На правах рукописи



БОГОУТДИНОВА ЛИЛИЯ РАШИДОВНА

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТИПОВ ТОМАТА ПО СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

1.5.21. Физиология и биохимия растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологическихнаук

Москва – 2026

Работа выполнена в лаборатории клеточной и репрдуктивной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»

Научный руководитель: **Халилуев Марат Рушанович**, кандидат биологических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Кулуев Булат Разяпович**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Емельянов Владислав Владимирович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, доцент кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, г. Москва

Защита диссертации состоится «15» декабря 2026 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.479.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», по адресу: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Карла Маркса, 12. E-mail: dis-bio-uust@yandex.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологии», адрес сайта: http://www.uust.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2026г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н. Григориади А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Томат (*Solanum lycopersicum* L.) – высокочувствительная к засолению культура. Необходимым требованием при изучении засоления является создание и поддержание константных контролируемых условий, которых достаточно сложно достичь при тестировании в вегетационных сосудах и при проведении полевых испытаний (Гончарова, 2011; Huang et al., 2016). Отмеченных недостатков лишена система тестирования растений в экспериментальных условиях *in vitro*. В ряде исследовательских работ установлена прямая взаимосвязь между устойчивостью к засолению *in vitro* и взрослых растений *ex vitro* у культурного и диких видов томата (Cano et al., 1998) (Barage, 2002). В настоящее время многие физиолого-биохимические исследования направлены на понимание адаптивных реакций растений в условиях засоления, а также на поиски соответствующих маркеров для выявления доноров устойчивости. Таким образом, разработка комплексной системы оценки генотипов томата по устойчивости к засолению NaCl на ранних этапах развития в условиях *in vitro* с использованием морфометрических, биохимических и цитологических характеристик может способствовать повышению эффективности селекции на устойчивость растений к солевому стрессу.

Цель и задачи диссертационной работы

Целью настоящего исследования является проведение комплексной сравнительной физиолого-биохимической оценки генотипов томата на ранних этапах онтогенеза по устойчивости к засолению, индуцированному NaCl, с помощью лабораторных методов на организменном, органном, тканевом и клеточном уровнях.

На основании поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Методом рулонной культуры провести скрининг генотипов томата по устойчивости к засолению с использованием морфометрических и физиолого-биохимических показателей;

2. На модели контрастных по устойчивости к хлоридному засолению генотипов томата (линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен) разработать эффективную систему их сравнительной оценки *in vitro* на модели проростков, выровненных по габитусу и стадии развития;

3. Проанализировать морфометрические (число и длина *de novo* регенерированных корней, а также сырая и сухая биомасса корней и побегов) и физиолого-биохимические (оводненность, дыхательный и фотосинтетический CO_2-газообмен, а также содержание пролина, и фотосинтетических пигментов) показатели томата линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен в условиях засоления *in vitro*;

4. Изучить влияние засоления *in vitro* на анатомо-морфологическую характеристику различных тканей корня, гипокотиля и семядольного листа, а также ультраструктурную организацию клеток корня и фотосинтезирующих тканей томата селекционной линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен;

5. Провести иммуноцитохимических анализ тубулинового цитоскелета, а также цитофотометрический анализ распределения клеток меристемы по фазам клеточного цикла у корней томата линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен, *de novo* регенерированных в условиях засоления *in vitro*.

Научная новизна работы. В работе впервые применён новый методологический подход для сравнительной оценки генотипов томата в условиях NaCl засоления *in vitro* по комплексу физиолого-биохимических и цитологических показателей на организменном, органном, тканевом и клеточном уровнях организации. Данный методологический подход подразумевает использование в качестве исходного растительного материала выравненных по габитусу асептических ювенильных проростков томата, что позволяет получать корректные экспериментальные данные сравнительной оценки в константных контролируемых условиях. При этом сравнительная оценка по морфометрическим, физиолого-биохимическим и цитологическим показателям осуществляется на модели корней, *de novo* образованных непосредственно на питетельной среде с добавлением стрессового агента, что крайне важно для получения достоверных качественных и количественных характеристик.

Теоретическая и практическая значимость работы. Изучение механизмов устойчивости растений к засолению предполагает необходимость комплексного подхода в изучении различных физиолого-биохимических и структурно-функциональных характеристик. Применение разработанного комплексного подхода для сравнительной оценки растений томата по ряду морфометрических, физиолого-биохимических и цитологических показателей может быть использовано для скрининга генотипов томата с повышенной устойчивостью к засолению. Кроме того, он может быть также успешно применен и на других модельных объектах и практически значимых культурах, не имющих трудностей в отношении индуцированного ризогенеза в условиях *in vitro*. Результаты работы могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций и проведения лабораторно-практических занятий по курсу «Физиология растений», «Культура растительных клеток и тканей».

Апробация работы. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 8 всероссийских и международных научных конференцях и симпозиумах: Годичное Собрание ОФР, «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты»

(Судак, 2017); Съезд Русского ботанического общества, «Ботаника в современном мире» (Махачкала, 2018); IX Съезд общества физиологов растений России, «Физиология растений - основа создания растений будущего» (Казань, 2019); VI Всероссийская конференция с международным участием, «Экобиотех 2019» (Уфа, 2019); Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2020» (Москва, 2020); Всероссийская международная конференция молодых учёных, посвященная памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева, «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (Москва, 2022); VI Всероссийская научная конференция с международным участием, «Устойчивость растений и микроорганизмов к неблагоприятным факторам среды» (Иркутск, 2023); XXIV конференция молодых ученых с международным участием, «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии XXIV» (Москва, 2024).

Личный вклад автора в проведенные исследования. Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии, планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных и представлении результатов для их публикации (совместно с соавторами по публикациям), оформлении текста диссертации и автореферата диссертации. Значительная часть экспериментальной работы выполнена соискателем самостоятельно.

Публикации. Основные результаты по теме диссертации изложены в 5 публикациях, среди которых статей, 2 статьи – в отечественных изданиях, которые входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 3 статьи – в разбуженных изданиях, включенных в международные базы данных Scopus и/или Web of Science.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработанный методологический подход для сравнительной оценки проростков томата в условиях засоления *in vitro* более эффективен по сравнению с лабораторным методом рулонной культуры.

2. Одинаковые по габитусу и стадии развития фрагменты надземной части ювенильных проростков позволяют получить достоверные и корректные для интерпретации экспериментальные данные для сравнительной физиолого-биохимической оценки различных генотипов томата в условиях засоления *in vitro*.

3. Выявлены различные морфометрические (число и длина *de novo* регенерированных корней, а также сырая и сухая биомасса корней и побегов), физиолого-биохимические (оводненность, дыхательный и фотосинтетический CO_2-газообмен, а также содержание

пролина и фотосинтетических пигментов) и анатомо-морфологические (размеры клеток корней, гипокотилей и семядолей, а также изменения ультраструктурной организации пластид, митохондрий и ядра) показатели, которые могут быть применены для сравнительной оценки генотипов томата по устойчивости к засолению в условиях *in vitro* на организменном, органном, тканевом, и клеточном уровнях.

