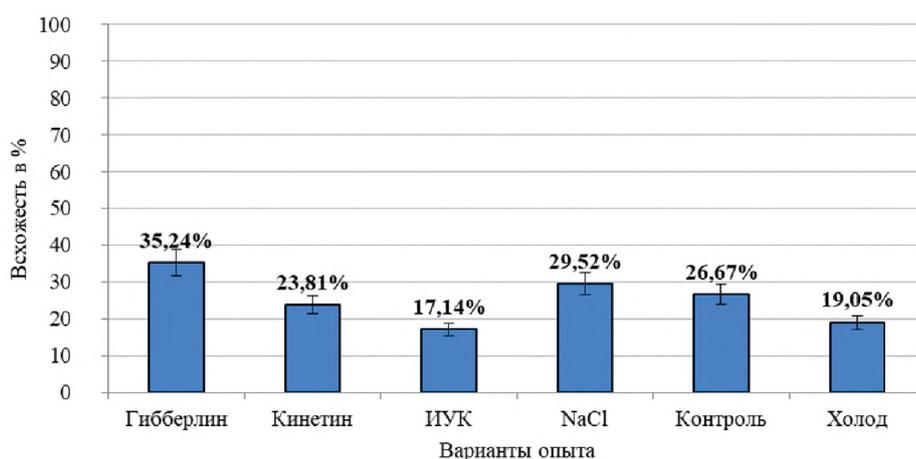


Рис. 1. Влияние различных факторов на всхожесть семян *S. europaea* L. (14 суток)

Fig. 1. The influence of various factors on the germination of *S. europaea* L. seeds. (14 days)

Наибольшая всхожесть семян наблюдалась в вариантах опыта с обработкой семян раствором NaCl (29,52%) и гибберелловой кислотой (35,24%).

Эксперимент показал низкую всхожесть, а также длительные сроки прорастания семян (более 10 суток). Для сокращения сроков прорастания семян был проведен еще один эксперимент. Семена проращивались в пластиковых контейнерах с агаризованной средой

Кнопа. Всхожесть определяли на 7 сутки. Варианты опыта: 1. Замачивание семян в стерильной водопроводной воде (контроль); 2. Холодовая стратификация (4 недели при температуре +5°C); 3. Замачивание в растворе гиббереллина (ГК 0,5 мл/л); 4. Замачивание в растворе ауксина (ИМК 1г/л); 5. Обработка семян суспензией зеленых водорослей рода *Scenedesmus* ($1,3 \cdot 10^4$ кл/мл). Результаты исследований представлены на рисунке 2.



Рис. 2. Всхожесть семян *S. europaea* L. на среде Кнопа (7сутки).

Fig. 2. Germination of *S. europaea* L. seeds in Knop medium (7 days)

Всхожесть семян *S. europaea* L. на питательной среде Кнопа значительно выше, чем при проращивании на влажных фильтрах в чашках Петри. Самая высокая всхожесть наблюдалась при обработке семян суспензией зеленых водорослей рода *Scenedesmus* – 90%, а также в варианте опыта с предварительной холодной стратификацией – 70%.

Важными факторами, которые следует учитывать при дезинфекции растительных эксплантов, являются выбор стерилизующего вещества и продолжительность обработки. Чаще всего для поверхностного очищения растительных тканей используют соединения, содержащие активный хлор (гипохлорит натрия, гипохлорит кальция, хлорамин), ртутные препараты

(сулема, диацид) и окислители (перекись водорода, перманганат калия), этиловый спирт, реже – концентрированную серную кислоту, препараты азотнокислого серебра и антибиотики [19]. Подбор стерилизующего агента, обеспечивающего асептичность культуры с одной стороны и низкий уровень угнетения эксплантов – с другой, является одной из важных задач при введении растения в культуру *in vitro*.

Было исследовано действие часто используемого для стерилизации эксплантов дезинфицирующего агента: 10% водного раствора гипохлорита натрия в составе дезинфицирующего средства «Белизна», с последующей трехкратной промывкой дистиллированной водой в течение 15 минут. Исследовалась возможность стерилизации

семян 70% этиловым спиртом, с последующей обработкой гипохлоритом натрия и без него. Также проверен потенциал использования в качестве стерилизующего агента амоксициллина – антибиотика широкого спектра действия, который применяется в микроклональном размножении для снижения процента погибших от бактериальной инфекции эксплантов и

повышения их регенерационной способности [20].

Для получения асептических проростков семена саликорнии стерилизовали различными антисептиками и проращивали на безгормональной питательной среде МС. Эффективность стерилизации оценивалась на 10 сутки. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние различных антисептиков на прорастание семян *S. europaea* L.

