

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ПОКОЯ СЕМЯН *NITRARIA SIBIRICA* (*NITRARIACEAE*)

Т.В. Железниченко, Т.И. Новикова, Е.В. Банаев

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: zhelez05@mail.ru.

Исследовано влияние различных способов предобработки семян, включая стратификацию, химическую скарификацию (с использованием H_2SO_4), воздействие гибберелловой кислоты ($ГК_3$), сочетание химической скарификации с обработкой $ГК_3$ и методом эмбриокультуры на прорастание в условиях *in vitro* длительно хранившихся семян селитрянки сибирской (*Nitraria sibirica* Pall.). Охарактеризованы всхожесть, энергия и динамика прорастания семян. Оптимальным из традиционных методов предобработки является сочетание химической скарификации с применением $ГК_3$, при этом проростки появлялись через неделю инкубации, а всхожесть составила 27.54 %. Использование метода эмбриокультуры после кратковременной химической скарификации привело к появлению первых проростков уже на третьи сутки, массовое прорастание отмечено на четвертые-пятые. Всхожесть семян в эмбриокультуре составила 39.2 %, что показывает высокую эффективность биотехнологических подходов.

Ключевые слова: *Nitraria sibirica*, культура *in vitro*, прорастание семян, околоплодник, скарификация, стратификация, эмбриокультура, покой семян.

EFFICIENCY OF APPLICATION OF EMBRYO CULTURE METHOD FOR BREAKING DORMANCY IN *NITRARIA SIBIRICA* (*NITRARIACEAE*) SEEDS

T.V. Zheleznichenko, T.I. Novikova, E.V. Banaev

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: zhelez05@mail.ru

The effects of different pretreatments, including stratification, chemical scarification (with H_2SO_4), application of gibberelic acid (GA_3), combination of chemical scarification with GA_3 application or embryo culture method, on *in vitro* seed germination were studied. The general germinating ability, energy and dynamics of germination were analyzed. The best conventional method of treatment was combination of chemical scarification and application of GA_3 , while seedlings emerged after a week of incubation and the overall germination amounted to 27.54 %. The embryo culture method using after short of chemical scarification leads to first seedlings formation on the third day of cultivation and a multitude of seedlings was noted on the 4th or 5th days. The overall germination amounted to 39.2 % in embryo culture, which demonstrated the high efficiency of biotechnological approaches.

Key words: *Nitraria sibirica*, *in vitro* culture, germination of seeds, pericarp, scarification, stratification, embryo culture, seed dormancy.

ВВЕДЕНИЕ

Селитрянки сибирская (*Nitraria sibirica* Pall.) – соле-, засухоустойчивый кустарник (до 1 м высотой), с суккулентными листьями, плод – сочная костянка с хорошими вкусовыми качествами (Omar et al., 2007). *N. sibirica* относится к пустынно-степным видам и имеет обширный ареал центрально-азиатского типа, охватывающий Среднюю Азию, Монголию, Северо-Восточный Китай, а также юг Сибири (Малышев, Пешкова, 1984). В последние годы представители рода *Nitraria* вызывают значительный интерес своими лекарственными свойствами, поскольку накопление вторичных ме-

таболитов, включая алкалоиды и флавоноиды, обеспечивает их антибактериальную, антиоксидантную, противоопухолевую и противовоспалительную активности (Банаев и др., 2014, 2015; Bakri et al., 2014; Banaev et al., 2015; Sharifi-Rad et al., 2015).

Благодаря высоким фитомелиоративным свойствам селитрянки сибирской, как и другие представители рода, применяется в защитном лесоразведении для укрепления песчаных наносов, берегов, снижения засоленности почв и обогащения их органическими веществами (Zhao et al., 2002).