4. Распределение клеток корней меристемы по фазам клеточного цикла, а также реорганизация тубулинового цитоскелета у *de novo* корней, регенерированных в различных условиях NaCl засоления *in vitro*, являются эффективными цитологическими критериями для сравнительной оценки генотипов томата на клеточном уровне.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания методов и объектов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 356 источник. Материалы диссертации изложены на 176 страницах текста, включая 35 рисунков и 4 таблицы.

Объект исследования. Растительным материалом для исследований служили генотипы томата различного эколого-географического происхождения (Астраханский, Белый Налив, Бычье Сердце, Гея, Рекордсмен, Парадигма, Юрьевский), включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ на 2024 год, а также семенная линия ЯЛФ, используемая в качестве отцовской формы для получения F1 гибрида Юниор.

Степень достоверности работы. Достоверность экспериментальных данных подтверждается достаточным количеством воспроизводимых результатов, прошедших статистическую обработку, а также публикацией результатов в рецензируемых журналах и представлением материалов исследования на международных и всероссийских конференциях.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю, кандидату биологических наук, Халилуеву Марату Рушановичу, сотрудникам лаборатории клеточной и репродуктивной биологии ФГБНУ ВНИИСБ, в особенности, кандидату биологических наук, ведущему научному сотруднику ФГБНУ ВНИИСБ, Барановой Екатерине Николаевне, за всестороннюю помощь и поддержку в выполнении данной работы. Автор чрезвычайно признательна своим соавторам и коллегам, которые помогли решению целого ряда задач во время выполнения работы, в часности, кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН Шелеповой Ольге Владимировне; кандидату биологических наук, научному сотруднику ИФР РАН, Ралдугиной Галине Николаевне, доктору биологических наук, профессору кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Смирновой Елене

Александровне и ведущему научному сотруднику ФГБНУ ВНИИСБ, кандидату биологических наук, Лазаревой Елене Михайловне.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** аргументирована актуальность, сформулированы цель и задачи исследований, изложены основные положения, выносимые на защиту, обоснованы научная новизна и практическая значимость работы.

В **первой главе** представлен литературно-аналитический обзор. В обзоре литературы приведены сведения о влиянии солевого стресса на растения; рассмотрен объект исследования – растения томата, их физиологические и биохимические особенности, в том числе и в условиях засоления; описаны методы физиолого-биохимической оценки растений при солевом стрессе.

Во **второй главе** представлены объект и методы исследований.

Объект исследования. Для проведения скрининга генотипов по устойчивости к засолению был использован ряд генотипов томата (линия ЯЛФ, сорта Рекордсмен, Юрьевский, Парадигма (Уральский Дачник), Бычье Сердце, Астраханский, Белый Налив (Белый Налив 241), Гея), рекомендованных для выращивания на различных территориях. Поскольку различные регионы выращивания различаются по степени почвенного засоления, было сделано предположение, что отобранные генотипы томата также отличаются по данному признаку.

Методики исследования: Постановка эксперимента рулонным методом. Растения томата культивировали на неагаризованной среде МС. На стадии образования первого настоящего листа фильтровальную бумагу с проростками переносили на неагаризованную ½ МС питательную среду без добавления NaCl (контроль), а также с добавлением 150 мМ NaCl (опыт). Культивирование осуществляли в условиях климатической камеры WLR-351H (Sanyo, Япония) при 25/23°C (16/8 ч, день/ночь). На восьмые сутки сравнительной оценки проводили подготовку растительного материала для морфометрических, физиолого-биохимических и цитологических анализов. Получение асептических проростков томата и проведение сравнительной оценки генотипов в условиях NaCl засоления *in vitro.* На первом этапе семена томата линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен подвергали поверхностной стерилизации в течение 30 с в 96% этаноле. Обеззараженные семена помещали в культуральные сосуды с питательной средой МС (Murashige, Skoog, 1962) без регуляторов роста с добавлением 3% сахарозы и 0,7% агара; pH питательной среды – 5,7–5,8. Растения выращивали на питательной среде до формирования первого настоящего листа. У ювенильных проростков томата в стерильных условиях отсекали корень и часть гипокотиля, чтобы их размер составлял примерно 2 см. Затем надземную часть переносили в культуральные сосуды со средой для индукции

ризогенеза (½MC с добавлением 2% сахарозы, 0,7% агара, 0,2 мг/л 3-индолилмасляной кислоты (ИМК) (Sigma, США) с добавлением различных концентраций (25–250 мМ) NaCl (Рис.1).

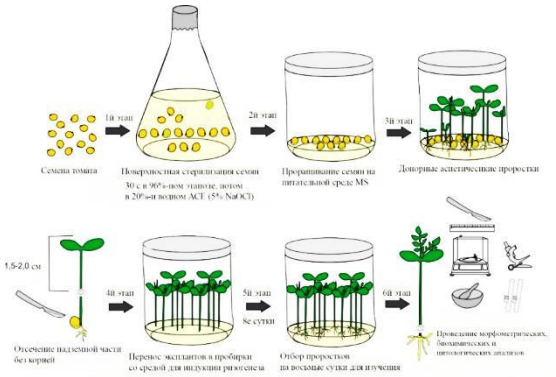


Рисунок 1. Схема культирования и получения донорных проростков растений томата *in vitro*.

Определение морфометрических показателей. Морфометрическую характеристику корневой и побеговой частей у проростков томата, выращенных рулонным методом, осуществляли по следующим показателям: сырая и сухая биомасса корней и побега (мг), оводненность (%). Морфометрическую характеристику корневой и побеговой частей проростков томата *in vitro* проводили по следующим показателям: частота ризогенеза, количество (шт) и длина (см) регенерировавших *de novo* корней, сырая и сухая биомасса корневой и побеговой частей проростка (мг), оводненность (%). Количественное содержания пролина. Определение пролина проводили по методу, описанному в работе Ралдугиной с соавторами (Raldugina et al., 2023), основанному на модифицированной методике Bates (Bates et al., 1973). Определение фотосинтетических пигментов. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов a, b и каротиноидов) определяли путем экстракции пигментов из листьев 96%-ным этиловым спиртом (Shlyk, 1971). Степень поглощения раствором (оптическую плотность) хлорофиллов a, b и каротиноидов определяли на спектрофотометре Genesys 20 (ThermoScientific, Waltham, MA, USA) при длине волны 665, 649 и 471 нм соответственно. Содержание пигмента a (мкг$\cdot$г$^{-1}$ сырой массы) рассчитывали по формулам (Lichtenthaler, 1987). Определение электропроводности и поглощения ионов. Для определения содержания ионов Cl^-, Na^+, K^+ элементы экстрагировали с помощью ультразвука (Сапфир, Россия) при 35 кГц в течение 30 мин при 40°C в 25 мл деионизированной воды. Полученный фильтрат анализировали для определения количественного содержания ионов с использованием ионоселективных электродов: калийного (ЭЛИТ-031), натриевого (ЭЛИС-112), а также хлоридного (ЭЛИТ-261) с помощью ионометра ИТАН (ТомскАналит, Россия). Содержание ионов (мг/л) определяли путем построения зависимости ЭДС от концентрации ионов по заранее построенной шкале эталонных растворов в исследуемом диапазоне концентраций (10^{-1}–10^{-4} М). Определение содержания фенольных соединений и флавоноидов. Общее содержание полифенолов измеряли с использованием реагента Фолина–Чиокальтеу (Nikolaeva et al., 2019). Общее содержание флавоноидов определяли модифицированным методом, описанным (Kuzmenko et al., 2019). Измерение дыхательного и фотосинтетического CO_2-газообмена у растений,