Table 1

The influence of various antiseptics on germination of *S. europaea* L. seeds

Вариант опыта	Средняя всхожесть по варианту, в %	% инфицирования семян
контроль	16	100
70% спирт (1 мин)	8	66
спирт + 10% водный раствор гипохлорита Na (15 мин) + 15 мин отмываем водой	28	0
10% водный раствор гипохлорита Na (15 мин) + 15 мин отмываем водой	0	20
Амоксициллин (200 мг/л)	10	80
Перекись водорода 3%	0	0

На основании полученных результатов для получения стерильных эксплантов на среде МС рекомендуется семена поместить в 70% этиловый спирт на 1 минуту, затем – в 10% раствор гипохлорита Na (1:2) на 15 минут, затем в течении 15 минут отмыть 3 – 4 порциями стерильной

дистиллированной воды.

Проведенные исследования показали, что на среде МС семена прорастают на 10 сутки. Сравнительная характеристика всхожести семян на различных средах представлена в таблице 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика всхожести семян *S. europaea* L. на различных средах

Table 2

Comparative characteristics of *S. europaea* L. seeds germination in various media

Показатель	Агаризованная среда Кнопа	Мурасиге-Скуга (безгормональная)	Проращивание на бумаге в чашках Петри
Начало прорастания	7 сутки	10 сутки	14 сутки
Всхожесть в % в контроле	60	16	27

Анализ полученных данных показал, что на разных питательных средах и при воздействии различных факторов всхожесть и сроки прорастания семян *S. europaea* L. различны. Самые короткие сроки прорастания и высокая всхожесть отмечены на среде Кнопа. Данная среда рекомендуется для быстрого получения стерильных эксплантов.

На следующем этапе исследования необходимо было ввести *S. europaea* L. в культуру *in vitro*. Из асептических проростков были получены меристемы. Однако при пересеве на МС с фитогормонами рост меристем не наблюдался, либо

же происходило зарастание фрагментов плесневыми грибами.

Способность к образованию каллуса культурой *S. europaea* L. исследовалась на классической для микроклонального размножения среде МС. Для индукции каллусообразования в питательную среду добавлялись гормоны ИУК (2 мг/л) и кинетин (0,2 мг/л).

В результате на питательной среде МС было получено 2 каллусных культуры. Изучен характер их роста на агаризованной и жидкой среде МС. Результаты представлены на рисунке 3 и в таблице 3.

Таблица 3

Свойства каллусных культур *S. europaea* L.

Table 3

Properties of *S. europaea* L. callus cultures

Каллусная культура №	Характер роста культур на агаризованной МС	Характер роста культур на жидкой МС
1	Белая, плотная, матовая, поверхность складчатая, непрозрачная, объемная	Единичные клетки и клеточные агрегаты
2	Рыхлая, желтая, плоская, полупрозрачная, поверхность гладкая, слизистая	Клеточные агрегаты по 4–9 клеток

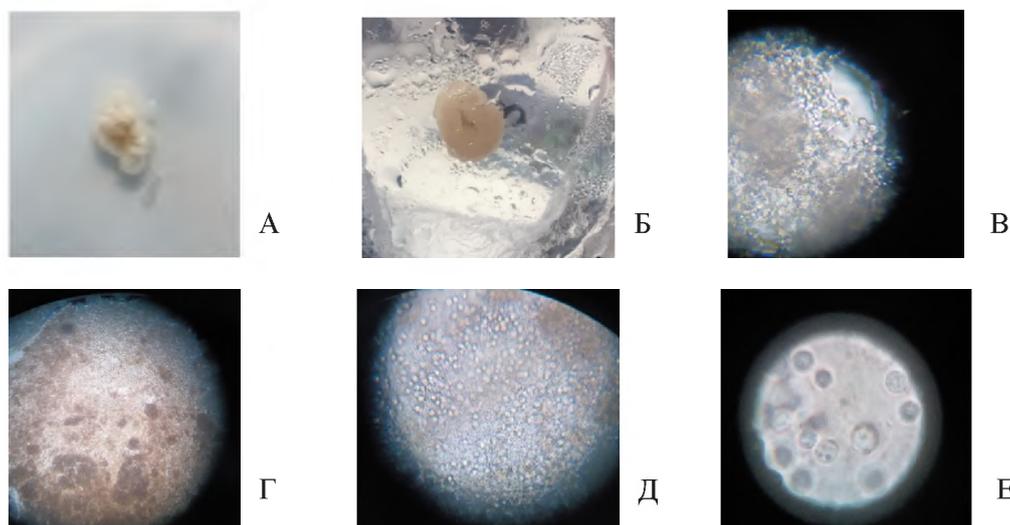


Рис. 3. Каллусные культуры *S. europaea* L.: (А) Культура № 1 на твердой МС; (Б) Культура № 2 на твердой МС; (В) Культура № 1 под световым микроскопом, x100; (Г) Культура № 2 под световым микроскопом, x100; (Д) Культура № 2 под световым микроскопом, x400; (Е) Культура № 2 под световым микроскопом, x1000