Ввиду того, что засоление почвы является одной из важнейших экологических проблем и площади засоленных территорий все время увеличиваются, в последние годы резко возрос интерес к изучению видов рода *Nitraria*, в частности к вопросу их размножения. В природе селитрянки размножаются преимущественно семенами, распространяющимися птицами, мелкими млекопитающими, муравьями. Поскольку она произрастает в жестких климатических условиях, семена обладают высокой степенью покоя и могут оставаться жизнеспособными в сухих песчаных почвах в течение долгого периода до наступления благоприятных для прорастания условий. Одной из причин этого, вероятно, является анатомическое строение семян, имеющих тонкий экзокарпий (включающий эпидермис, гиподерму и шестислойную паренхиму), пористый древесный яйцевидно-конический мезокарпий и эндокарпий, состоящий из восьми и более слоев паренхимных клеток (Li, Tu, 1991).

Биология прорастания семян, как и вопросы размножения видов рода *Nitraria*, мало изучены, при этом имеющиеся данные противоречивы (Григорьев, 1952; Семенное размножение..., 1970; Банаев, Томошевич, 2013; Suleiman et al., 2008; Commander et al., 2009; Zeng et al., 2010). Перспективной технологией размножения *N. sibirica* могут

служить методы культивирования *in vitro*. Считается, что применение семян в качестве первичных эксплантов наиболее предпочтительно, так как при этом достигается высокая видовая репрезентативность, минимальный уровень соматической изменчивости, а также возможность использования жестких схем стерилизации и высокотоксичных антисептиков (Новикова и др., 2008). Однако ввиду наличия у семян видов рода *Nitraria* периода покоя, для успешного его преодоления необходимо выявить причины, вызывающие покой, поскольку от этого зависит выбор методов предпосевной подготовки семян. Применение методов культуры ткани позволяет не только исследовать некоторые аспекты данной проблемы, но практически использовать преимущества культуры *in vitro* для преодоления периода покоя семян. Работы по проращиванию семян рода *Nitraria* в культуре ткани проводились в ряде исследований (Sudharsan et al., 2003; Commander et al., 2009), однако применение метода эмбриокультуры для преодоления покоя семян *N. sibirica* нами использовано впервые.

Цель работы – исследовать возможности применения метода эмбриокультуры для проращивания семян *N. sibirica* и выявить его эффективность в сравнении с традиционными подходами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили зрелые семена *N. sibirica*, любезно предоставленные китайскими коллегами из Байченской академии лесного хозяйства (г. Байчэн, КНР). Место сбора – уезд Туньюй, провинция Цзилинь. Дата сбора – сентябрь 2008 г. До проведения эксперимента семена хранились при комнатных условиях в течение 4 лет.

Стерилизация. Для предотвращения контаминации материала использовали метод двойной стерилизации. Семена помещали в раствор 25%-го бытового отбеливателя “Domestos”, действующим веществом которого является гипохлорит натрия (10 мин), затем в 70%-й этиловый спирт (1–2 мин), после этого в 30%-й раствор H_2O_2 (15 мин). Обработанный материал однократно промывали стерильной водой в течение 10 мин. Промытые семена помещали в стерильные чашки Петри и оставляли в течение 2 сут при температуре $(23 \pm 2) ^\circ C$, после чего снова стерилизовали в 30%-м растворе H_2O_2 (15 мин) и однократно промывали стерильной водой в течение 10 мин.

Предобработка. Семена подвергали различным способам предварительной обработки:

1) холодной стратификации: стерильные семена помещали в чашки Петри на 0.6%-й водный агар, инкубировали две недели при температуре

$+7 ^\circ C$ и освещении $14.6 \text{ мкМ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ в течение 24 ч, затем переносили в оптимальные для прорастания условия;

2) предобработке семян раствором гибберелловой кислоты (GK_3): семена замачивали в растворе GK_3 с концентрацией 100 мг/л в течение ночи (8 ч);

3) физической скарификации: образцы погружали в крутой кипяток и оставляли в воде до остывания, затем стерилизовали и помещали на агар;

4) химической скарификации: семена помещали в концентрированную серную кислоту на 50 мин, промывали под проточной водой до нейтрального значения pH (проба по лакмусовой бумаге), стерилизовали и культивировали;