культивируемых в условиях *in vitro*. Измерение дыхательного и фотосинтетического CO_2-газообмена осуществляли с использованием ранее разработанной системы (Баранова Е. Н. и др., 2016). Цитофотометрический анализ распределения клеток корневой меристемы по фазам клеточного цикла. Для проведения цитофотометрического анализа кончики корня (0,5–0,7 см) фиксировали в течение 3 ч в смеси 96% этанола и уксусной кислоты (3:1) (Реахим, Россия). После этого отделяли зону корневой меристемы, которую мацерировали в смеси, состоящей из 0,4% целлюлазы и 0,4% пектиназы в течение 2 ч при 37°C. Затем проводили окрашивание по методу Фельгена с использованием реактива Шиффа (Merck, Германия) в течение 2 ч. Предварительно в течение 40 мин проводили гидролиз 5 N HCl при 22°C. Определение содержания ДНК в ядрах меристематических клеток корня проводили на цитофотометре SMP-20 (Opton) с объективом ×16, окуляром ×10 и зондом 0,16 мм. В качестве стандарта использовали ядра меристематических клеток корня, находящихся в стадиях телофазы (2C) или метафазы (4C). Световая, трансмиссионная (ТЭМ) и сканирующая (СЭМ) электронная микроскопия. *Для проведения световой и ТЭМ* микроскопии использовали фрагменты срединной части гипокотилей и семядолей, а также кончики корней размером 2–3 мм. Фиксацию проводили в течение суток с использованием 2,5% раствора глутарового альдегида (Merck, Германия) на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2) с добавлением 1,5% сахарозы. На следующем этапе образцы 5 раз по 30 мин промывали 0,1 М фосфатным буфером и дофиксировали в течение 1 ч при 4°C 1% раствором OsO_4 (Sigma, США). Впоследствии образцы обезвоживали в растворах этанола возрастающей концентрации (30, 50, 70, 96 и 100%). Затем растительный материал проводили через смесь заливочных смол, состоящих из Epon 812 и Araldit M (Merck, Германия). Затем образцы помещали в заливочные формы и полимеризовали с заливочной смолой с добавлением катализатора DMP-30 (Sigma, США) и затачивали под бинокуляром и помещали в держатель ультрамикротома LKB-V (LKB, Швеция). Морфометрические показатели клеток на срезе определяли при использовании программы Cell-A (Olympus, Япония). Для оценки размеров клеток различных тканей и органов использовали не менее 300 клеток, срезы которых были получены от трёх независимых проростков (трехкратная повторность). Показатель S ядрышка / S ядра определяли как отношение площади ядрышка конкретной клетки к площади ядра этой же клетки. *После обезвоживания растительного материала для СЭМ* в серии растворов этанола повышающейся концентрации (30, 50, 70, 96 и 100%) проводили высушивание растительного материала в критической точке (ВКТ). Далее на высушенные образцы осуществляли напыление частицами золота размером 20-40 нм (толщина слоя составляла 10-15 нм) с использованием ионно-распылительной установки IB-3 Ion Coater (EIKO, Япония). Иммуноцитохимический анализ тубулинового цитоскелета. Для

иммуноцитохимического анализа микротрубочек клеток меристематической зоны корня осуществляли подготовку и приготовление препаратов мацерированных клеток (Lazareva et al., (2003). Статистическая обработка данных. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием параметрических критериев Стьюдента, Фишера и Дункана, Расчёты были проведены с помощью программы AGROS (Агрос, Россия) (версия 2.11, Москва, Россия), а также стандартных пакетов программы Microsoft Excel 2010 (One Microsoft Way, США) при 5% уровне значимости (α=0,05). Кластерный анализ (методом невзвешенных парно-групповых средних, UPGMA) с использованием меры сходства Жаккара был проведен в программе PAST 3.1 (Natural History Museum, Norway) (Hammer et al., 2001).

В **третьей главе** представлены результаты исследования и их обсуждение. В диссертационном исследовании представлена оценка ответных реакций растений на солевой стресс рулонным методом и в условиях *in vitro* на ювенильном этапе развития.

Обоснование выбора объекта исследования для сравнительной оценки генотипов томата по солеустойчивости с применением рулонного подхода

Для определения солеустойчивости с применением рулонного подхода было отобрано 8 генотипов томата из различных регионов РФ по засолению. Скрининг проводился с использованием следующих классических показателей: сырая и сухая биомасса корней и побегов; содержание воды в различных тканях и органах; содержание легкорастворимых солей, ионов натрия и хлора; площадь устьиц; содержание фотосинтетических пигментов, фенольных соединений и флавоноидов (Ахметова и др., 2024). Для имитации засоления питательная среда для проращивания содержала 150 мМ NaCl.

Сравнительная оценка генотипов томата с использованием метода рулонной культуры

Влияние различных концентраций хлорида натрия на морфометрические показатели

Добавление 150 мМ NaCl в состав питательной среды позволило разделить исследуемые генотипы томата по реакции к стрессовому фактору по показателям сухой и сырой биомассы корней, а также надземной части побега. Так, выделены генотипы томата, у которых происходило как уменьшение сырой биомассы побега (Белый Налив) и корней (Рекордсмен, Парадигма, Белый Налив, Гея), так и, напротив, увеличение данных показателей (Бычье Сердце и Астраханский для сырой биомассы побега; Бычье Сердце, Астраханский и Юрьевский для сырой биомассы корня соответственно).

Важным параметром, характеризующим водный статус при стрессовом воздействии засоления, является содержание воды в растительных тканях. В результате исследования не

было установлено существенных отличий по данному показателю между исследуемыми генотипами томата в условиях 0 и 150 мМ NaCl.

Влияние различных концентраций хлорида натрия на содержание легкорастворимых солей и отдельных ионов

В условиях хлоридного засоления существенное увеличение содержания легкорастворимых солей наблюдалось у всех изученных генотипов. Так, для сортов Рекордсмен, Бычье Сердце и Астраханский увеличение общего содержания легкорастворимых солей происходило примерно в 1,3 раза, тогда как для остальных генотипов – 1,6 – 2,6 раза.

Влияние различных концентраций хлорида натрия на структурную организацию устьичного аппарата

Методом СЭМ были изучены абаксиальная и адаксиальная поверхности семядольных листьев у различных генотипов томата, культивируемых в контрольных (0 мМ NaCl) и стрессовых (150 мМ NaCl) условиях, для оценки поверхностной организации устьиц и размеров их замыкающих клеток. В условиях засоления у ряда генотипов томата (Астраханский, Рекордсмен, ЯЛФ и Белый Налив наблюдается дезорганизация устьиц. Так, у большинства изученных генотипов томата засоление не приводило к достоверным изменениям площади устьиц, расположенных на адаксиальной поверхности, за исключением линии ЯЛФ и сорта Белый Налив. У последних при действии 150 мМ NaCl происходило увеличение площади устьиц в 1,4 и 1,6 раз соответственно. Так же, как и в случае адаксиальной поверхности, площадь устьиц, расположенных на абаксиальной поверхности, у линии ЯЛФ и сорта Белый Налив достоверно увеличивалась в условиях засоления. Данный факт также отмечен и для сорта Гея. Напротив, у сорта Парадигма происходило уменьшение площади устьиц в 1,4 раза по сравнению с контролем (0 мМ NaCl).