Fig. 3. Callus cultures of *S. europaea* L.: (A) Culture No. 1 on solid MS; (B) Culture No. 2 on solid MS; (B) Culture No. 1 under a light microscope, x100; (D) Culture No. 2 under a light microscope, x100; (E) Culture No. 2 under a light microscope, x400; (E) Culture No. 2 under a light microscope, x1000

Обсуждение. Серия экспериментов показала низкую всхожесть и длительные сроки прорастания семян *S. europaea* L. Для быстрого получения эксплантов подобрана методика проращивания семян на агаризованной среде Кнопа, что позволяет сократить срок получения эксплантов. Подобрана оптимальная методика стерилизации семян. Изучение различных методов ввода в культуру *in vitro* *S. europaea* L. показало, что оптимальным вариантом является получение каллусной ткани с последующей индукцией органогенеза или эмбриогенеза. В результате проведенного исследования на среде МС получено 2 каллусные культуры.

Заключение. В настоящее время продолжается доработка технологии микрклонального размножения *S. europaea* L.: подбор оптимальной концентрации фитогормонов для индукции органогенеза и эмбриогенеза. В октябре 2022 года была организована экспедиция для сбора образцов *S. perennans* Willd, произрастающих в Астраханской области. В дальнейшем планируется усовершенствование технологии микрклонального размножения *S. europaea* L. и разработка подобной технологии для *S. perennans* Willd.

Выводы.

1. Наиболее подходящим для *S. europaea* L. типом микрклонального размножения является получение каллусной ткани с последующей индукцией органогенеза или эмбриогенеза.

2. Для быстрого получения эксплантов рекомендуется проращивать семена на питательной среде Кнопа. Семена предварительно стерилизовать спиртом (70%) 1 минуту, затем 10% водным раствором гипохлорита Na (1:2) с последующим промыванием семян 3 – 4 порциями стерильной дистиллированной воды. Для лучшей всхожести семена рекомендуется предварительно подвергнуть холодной стратификации (4 недели при температуре +5°C).

3. Для получения каллусной ткани предварительно пораненный стерильный эксплант следует переносить на среду МС с концентрацией гормонов ИУК – 2 мг/л, кинетин – 0,2 мг/л.

4. В результате проведенного исследования установлено, что среда МС оптимальна для получения каллусных культур.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке ГАОУ АО ДО «Региональный школьный технопарк».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Xiu-Ling Shi, He-Ping Han, Wu-Liang Shi et al. NaCl and TDZ are Two Key Factors for the Improvement of In Vitro Regeneration Rate of *Salicornia europaea* L. Journal of Integrative Plant Biology. 2006; 48(10): 1185-1189.
2. Liu L., Wang B. Protection of Halophytes and Their Uses for Cultivation of Saline-Alkali Soil in China. Biology 2021; 10(5): 353.
3. Domínguez F.F., Crisanto M.E.V., Castro R.L.S. et al. Metagenomic analysis of the intestinal microbiome in goats on cactus and *Salicornia*-based diets. Open Vet J. 2022; 12(1): 61-68.
4. Yinxin Li, Xiuling Shi Glasswort tissue culture method and culture medium: патент 100400654, Китай, МПК C12N 5/04 A01H 4/00; № 200610003190.8; заявл. 22.02.2006; опубл. 02.08.2006.
5. Губин В.К., Шамсутдинова Э.З., Шамсутдинов Н.З. и др. Способ рассоления засоленных почв: патент 2324029 Рос. Федерация; № 2006136438/03; заявл. 17.10.2006; опубл. 10.05.2008.
6. Исаева А.У, Бишимбаев В.К., Саттарова А.М. Способ биологической очистки засоленных почв от нефтепродуктов и соледоержания: патент 030994 Евразийское патентное ведомство, МПК B09C 1/10; № 201690587; заявл. 12.04.2016; опубл. 31.07.2017.
7. Zhu T., Liu X., Zhang M. et al. Mechanism of cadmium tolerance in *Salicornia europaea* at optimum levels of NaCl. Plant Biol (Stuttg). 2022; 24(1): 41-51.
8. Abdollahzadeh T., Niazi A., Moghadam A. et al. Phytoremediation of petroleum-contaminated soil by *Salicornia*: from PSY activity to physiological and morphological communications. Environ Technol. 2019; 40(21): 2789-2801.