5) комбинации химической скарификации с обработкой GK_3 : семена предварительно выдерживали в серной кислоте в течение 50 мин, затем после промывания в воде замачивали в растворе GK_3 100 мг/л в течение ночи, стерилизовали и помещали на агар;

6) комбинации химической скарификации с методом эмбриокультуры: семена выдерживали в концентрированной серной кислоте в течение 50 мин для размягчения околоплодника, затем стерилизовали, полностью удаляли эндокарпий (околоплодник), выделяли зародыш и проращивали на

стерильном агаре. (Околоплодник удаляли в стерильных условиях при помощи скальпеля.)

Контролем служили необработанные (интактные) стерилизованные семена.

Проращивание семян проводили в культуре *in vitro* на стерильном 0.6%-м водном агаре при комнатной температуре (23 ± 2 °C), фотопериоде – 16/8 ч (свет/темнота) и освещенности – $60 \text{ мкМ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

На обработку использовали от 30 до 60 эксплантов. Эксперимент повторяли минимум три

раза. Результаты фиксировали ежедневно. Наблюдения продолжали в течение двух месяцев.

Обработку результатов проводили с использованием пакета статистического анализа Microsoft Excel. Определяли средние арифметические величины и доверительный интервал. Достоверность оцениваемых показателей принимали на уровне значимости $p < 0.05$ (Лакин, 1990).

Фотографии выполнены в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов ЦСБС СО РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные динамики прорастания семян показали, что при различных методах предобработки

наблюдались различия по срокам появления всходов (рис. 1). Проращивание семян без предвари-