Влияние различных концентраций хлорида натрия на содержание фотосинтетических пигментов

Следующим этапом настоящего диссертационного исследования было проведение сравнительной физиолого-биохимической оценки генотипов томата по содержанию фотосинтетических пигментов в контрольных и стрессовых условиях NaCl засоления. По количественному содержанию хлорофилла а исследуемые генотипы томата можно условно разделить на 3 группы: 1) нечувствительные генотипы (сорта Рекордсмен, Юрьевский, Гея и

линия ЯЛФ) (150 мМ NaCl) вариантами; 2) чувствительные генотипы (Бычье Сердце, Астраханский); 3) чувствительные генотипы (Парадигма, Белый Налив).

В отличие от хлорофилла a, реакция исследуемых генотипов томата по содержанию хлорофилла b при NaCl засолении существенно отличалась. Так, среди нечувствительных генотипов по данному показателю выделился только сорт Юрьевский. У остальных генотипов томата NaCl засоление приводило или к достоверному увеличению (Рекордсмен, Бычье Сердце, Астраханский в 1,2–2,1 раза), или снижению (ЯЛФ, Парадигма, Белый Налив и Гея в 1,2–1,3 раза) содержания хл b по сравнению с контролем.

По содержанию каротиноидов в контрольных и стрессовых условиях исследуемые генотипы томата также были распределены на группы: 1) нечувствительные (Юрьевский, Белый Налив и ЯЛФ); 2) чувствительные, у которых наблюдалось достоверное увеличение содержания каротиноидов (1,1–1,3 раза).

Влияние различных концентраций хлорида натрия на содержание фенольных соединений и флавоноидов

В условиях NaCl засоления у трех сортов томата (Парадигма, Рекордсмен и Юрьевский) происходило достоверное уменьшение количества полифенолов, тогда как у остальных генотипов данный показатель соответствовал контролю. В условиях 150 мМ NaCl установлено значительное уменьшение кверцетина у таких генотипов, как Белый Налив, Гея, ЯЛФ и Рекордсмен в 1,2–1,9 раз. Напротив, для сорта Астраханский было характерно увеличению содержания данного флавоноида в 1,3 раза по сравнению с контролем. Содержание кверцитина в условиях 150 мМ NaCl у остальных генотипов статистически не значимо отличалось от соответствующего значения контроля. NaCl засоление приводило к изменению содержания рутина только у двух сортов томата: Гея и Рекордсмен.

Комплексная сравнительная характеристика генотипов томата по устойчивости к NaCl засолению

Для определения солеустойчивости с применением рулонного подхода был взят набор контрастно отличающихся генотипов томата. После этого, используя метод Жакарда, исследуемые генотипы томата были разделены на две группы по солеустойчивости: условно устойчивые (Рекордсмен, Юрьевский, Бычье Сердце и Астраханский) и условно неустойчивые (ЯЛФ, Парадигма, Гея и Белый Налив). Впоследствии для разработки методологического подхода для сравнительной оценки генотипов томата в условиях засоления *in vitro* были отобраны наиболее контрастные по устойчивости к NaCl генотипы: линия ЯЛФ и сорт Рекордсмен. В диссертационной работе был применен новый

методологический подход – применение для сравнительной оценки на устойчивость к засолению фрагментов проростков, полученных из асептических семян, которые однородны по габитусу и стадии развития. Впоследствии фрагменты проростков переносили на питательную среду для индукции ризогенеза с добавлением различных концентраций NaCl (25–250 мМ).

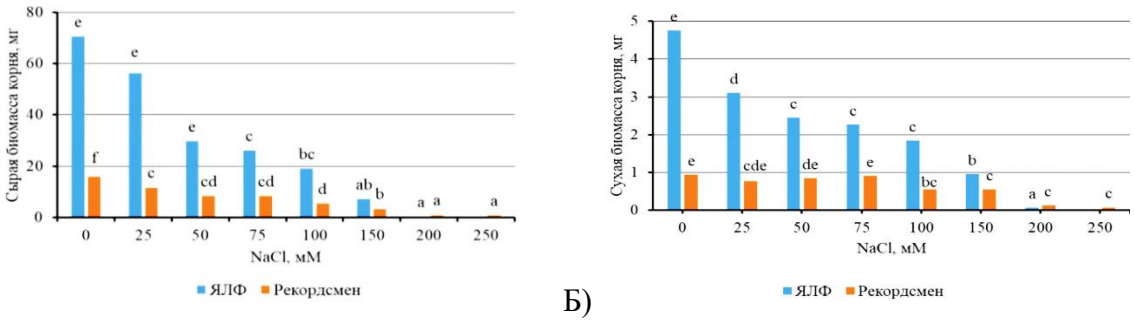
Влияние различных концентраций хлорида натрия на морфометрические параметры томата линии ЯЛФ и сорта Рекодсмен

Влияние хлорида натрия на число регенерированных корней и их длину

У фрагментов проростов томата линии ЯЛФ в условиях 200 мМ NaCl на 5 сутки эксперимента наблюдалась некротизация фрагмента гипокотиля. В отличие от линии ЯЛФ у фрагментов проростков томата сорта Рекордсмен незначительное снижение частоты ризогенеза до 93,3% наблюдалось на среде с бóльшим содержанием NaCl (250 мМ). При культивировании проростков томата на среде для индукции ризогенеза с добавлением NaCl выявлены различия по количеству образовавшихся корней и их длине. Присутствие в среде NaCl в наименьшей концентрации (25 мМ) приводило к достоверному снижению числа регенерированных корней у проростков томата линии ЯЛФ по сравнению с контролем. У сорта Рекордсмен же при минимальных концентрациях изменения числа регенерировавших корней не наблюдалось. В условиях 150 мМ NaCl уменьшение числа корней отмечено и у томата линии ЯЛФ, и у сорта Рекордсмен.

Влияние хлорида натрия на сырую и сухую биомассу корней

Присутствие NaCl в составе питательной среды оказывало существенное влияние на сырую биомассу регенерированных корней у проростков обоих генотипов томата. В ходе исследования была установлена обратная зависимость между показателем сырой биомассы корней и интенсивностью NaCl засоления). Существенные отличия между генотипами выявлены и по показателю сухой биомассы регенерированных корней. С увеличением концентрации NaCl в питательной среде у обоих генотипов томата было показано уменьшение сухой биомассы. Однако у линии ЯЛФ достоверное уменьшение данного показателя отмечалось уже при наименьшей концентрации NaCl (25 мМ) в питательной среде для индукции ризогенеза, тогда как у сорта Рекордсмен – только в условиях 100 мМ NaCl засоления (Рис. 2).