9. Kaviani E., Niazi A., Moghadam A. et al. Phytoremediation of Ni-contaminated soil by *Salicornia iranica*. *Environ Technol.* 2019; 40(3): 270-281.
10. Ventura Y., Eshel A., Pasternak D. et al. The development of halophyte-based agriculture: past and present. *Ann Bot.* 2015; 115(3): 529-540.
11. Gibilisco P.E., Lancelotti J.L., Negrin V.L. et al. Composting of seaweed waste: Evaluation on the growth of *Sarcocornia perennis*. *J Environ Manage.* 2020; 274: 111193.
12. Pérez-Romero J.A., Duarte B., Barcia-Piedras J.M. et al. Investigating the physiological mechanisms underlying *Salicornia ramosissima* response to atmospheric CO₂ enrichment under coexistence of prolonged soil flooding and saline excess. *Plant Physiol Biochem.* 2019; 135: 149-159.
13. Исякаева Р.Р., Голубкина Е.В., Хазова Н.А. Определение экстрактивных веществ в растении рода солерос (*Salicornia perennans* Willd). Современные достижения в биологии и медицине: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции студентов, магистрантов, аспирантов. Астрахань: Астраханский университет; 2021: 36-38.
14. Милехин А.В., Рубцов С.Л., Мадьякин Е.В. Модель регионального базового центра по оздоровлению и микрклональному размножению сельскохозяйственных растений *in vitro*. Земледелие и растениеводство. 2015.
15. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю. Клональное микроразмножение: учебно-методическое пособие. Казань; 2012.
16. Дитченко Т.И. Культура клеток, органов и тканей растений: методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов. Минск: БГУ; 2007.
17. Ali Mahmoudi, Maryam Danesh. Assessment of Salinity Effects on Some Morphological and Physiological Traits and In Vitro Culture of Halophyte Plant (*Salicornia europaea*). *Journal of Crop Breeding.* 2019; 11(29).
18. Joshi M., Mishra A. Jha Bhavanath. NaCl plays a key role for *in vitro* micropropagation of *Salicornia brachiata*, an extreme halophyte. *Industrial Crops and Products.* 2012; 35(1): 313-316.

REFERENCES:

1. Xiu-Ling Shi, He-Ping Han, Wu-Liang Shi et al. NaCl and TDZ are Two Key Factors for the Improvement of In Vitro Regeneration Rate of *Salicornia europaea* L. *Journal of Integrative Plant Biology.* 2006; 48(10): 1185-1189.
2. Liu L., Wang B. Protection of Halophytes and Their Uses for Cultivation of Saline-Alkali Soil in China. *Biology* 2021; 10(5): 353.
3. Domínguez F.F., Crisanto M.E.V., Castro R.L.S. et al. Metagenomic analysis of the intestinal microbiome in goats on cactus and *Salicornia*-based diets. *Open Vet J.* 2022; 12(1): 61-68.
4. Yinxin Li, Xiuling Shi Glasswort tissue culture method and culture medium: patent 100400654, China, IPC C12N 5/04 A01H 4/00; No. 200610003190.8; appl. 02/22/2006; publ. 08/02/2006.
5. Gubin V.K., Shamsutdinova E.Z., Shamsutdinov N.Z. et al. Method of desalinization of saline soils: patent 2324029 Russ. Federation; No. 2006136438/03; appl. 17.10.2006; publ. 10.05. 2008. [in Russian]
6. Isaeva A.U., Bishimbaev V.K., Sattarova A.M. Method for biological purification of saline soils from oil products and salt content: patent 030994 Eurasian Patent Office, IPC B09C 1/10; No. 201690587; appl. 12.04.2016; publ. 31.07.2017. [in Russian]
7. Zhu T., Liu X., Zhang M. et al. Mechanism of cadmium tolerance in *Salicornia europaea* at optimum levels of NaCl. *Plant Biol (Stuttg).* 2022; 24(1): 41-51.
8. Abdollahzadeh T., Niazi A., Moghadam A. et al. Phytoremediation of petroleum-contaminated soil by *Salicornia*: from PSY activity to physiological and morphological communications. *Environ Technol.* 2019; 40(21): 2789-2801.
9. Kaviani E., Niazi A., Moghadam A. et al. Phytoremediation of Ni-contaminated soil by *Salicornia iranica*. *Environ Technol.* 2019; 40(3): 270-281.
10. Ventura Y., Eshel A., Pasternak D. et al. The development of halophyte-based agriculture: past and present. *Ann Bot.* 2015; 115(3): 529-540.