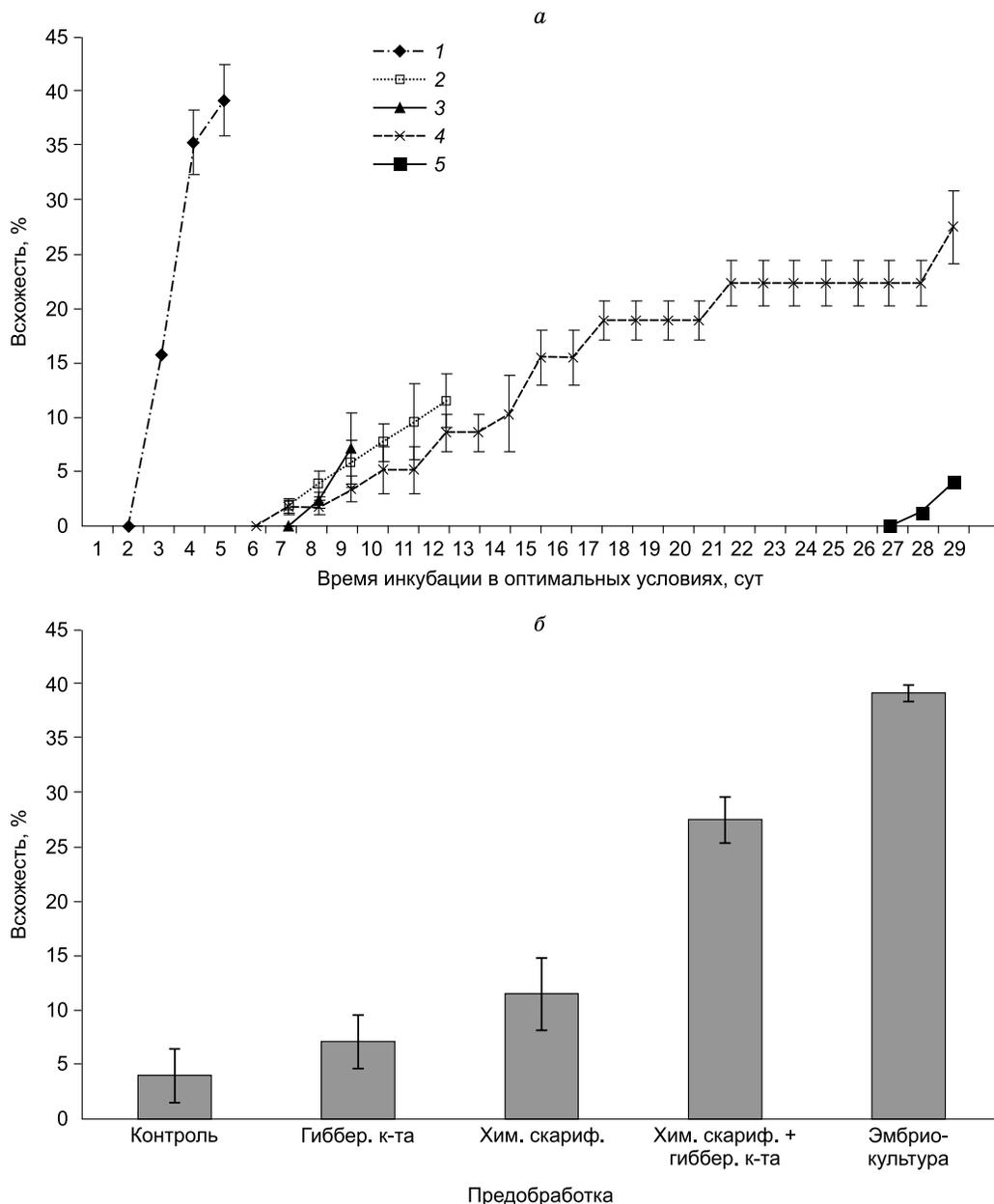


Рис. 1. Влияние различных вариантов предобработки на прорастание *N. sibirica* в условиях *in vitro*:

а – динамика прорастания семян; б – всхожесть семян. 1 – эмбриокультура; 2 – химическая скарификация; 3 – гибберелловая кислота; 4 – химическая скарификация + гибберелловая кислота; 5 – контроль.