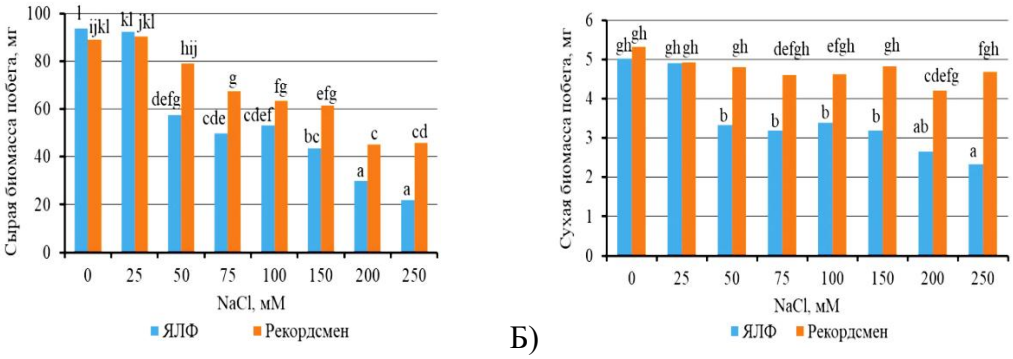


А) Б)

Рисунок 2. Влияние различных концентраций хлорида натрия в составе питательной среды для индукции ризогенеза на сырую и сухую биомассу корня у проростков томата линии ЯЛФ (А) и сорта Рекордсмен (Б). Варианты, сопровождаемые хотя бы одной одинаковой буквой, статистически незначимо отличаются по критерию Дункана при α = 0,05 (n=30).

Влияние различных концентраций хлорида натрия на морфометрическую характеристику побега

Морфометрическую характеристику побеговой части проростков томата осуществляли по показателям сырой и сухой биомассы (Рис. 3). В целом для обоих генотипов томата было характерно уменьшение сырой биомассы побеговой части проростка с увеличением концентрации NaCl в среде (Рис. 3А). Различия между исследуемыми генотипами томата были установлены в количественном содержании NaCl, при котором по сравнению с контролем происходило достоверное снижение сырой биомассы побеговой части проростка. Сухая биомасса у линии ЯЛФ снизилась при 50 мМ, тогда как у сорта Рекордсмен различий почти не наблюдалось по данному показателю (Рис. 3А).



А) Б)

Рисунок 3. Влияние различных концентраций хлорида натрия в составе питательной среды для индукции ризогенеза на сырую (А) и сухую (Б) биомассу побеговой части проростков томата линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен. Варианты, сопровождаемые хотя бы одной одинаковой буквой, статистически незначимо отличаются по критерию Дункана при α = 0,05 (n=30).

Влияние различных концентраций хлорида натрия на оводненность тканей корня и побега

У линии ЯЛФ при минимальной концентрации обнаружено увеличение оводненности тканей корня по сравнению с контролем; при дальнейшем повышением концентрации NaCl отмешено достоверное снижение данного показателя. Напротив, уменьшение оводненности тканей корня у сорта Рекордсмен отмечено при большей концентрации стрессового фактора (50 мМ NaCl и более). Что касается оводненности тканей побега, то для обоих генотипов томата достоверное снижение показателя продемонстрировано при действии 75 мМ NaCl и более.

При культивировании фрагментов асептических проростков томатов, максимально выровненных по габитусу и стадии развития, на среде для индукции ризогенеза были экспериментально установлены сублетальные концентрации, которые для линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен составили 150 и 250 мМ соответственно, которые были использованы в дальнейших исследованиях по физиолого-биохимической и цитологической оценке. Кроме того, использованная ранее концентрация 150 мМ NaCl для сравнительной оценки генотипов томата рулонным методом соответствует одной из пороговых концентраций, отобранных экспериментально в условиях *in vitro*.

Влияние различных концентраций хлорида натрия на фотосинтетический и дыхательный CO_2-газообмен

При определении интенсивностей темнового дыхания (ИТД) и истинного фотосинтеза (ИИФ) у линии ЯЛФ было установлено, что в условиях 75 мМ NaCl происходило достоверное снижение показателей в 1,3 и 1,1 раза соответственно. Последующее уменьшение ИИФ у проростков томата селекционной линии ЯЛФ отмечено на среде, содержащей сублетальную концентрацию NaCl для данного генотипа. В отличие от линии ЯЛФ достоверных различий по показателям ИТД и ИИФ у проростков томата сорта Рекордсмен при действии 75 и 150 мМ NaCl установлено не было. Изменение дыхательного и фотосинтетического CO_2-газообмена у данного генотипа происходило только в условиях сильного засоления (250 мМ NaCl).

Влияние хлорида натрия на биохимические показатели

Между генотипами томата наблюдали резкие различия по изменению содержания пролина и хлорофилла а (хл а) при засолении. Достоверное снижение содержания пролина (в 1,4 и 3,1 раза) и хл а (в 1,9 и 1,6 раза) происходило при культивировании проростков томата линии ЯЛФ в присутствии 75 и 150 мМ NaCl соответственно. Напротив, содержание пролина

в семядолях проростков сорта Рекордсмен достоверно увеличивалось при 75 мМ NaCl, а содержание хл a при 75 и 150 мМ NaCl не отличалось от контрольных значений. Также засоление не приводило к изменению содержания хлорофилла b (хл b), а также значительно повысило содержание каротиноидов в семядольных листьях томатов обоих генотипов.

Влияние хлорида натрия на анатомо-морфологическую структуру клеток корня

Влияние хлорида натрия на степень вакуолизации, а также среднюю площадь клеток первичной коры и центрального цилиндра корня

На всех проанализированных концентрациях NaCl СПКС первичной коры корня у линии ЯЛФ не изменялась, тогда как у сорта Рекордсмен при 250 мМ NaCl СПКС первичной коры корня увеличилась по сравнению с контролем (от 139,2 мкм^2 до 147,5 мкм^2 при 0 и 250 мМ NaCl соответственно). В условиях 75 мМ NaCl засоления СПКС центрального цилиндра корня у линии ЯЛФ уменьшалась и, напротив, увеличивалась (в 1,1 раза) при действии 150 мМ NaCl. У сорта Рекордсмен увеличение СПКС центрального цилиндра корня происходило при действии 75 и 150 мМ NaCl (), а при 250 мМ NaCl – уменьшение данного показателя по сравнению с контролем (в 1,1 раза). Кроме того, при измерении длины эпидермальных клеток корня после воздействия 75 и 150 мМ NaCl было показано, что у линии ЯЛФ этот параметр не изменялся, тогда как у сорта Рекордсмен увеличение длины клеток эпидермиса происходило только в условиях сильного засоления (250 мМ NaCl) (Рис.4).