11. Gibilisco P.E., Lancelotti J.L., Negrin V.L. et al. Composting of seaweed waste: Evaluation on the growth of *Sarcocornia perennis*. *J Environ Management*. 2020; 274:111193.
12. Pérez-Romero J.A., Duarte B., Barcia-Piedras J.M. et al. Investigating the physiological mechanisms underlying *Salicornia ramosissima* response to atmospheric CO₂ enrichment under co-existence of prolonged soil flooding and saline excess. *Plant Physiol Biochem*. 2019; 135: 149-159.
13. Isyakaeva R.R., Golubkina E.V., Khazova N.A. Determination of extractive substances in the plant of the genus *Salicornia perennans* Willd. Modern achievements in biology and medicine: collection of materials of the All-Russian scientific and practical conference of students, undergraduates, graduate students. Astrakhan: Astrakhan University; 2021: 36-38. [in Russian]
14. Milekhin A.V., Rubtsov S.L., Madyakin E.V. Model of a regional base center for the improvement and microclonal propagation of agricultural plants *in vitro*. *Agriculture and crop production*. 2015. [in Russian]
15. Timofeeva O.A. Nevmerzhitskaya Yu. Yu. Clonal micropropagation: educational and methodological manual. Kazan; 2012. [in Russian]
16. Ditchenko T.I. Culture of plant cells, organs and tissues: methodological recommendations for laboratory classes, assignments for independent work and monitoring students' knowledge. Minsk: BSU; 2007. [in Russian]
17. Ali Mahmoudi, Maryam Danesh. Assessment of Salinity Effects on Some Morphological and Physiological Traits and *In Vitro* Culture of Halophyte Plant (*Salicornia europaea*). *Journal of Crop Breeding*. 2019; 11(29).
18. Joshi M., Mishra A. Jha Bhavanath. NaCl plays a key role for *in vitro* micropropagation of *Salicornia brachiata*, an extreme halophyte. *Industrial Crops and Products*. 2012; 35(1): 313-316.

Информация об авторах / Information about the authors

Мария Федоровна Коряжкина, кандидат биологических наук, педагог дополнительного образования, Государственное автономное образовательное учреждение Астраханской области дополнительного образования «Региональный школьный технопарк»

тел: +7 (917) 174 93 38
mkoryazhkina@schooltech.ru

Наталья Александровна Дмитриева, генеральный директор ООО «Саликорния Нутришн»

Екатерина Валерьевна Тризно, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования ГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет»

Ариана Берузовна Седики, учащаяся, Государственное автономное образовательное учреждение Астраханской области дополнительного образования «Региональный школьный технопарк»

Mariya F. Koryazhkina, PhD (Biology), Additional education teacher, State Autonomous Educational Institution of Additional Education of the Astrakhan Region «Regional School Technopark»

tel: +7 (917) 174 93 38
mkoryazhkina@schooltech.ru

Natal'ya A. Dmitrieva, General Director, *Salicornia Nutrition* LLC

Ekaterina V. Trizno, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Astrakhan State Medical University»

Ariana B. Sediki, Student, State Autonomous Educational Institution of Additional Education of the Astrakhan Region «Regional School Technopark»

Амина Маратовна Утешева, учащаяся, Государственное автономное образовательное учреждение Астраханской области дополнительного образования «Региональный школьный технопарк»

Amina M. Utesheva, Student, State Autonomous Educational Institution of Additional Education of the Astrakhan Region «Regional School Technopark»

Екатерина Сергеевна Скоробогатова, учащаяся, Государственное автономное образовательное учреждение Астраханской области дополнительного образования «Региональный школьный технопарк»

Ekaterina S. Skorobogatova, Student, State Autonomous Educational Institution of Additional Education of the Astrakhan Region «Regional School Technopark»

Заявленный вклад соавторов

Все авторы настоящего исследования принимали непосредственное участие в планировании, выполнении и анализе данного исследования. Все авторы настоящей статьи ознакомились и одобрили представленный окончательный вариант.

Claimed contribution of co-authors

All authors of the research were directly involved in the design, execution, and analysis of the research. All authors of this article have read and approved the final version submitted.

Поступила в редакцию 12.12.2023; поступила после рецензирования 19.02.2024; принята к публикации 20.02.2024

Received 12.12.2023; Revised 19.02.2024; Accepted 20.02.2024