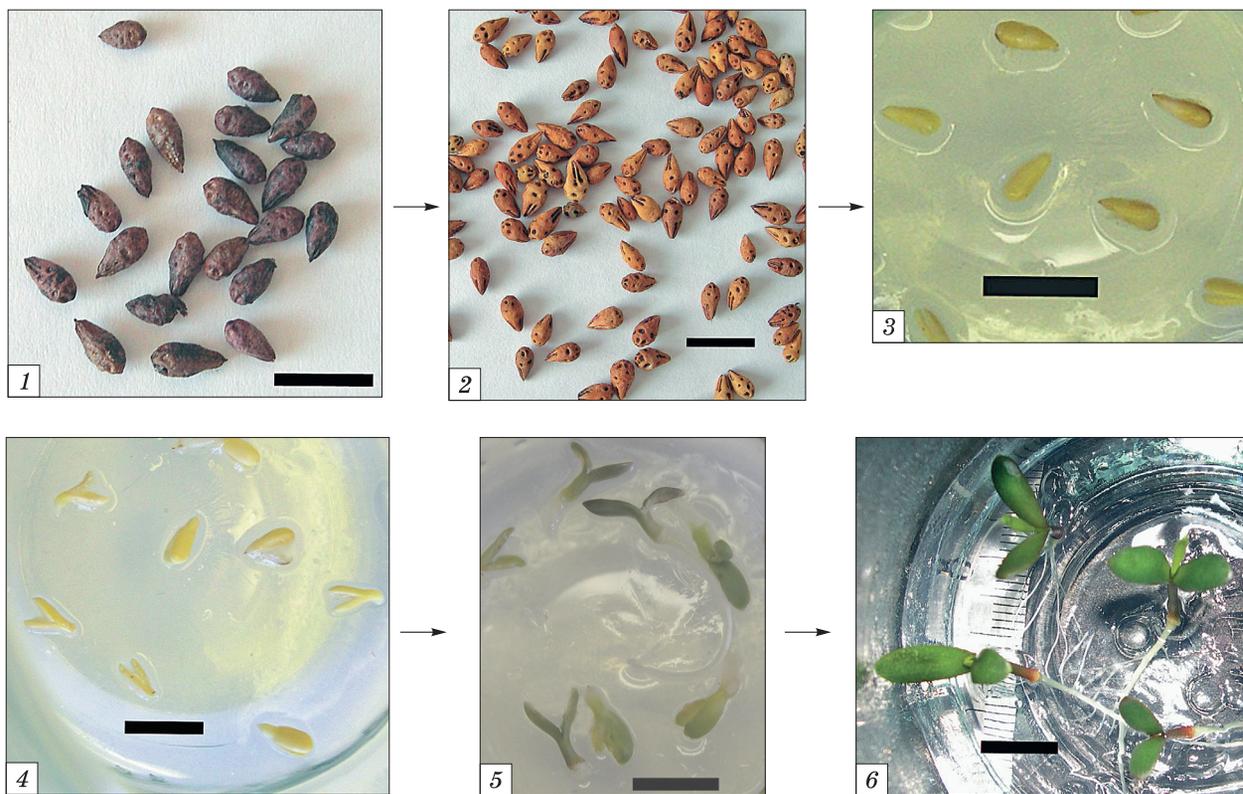


Рис. 2. Динамика развития проростков *N. sibirica* в условиях эмбриокультуры:

1 – исходные семена; 2 – семена после химической скарификации; 3 – изолированные зародыши; 4 – зародыши после 1 сут культивирования; 5 – проростки после 3 сут культивирования; 6 – проростки после 7 сут культивирования. Масштаб: 1 см.

тельной обработки (контроль) оказалось неэффективным: появление первых проростков зафиксировано на 27 сут культивирования, всхожесть составила лишь 4.01 %.

Применение кратковременной холодной стратификации (две недели), которую обычно используют для выведения зародыша из неглубокого физиологического покоя (Николаева и др., 1999), оказалось малоэффективным. При перенесении образцов в благоприятные для прорастания температурные условия через месяц культивирования наблюдалось проклевывание примерно 6 % семян, однако дальнейшее развитие тормозилось, и проростки не развивались. Проращивание семян, предварительно обработанных раствором ГК₃, также оказалось малоэффективным (см. рис. 1) – всхожесть 7.14 %. Однако при этом появление первых проростков зафиксировано на 8 сут культивирования, что свидетельствует о сокращении сроков прорастания. При обработке горячей водой отмечалось проклевывание 20 % семян через ме-

сяц культивирования, однако полноценные проростки не сформировались. При химической скарификации с использованием серной кислоты появление проростков зафиксировали через неделю инкубации (см. рис. 1). Энергия прорастания увеличилась, но всхожесть оказалась низкой и составила 11.5 % на 12 сут эксперимента. Далее на протяжении двух месяцев наблюдения новых проростков не появлялось. Сочетание химической скарификации с обработкой ГК₃ оказалось более эффективным по сравнению с контролем: проростки появились через неделю инкубации, всхожесть увеличилась до 27.5 %, при этом энергия прорастания была невысокой – семена прорастали со значительными временными интервалами.

При использовании метода эмбриокультуры энергия прорастания и всхожесть значительно увеличились (см. рис. 1, 2). Максимальное количество всходов отмечалось на 4 сут культивирования – 20 %, всхожесть составила 39.2 %.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования по прорастанию семян ксеро- и галофитных видов актуальны как для решения практических задач их размножения и дальнейшего использования в фитомелиоративных целях,

так и для лучшего понимания адаптивных стратегий выживания этих видов в жестких аридных условиях. Одной из таких стратегий является снижение всхожести семян в условиях дефицита влаги,

которое уменьшает вероятность гибели проростков в нестабильных условиях среды (Zeng et al., 2010).

В ранних работах по проращиванию свежесобранных (либо хранившихся один зимний период) семян селитрянки авторы рекомендовали посеять без какой-либо предварительной подготовки, либо после краткосрочного замачивания (Григорьев, 1952; Семенное размножение..., 1970). Однако более длительное замачивание в воде (от 24 до 120 ч) способствовало существенному увеличению всхожести семян *N. tangutorum* Vobr., которая при проращивании в течение 14 сут составила 80–83 %. Стимулировало прорастание семян селитрянки сибирской и замачивание в течение 48–120 ч в 0.2%-й KNO_3 (Zeng et al., 2010).