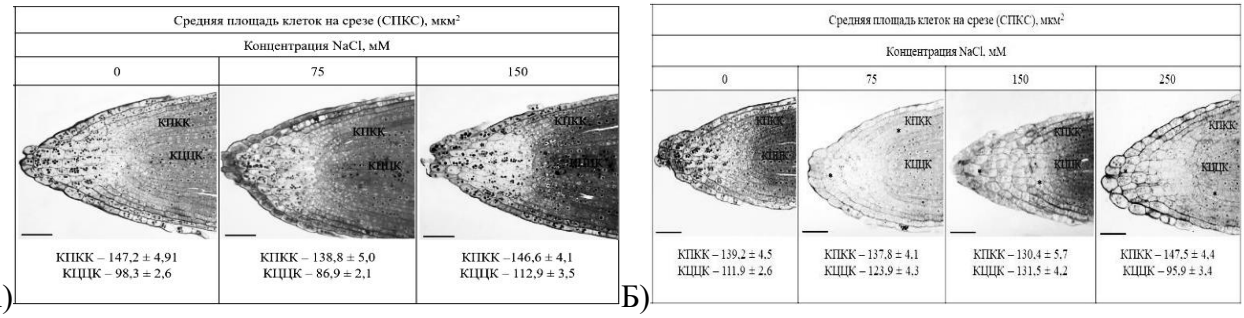


Рисунок 4. Продольный срез корней проростков томата линии ЯЛФ (А) и сорта Рекордсмен (Б) при культивировании на среде для индукции ризогенеза с добавлением 0, 75 и 150 мМ NaCl. Масштаб – 50 мкм. КПКК – клетки паренхимы коры корня, КЦЦК – клетки центрального цилиндра корня. * отмечены вакуолизированные клетки различных тканей корня. Приведена средняя площадь клеток на срезе (СПКС) (n=300) ± ошибка средней

Влияние хлорида натрия на S ядрышка / S ядра в клетках первичной коры и центрального цилиндра корня

У линии ЯЛФ в клетках паренхимы коры корня ядрышко-ядерное соотношение не менялось при добавлении NaCl в питательную среду. В клетках центрального цилиндра у

линии ЯЛФ увеличение S ядрышка / S ядра отмечено только при 75 мМ NaCl. У сорта Рекордсмен в клетках паренхимы коры корня S ядрышка / S ядра увеличивалось по сравнению с контролем при 75 мМ NaCl, а также в клетках центрального цилиндра при более высокой концентрации (150 мМ NaCl).

Влияние NaCl на распределение клеток корневой меристемы по фазам клеточного цикла

У растений линии ЯЛФ как при 75 мМ NaCl, так и при 150 мМ NaCl наблюдалось снижение клеток в G1-фазе, при этом количество клеток в S-фазе уменьшилось только при 150 мМ NaCl. С добавлением NaCl количество клеток в G2-фазе увеличилось. У томата сорта Рекордсмен при концентрациях 150 и 250 мМ NaCl происходило снижение количества клеток в G1-фазе по сравнению с контролем и значительное повышение клеток в G2-фазе. Существенные отличия между генотипами томата выявлены при концентрации 150 мМ NaCl: количество клеток в G1-фазе у томата линии ЯЛФ было соответственно в 1,8 больше, чем у сорта Рекордсмен.

Иммуноцитохимическое выявление α-тубулина в интерфазных клетках корня проростков томата при действии NaCl

Иммуноцитохимический анализ установил, что в интерфазных клетках корня проростков томата линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен в норме выявлялась четкая и упорядоченная сеть пучков кортикальных микротрубочек. В присутствии 75 мМ NaCl происходило изменения сети кортикальных микротрубочек у обоих генотипов томата. Отмечалась фрагментация некоторых пучков микротрубочек, прореживание сети и нарушение их упорядоченной ориентации. При увеличении концентрации NaCl до 150 мМ в клетках корня обоих генотипов томата кортикальная сеть микротрубочек была еще более прореженной и дезорганизованной.

Влияние хлорида натрия на анатомо-морфологическую характеристику клеток эпидермиса и паренхимы коры гипокотиля

Культивирование проростков томата линии ЯЛФ на среде с добавлением 75 и 150 мМ NaCl приводило к уменьшению размера клеток эпидермиса гипокотиля, тогда как в условиях максимального хлоридного засоления наблюдалось существенное увеличение средней площади клеток на срезе (СПКС) эпидермиса гипокотиля. При концентрациях 150 и 250 мМ NaCl отмечено снижение СПКС эпидермиса гипокотиля у сорта Рекордсмен. Реакция клеток паренхимы коры гипокотиля различалась между генотипами и зависела от степени засоления.

Добавление 150 мМ NaCl приводило к существенному уменьшению СПКС паренхимы коры гипокотиля у томата линии ЯЛФ. В условиях 250 мМ NaCl отмечено существенное увеличение СПКС паренхимы коры гипокотиля у линии ЯЛФ. В отличие от линии ЯЛФ, 75 мМ NaCl не приводило к увеличению СПКС паренхимы коры гипокотиля томата сорта Рекордсмен. Уменьшение СПКС паренхимы коры гипокотиля сорта Рекордсмен наблюдалось при добавлении 150 мМ NaCl. Тем не менее, 250 мМ NaCl не приводило к существенным изменениям конфигурации паренхимных клеток коры гипокотиля у этого сорта.

Влияние хлорида натрия на анатомо-морфологические показатели семядолей томата

В условиях засоления для клеток верхнего эпидермиса семядолей томата линии ЯЛФ было характерно постепенное уменьшение СПКС. Схожая реакция клеток верхнего эпидермиса семядолей на засоление наблюдалась и у томата сорта Рекордсмен. Так, у линии ЯЛФ в условиях 75, 150 и 250 мМ NaCl отмечено существенное изменение формы клеток столбчатого мезофилла (уменьшение клеток в длину и ширину), что повлекло к достоверному изменению их размера. Данные концентрации NaCl вызывали существенное уменьшение (практически в 2 раза) СПКС губчатого мезофилла. У сорта Рекордсмен не наблюдалось изменений размера СПКС столбчатого и губчатого мезофилла семядольного листа при действии 75 мМ NaCl. В отличие от линии ЯЛФ в условиях 150 и 250 мМ NaCl у сорта Рекордсмен наоборот происходило существенное увеличение (практически в 1,5 раза) СПКС клеток столбчатого мезофилла по сравнению с контролем. СПКС губчатого мезофилла семядольного листа сорта Рекордсмен уменьшалось с добавлением всех испытанных концентраций NaCl.

Методом СЭМ у обоих генотипов была изучена абаксиальной поверхности семядольного листа на предмет изменения формы клеток верхнего эпидермиса. В результате было обнаружено изменение формы клеток эпидермиса с характерной (контрольные условия), на аморфную (150 мМ NaCl) у обоих генотипов томата

Влияние хлоридного засоления на ультраструктурную организацию клеток губчатого мезофилла семядолей томата

В условиях 150 мМ NaCl наблюдается уменьшение числа пластоглобул на срезе хлоропласта, а также существенное уменьшение их размера. У большинства хлоропластов отмечено изменение структурной организации гранальных и стромальных тилакоидов. В ряде клеток губчатого мезофилла томата линии ЯЛФ в условиях 150 мМ NaCl засоления отмечены необратимые структурные изменения (Рис. 5-1Д,Е). В некоторых клетках губчатого

мезофилла наблюдались явные признаки необратимого плазмолиза. Отмеченные нарушения свидетельствуют, что 150 мМ NaCl засоление приводит к значительным повреждениям клеток фотосинтезирующих тканей семядолей у томата линии ЯЛФ.