Y.J. Zeng с соавторами (2010) протестировали также тепловую обработку, которую используют для преодоления так называемой “твердосемянности” (Николаева и др., 1999). Авторами показано, что оптимальным для прорастания семян *N. tangutorum* является использование переменной температуры 25/35 °С, а для *N. sibirica* – 25/30 или 20/30 °С. Предварительный прогрев способствовал прорастанию семян *N. tangutorum*, но отрицательно действовал на семена *N. sibirica*.

Согласно результатам наших исследований, семена *N. sibirica* без предварительной обработки (контроль) имели низкую всхожесть (4.01 %), кроме того сроки появления проростков были продолжительными (около месяца). После обработки семян горячей водой зафиксировали начало раннего прорастания, т. е. появление корешков у 20 % семян, однако в дальнейшем прорастание затормозилось и полноценные проростки не сформировались. Кратковременная холодовая стратификация, применяемая для преодоления неглубокого физиологического покоя, также не дала положительных результатов. Отмечалось проклевывание 6 % семян, но далее они не проросли.

Химическая скарификация с использованием серной кислоты привела к увеличению энергии прорастания, появление проростков зафиксировано на 12 сут эксперимента, однако всхожесть увеличилась всего на 7.51 % по сравнению с контролем. В работах Y.J. Zeng с соавторами (2010) при предпосевной обработке концентрированной H_2SO_4 в течение 3–6 ч также отмечено улучшение всхожести семян *N. tangutorum*, но при этом большинство зародышей повреждалось.

Обработка семян видов рода *Nitraria* гибберелловой кислотой (ГК_3) демонстрирует противоречивые результаты. Эксперименты по проращиванию семян *N. retusa* (Forsk.) Aschers., предварительно выдержанных в течение 20 сут при $t = 50$ °С, а затем обработанных ГК_3 , показали высокую

всхожесть (94 %) (Suleiman et al., 2008), в то время как всхожесть семян австралийского вида *N. billardieri* DC. была низкой (около 25 %), несмотря на предварительную обработку ГК_3 (Commander et al., 2009). Замачивание семян *N. sibirica* в течение 24–120 ч в 0.02–0.1%-м растворе ГК_3 дало положительный эффект при проращивании (Zeng et al., 2010). В результате наших исследований также отмечено стимулирующее действие ГК_3 на скорость прорастания и всхожесть. Применение гибберелловой кислоты сократило время появления всходов до 8 сут вместо 27, но всхожесть увеличилась незначительно (на 3.13 %) по сравнению с контролем. Однако воздействие ГК_3 на семена, предварительно обработанные серной кислотой, увеличило всхожесть на 23.5 % по сравнению с контролем. Это свидетельствует о том, что влияние серной кислоты является эффективным способом разрушения клеток околоплодника, что облегчает поступление воды, а также регуляторов роста, например ГК_3 , в ткани зародыша и стимулирует его развитие. Однако низкая эффективность использования только химической скарификации может указывать на наличие ингибиторов роста в клетках околоплодника, т. е. на присутствие экзогенного химического (A_x) покоя зародыша (Николаева и др., 1999).

В наших исследованиях наиболее эффективным оказалось сочетание двух подходов – химической скарификации и метода эмбриокультуры. Экспериментально было подобрано время обработки семян серной кислотой (50 мин), позволяющее размягчить эндокарпий у семян *N. sibirica*, но при этом не повредить зародыши. Применение метода эмбриокультуры способствовало значительному увеличению скорости прорастания и всхожести *N. sibirica* в культуре *in vitro*. Появление первых проростков отмечалось на 3 сут культивирования, массовое – на 4–5 сут. Всхожесть составляла 39.2 %. Подобный результат нами наблюдался при проращивании в культуре *in vitro* извлеченных зародышей *N. sibirica* из популяций Алтайского края и Республики Алтай (Zhelez-nichenko et al., 2016). Появление первых проростков было зафиксировано на 2–3 сут культивирования, а всхожесть варьировала от 77.6 до 89.5 % в зависимости от места сбора семян. Полное удаление околоплодника в опытах, вероятно, нивелировало влияние экзогенных причин покоя. После удаления околоплодника при полной доступности воды процесс прорастания определяется только коротким периодом покоя зародыша.