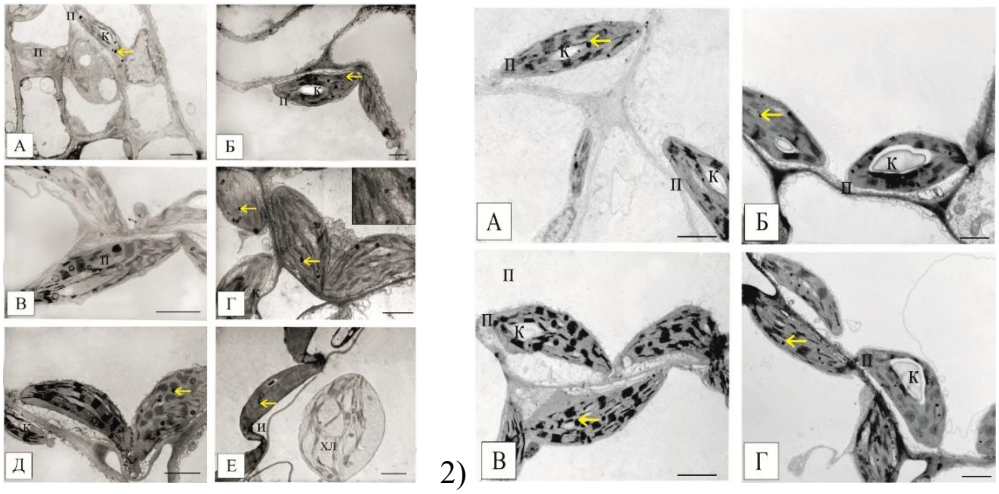


Рисунок 5. Ультраструктурная организация хлоропластов в клетках губчатого мезофилла семядольных листьев, полученных от проростков томата селекционной линии ЯЛФ (1) при их культивировании на среде без добавления NaCl (А, В, Д) и при действии 150 мМ NaCl (Б, Г, Е) и сорта Рекордсмен (2) при их культивировании на среде без добавления NaCl (А, В) и при действии 150 мМ NaCl (Б, Г). Масштаб – 1 мкм.

По сравнению с линией ЯЛФ в условиях 150 мМ NaCl хлоропласты губчатого мезофилла в семядольном листе томата сорта Рекордсмен не претерпевали значительных изменений по форме и структуре. Отличия отмечены только в уменьшении размера пластоглобул (Рис. 5-2Б,Г).

Влияние хлоридного засоления на ультраструктурную организацию различных компартментов в клетках корня

Структурно-функциональные преобразования в условиях засоления пластид, распложенных в различных тканях корня обоих генотипов, касались изменения их формы и размера, а также включений (Рисунок 6). В клетках чехлика томата линии ЯЛФ наблюдалось изменение числа крахмальных включений по сравнению с контролем (Рисунок 6 1-Г). У сорта Рекордсмен в клетках корневого чехлика при действии 150 мМ NaCl (Рисунок 6 2-Г) отмечается усиление степени окраски крахмальных зерен, при этом также происходит изменение их формы.

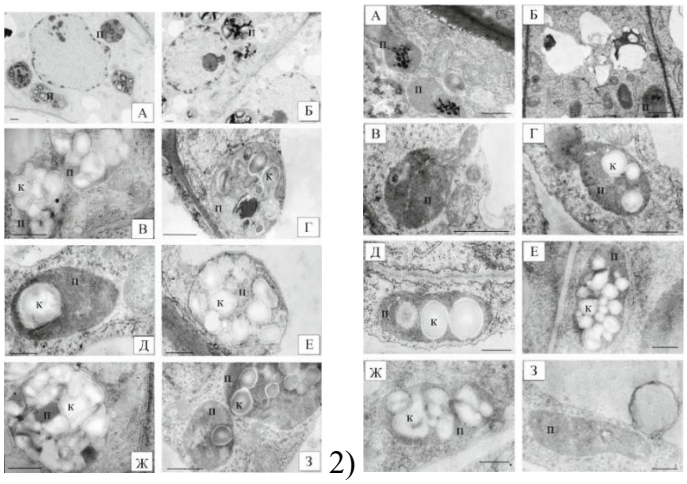


Рисунок 6. Ультраструктурная организация пластид в клетках чехлика корня (А–Г), первичной коры корня (Д, Е) и центрального цилиндра корня (Ж, З) у проростков томата линии ЯЛФ (1) и сорта Рекордсмен (2) в контрольных условиях (А, В, Д, Ж), а также при действии 150 мМ NaCl (Б, Г, Е, З). Масштаб – 1 мкм.

В клетках первичной коры корня засоление приводило к увеличению размера пластид за счет появления в них крахмальных зерен у обоих генотипов (Рис. 6 1-Е; Рис. 6 2-Е). При этом у линии ЯЛФ форма пластид менялась с округлой на удлиненную (Рис. 6 1-Е). В клетках центрального цилиндра в контрольных условиях пластиды представляли собой амилопласты со множеством крахмальных включений (Рис. 6 1-Ж; Рис. 6 2-Ж). В условиях засоления у линии ЯЛФ амилопласты были вариабельны по форме и содержали существенно меньшее число включений (Рис. 6 1-З), а у сорта Рекордсмен при солевом стрессе показано образование темноокрашенных крахмальных зерен (Рис. 6 2-З).

В присутствии 150 мМ NaCl установлены отличия в структурной организации митохондрий по сравнению с контролем у обоих генотипов томата, которые выражались в месте их расположения как в клетках первичной коры (Рис. 7 1-Б,Г; Рис. 7 2-БГ), так и центрального цилиндра (Рис. 7 1-Е; Рисунок 7 2-Е) корня. Так, и у линии ЯЛФ (Рис. 7 1-Г), и у сорта Рекордсмен (Рис. 7 2-Г), отмечено набухание митохондрий в клетках первичной коры корня. В отличие от линии ЯЛФ (Рис. 7 1-Е), у сорта Рекордсмен при воздействии NaCl (Рис. 7 2-Е) митохондрии в клетках центрального цилиндра характеризовались электронно-плотным матриксом. В отличие от сорта Рекордсмен, в условиях засоления в клетках центрального цилиндра корня линии ЯЛФ отмечено нарушение структурной организации крист, которое выражалось в их набухании.