Однако выявленная в двух этих экспериментах существенная разница в величине всхожести семян *N. sibirica*, вероятно, свидетельствует об изменении состояния покоя в процессе длительного

хранения. Ранее нами также было установлено резкое снижение всхожести семян *N. sibirica* и *N. schoberi* L. после длительного хранения в комнатных условиях (Банаев, Томошевич, 2013). Всхожесть семян, хранившихся не более трех месяцев, после кратковременной холодовой стратификации в течение 15 сут при проращивании в лабораторных условиях у *N. sibirica* варьировала от 40 до 95 %; у *N. schoberi* она составила 85–90 %, что подтверждает выводы Y.J. Zeng с соавторами (2010) о неглубоком физиологическом типе покоя “свежесобранных” семян селитрянки. Однако после 4–5 лет хранения даже после стратификации в течение 60 сут семена не прорастали, в отдельных случаях их всхожесть составила 12 %. При этом было выявлено, что это не связано с потерей семенами жизнеспособности, так как после применения 4-часовой предпосевной обработки семян *N. sibirica* концентрированной H₂SO₄ всхожесть за 19 сут составила 22.5 %.

Полученные данные позволяют предположить, что у семян селитрянки в процессе длительного хранения и высыхания увеличивается глубина покоя, что является механизмом адаптации вида и может указывать на связь вида с пустынными местообитаниями. Примеры, когда в процессе хранения семена уходят в покой нечасты, однако

такие виды растений известны, в частности у лещины обыкновенной (*Corylus avellana* (L.) H. Karst.) семена сразу после сбора легко прорастают, но по мере сухого хранения входят в состояние неглубокого покоя (Николаева и др., 1985). Возможно также, что семена *N. sibirica* обладают комбинированным типом покоя, причем в процессе длительного хранения действие ингибиторов покровов семян и, следовательно, доля влияния экзогенного химического типа покоя увеличиваются. Таким образом, вопрос о типе покоя семян селитрянки требует дополнительного исследования.

Результатами настоящей работы показано, что при проращивании длительно хранившихся семян *N. sibirica* эффективно сочетание химической скарификации с обработкой материала ГК₃, однако наилучшей комбинацией методов для преодоления покоя семян селитрянки сибирской оказалась непродолжительная химическая скарификация и метод эмбриокультуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 16-04-00631 А и гранта программы Президиума РАН № АААА-А16-116051110233-0.

ЛИТЕРАТУРА

- Банаев Е.В., Воронкова М.С., Высочина Г.И., Томошевич М.А.** Популяционная структура и дифференциация сибирских представителей рода *Nitraria* L. (*Nitrariaceae*) по составу и содержанию фенольных соединений в листьях // Сиб. экол. журн. 2015. № 6. С. 890–898. [То же. E.V. Banaev, M.S. Voronkova, G.I. Vysochina, M.A. Tomoshevich. Population structure and differentiation of the Siberian representatives of the genus *Nitraria* L. (*Nitrariaceae*) based on the composition and content of phenolic compounds in leaves // Contemp. Probl. Ecol. 2015. V. 8, No. 6, P. 735–742.]
- Банаев Е.В., Высочина Г.И., Кукушкина Т.А.** Изменчивость содержания биологически активных веществ в листьях селитрянки – *Nitraria sibirica* Pall. (*Nitrariaceae*) // Сиб. экол. журн. 2014. № 1. С. 115–122. [То же. E.V. Banaev, G.I. Vysochina, T.A. Kuskushkina. Variability in the content of biologically active substances in the leaves of *Nitraria sibirica* Pall. (*Nitrariaceae*) // Contemp. Probl. Ecol. 2014. V. 7, No. 1. P. 90–96.]
- Банаев Е.В., Томошевич М.А.** Особенности прорастания семян некоторых видов рода *Nitraria* L. // Материалы IV Междунар. науч. конф. “Сохранение и реконструкция ботанических садов и дендропарков в условиях устойчивого развития”. Украина; Белая Церковь, 2013. С. 72–73.
- Григорьев Г.В.** Селитрянки – кустарники для защитного лесоразведения в полупустыне // Лесн. хозво. 1952. № 4. С. 32.
- Лакин Г.Ф.** Биометрия. М., 1990. 352 с.
- Мальшев Л.И., Пешкова Г.А.** Особенности и генезис флоры Сибири (Предбайкалье и Забайкалье). Новосибирск, 1984. 265 с.
- Николаева М.Г., Лязгунова И.В., Поздова Л.М.** Биология семян. СПб., 1999. 232 с.
- Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н.** Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л., 1985. 348 с.
- Новикова Т.И., Набиева А.Ю., Полубоярова Т.В.** Сохранение редких и полезных растений в коллекции Центрального сибирского ботанического сада // Вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12, № 4. С. 564–572.
- Семенное** размножение интродуцированных древесных растений / Н.А. Бородина [и др.]; под ред. П.И. Лапина. М., 1970. 319 с.
- Bakri M., Yang Y.I., Ling-Dan C., Aisa H.A., Mong-Heng W.** Alkaloids of *Nitraria sibirica* Pall. decrease hypertension and albuminuria in angiotensin II-salt hypertension // Chin. J. Natural Med. 2014. V. 12, No. 4. P. 266–272.
- Commander L.E., Merritt D.J., Rokich D.P., Dixon K.W.** Seed biology of Australian arid zone species: Germination of 18 species used for rehabilitation // J. Arid Environm. 2009. V. 73, Iss. 6–7. P. 617–625.

- Li S., Tu L.** The studies on the embryology of *Nitraria sibirica* Pall. IV. The developmental anatomy of the fruit and seed // Acta Scient. Nat. Univ. Intramontogolicae. 1991. V. 22. P. 389–395.
- Omar S.A.S., Al-Mutawa Y., Zaman S.** Vegetation of Kuwait, Kuwait: Kuwait Institute for Scient. Res., 2007. P. 32–159.
- Sharifi-Rad J., Hoseini-Alfatemi S.M., Sharifi-Rad M., Teixeira da Silva J.A.** Antibacterial, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory activities of crude extract from *Nitraria schoberi* fruits // 3 Biotech. 2015. V. 5. P. 677–684.
- Sudharsan C., Abo El-Nil M., Hussain J.** Tissue culture technology for the conservation and propagation of certain native plants // J. Arid Environ. 2003. No. 54. P. 133–147.
- Suleiman M.K., Bhat N.R., Abdal M.S., Zaman S., Thomas R.R., Jacob S.** Germination studies in *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch // M.-E. J. Scient. Res. 2008. No. 3 (4). P. 211–213.
- Zeng Y.J., Wang Y.R., Zhang J., Li Z.B.** Germination responses to temperature and dormancy breaking treatments in *Nitraria tangutorum* Bobr. and *Nitraria sibirica* Pall. // Seed Sci. Technol. 2010. V. 38, Iss. 3. P. 537–550.
- Zhao K., Fan H., Jiang X., Song J.** Improvement of saline soil by planting halophytes // Yingyong Yu Huanjing Shengwu Xuebao. 2002. V. 8, No. 1. P. 31–35.
- Zheleznichenko T.V., Novikova T.I., Banaev E.V.** Effect of NaCl on the embryo rescue of *Nitraria sibirica* // Plant Cell Biotechnol. Molec. Biol. 2016. V. 17 (5–6). P. 184–190.