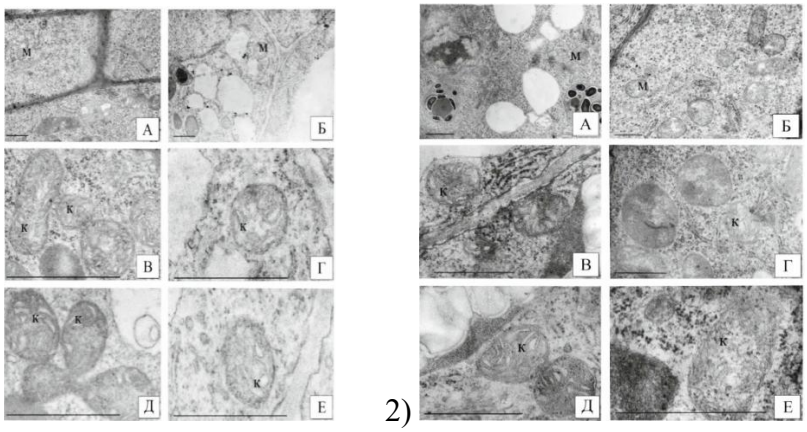


Рисунок 7. Ультраструктурная организация митохондрий в клетках первичной коры (А–Г) и центрального цилиндра (Д, Е) корня у проростков томата линии ЯЛФ (1) и сорта Рекордсмен (2) в контрольных условиях (А, В, Д) а также при действии 150 мМ NaCl (Б, Г, Е). Масштаб – 1 мкм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках выполнения диссертационной работы был проведен сравнительный анализ хозяйственно-ценных генотипов томата по солеустойчивости, в ходе которого была разработана комплексная система для оценки устойчивости к засолению томата в условиях *in vitro*. Таким образом, выполнена основная цель настоящего исследования, заключавшаяся в проведении комплексной сравнительной физиолого-биохимической оценки генотипов томата на ранних этапах онтогенеза с помощью лабораторных методов на организменном, органном, тканевом и клеточном уровнях в условиях засоления.

В результате исследования, проведённого методом рулонной культуры, 8 изученных генотипов томата были кластеризованы на две группы по устойчивости к засолению: условно устойчивые (Рекордсмен, Юрьевский, Бычье Сердце и Астраханский) и условно неустойчивые (ЯЛФ, Парадигма, Гея и Белый Налив). Впоследствии 2 контрастных по устойчивости к NaCl засолению генотипов томата (линия ЯЛФ и сорт Рекордсмен) были использованы при разработке методологического подхода для сравнительной в условиях засоления *in vitro*.

Различия между двумя генотипами томата на органном уровне были установлены по показателям частоты ризогенеза, числу регенерированных корней и их длине у проростков в зависимости от концентрации стрессового агента. О различиях на организменном уровне между исследуемыми генотипами томата свидетельствуют изменения по показателям ИТД и ИИФ, а также на органном уровне по содержанию фотосинтетичексих пигментов (хл a, хл b и каротиноидов) и пролина.

В ходе цитологического исследования в условиях солевого стресса отмечены различия корней между генотипами томата на клеточном уровне. У обоих генотипов

обнаружены различия по показателю увеличение S ядрыш / S ядр в клетках паренхимы коры и центрального цилиндра корня. У линии ЯЛФ изменения обнаружены только при 75 мМ NaCl, при которой в клетах центрального цилиндра корня показатель S ядрышка / S ядра увеличился в 1,1 раз. У сорта Рекордсмен показано увеличение данного показателя при 75 мМ NaCl в клетках паренхимы коры (в 1,34 раза), и в клетках центрального цилиндра корня при 150 мМ NaCl (в 1,5 раза).

Метод цитофотометрического анализа позволил выявить существенные отличия между генотипами томата в отношении перераспределения клеток корневой меристемы по фазам клеточного цикла в условиях NaCl засоления *in vitro*. Так, у обоих генотипов наблюдалось снижение клеток в G_1-фазе по сравнению с контролем (питательная среда без добавления NaCl) и значительное их повышение в G_2-фазе. Существенные отличия между генотипами томата выявлены при концентрации 150 мМ NaCl: количество клеток в G_1-фазе у томата линии ЯЛФ было соответственно в 1,8 больше, чем у сорта Рекордсмен.

Иммуноцитохимический анализ тубулинового цитоскелета позволяет выявить структурную реограциназию сети кортикальных микротрубочек в зависимости от концентрации стрессового агента.

Культивирование проростков томата линии ЯЛФ на среде с добавлением 75 и 150 мМ NaCl приводило к уменьшению размера клеток эпидермиса гипокотиля, тогда как при 250 мМ NaCl наблюдалось существенное увеличение СПКС эпидермиса гипокотиля. При концентрациях 150 и 250 мМ NaCl отмечено снижение СПКС эпидермиса гипокотиля у сорта Рекордсмен. Реакция клеток паренхимы коры гипокотиля различалась между генотипами. При 150 мМ NaCl происходило существенное уменьшение СПКС паренхимы коры гипокотиля у томата линии ЯЛФ (в 1,5 раза) и увеличение в условиях 250 мМ NaCl (в 1,2 раза).

Добавление NaCl уменьшало СПКС эпидермальных клеток семядолей томата линии ЯЛФ (в 1,6 раза) и сорта Рекордсмен (в 1,3 раза). У исследуемых генотипов наблюдалась различная реакция клеток столбчатого и губчатого мезофилла на засоление.

Методом ТЭМ установлено, что у линии ЯЛФ 150 мМ NaCl приводило к высокому уровню повреждений клеток фотосинтезирующих тканей, вызывая не только структурные изменения пластид, но и гибель части клеток. Влияние солевого стресса отражалось и на ультраструктурной организации пластид корня, что, прежде всего, выражалось в изменении их формы, размера, а также качественных характеристик включений (крахмальных зерен).

На основании представленных материалов исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Использование метода рулонной культуры позволило разделить 8 изученных генотипов томата различного эколого-географического происхождения на 2 группы по ряду морфометрических и физиолого-биохимических показателей: условно устойчивые (Рекордсмен, Юрьевский, Бычье Сердце и Астраханский) и условно неустойчивые (ЯЛФ, Парадигма, Гея и Белый Налив).

2. На модели контрастных по устойчивости к NaCl линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен разработана эффективная система сравнительной оценки генотипов томата по устойчивости к засолению NaCl *in vitro* на стадии проростков, выровненных по габитусу и стадии развития, при их культивировании на средах для индукции ризогенеза. Предложенный методологический подход может быть эффективно применен не только для томата, но и других культур, у которых отсутствуют трудности в индуцированном ризогенезе, а также других стрессовых воздействий абиотической природы (например, тяжелые металлы, засуха и другие), имитируемых в условиях *in vitro*.

3. Обнаруженые различия между линией ЯЛФ и сортом Рекордсмен в условиях NaCl засоления *in vitro* по морфометрическим (число и длина *de novo* регенерированных корней, сырая и сухая биомасса корней и побегов) и физиолого-биохимическим (оводненность, дыхательный и фотосинтетический CO_2-газообмен, содержание пролина, и фотосинтетических пигментов) показателям могут быть эффективно использованы для сравнительной оценки других генотипов томата на органном и организменном уровнях.

4. Установленные анатомо-морфологические различия в реакции клеток на NaCl засоление *in vitro* различных тканей корня, гипокотиля и семядолей у проростков линии ЯЛФ и сорта Рекордсмен позволяют проводить эффективный скрининг генотипов томата на тканевом (размеры клеток, изменения прохождения клеточного цикла) и клеточном (ультраструктурная организация пластид, митохондрий) уровнях.

5. Распределение клеток корней меристемы по фазам клеточного цикла, а также реорганизация тубулинового цитоскелета у *de novo* корней, регенерированных в различных условиях NaCl засоления *in vitro*, являются эффективными цитологическими критериями для сравнительной оценки генотипов томата на клеточном уровне.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, включенных в международные базы данных Web of Science, Scopus

1. Khaliluev M.R., **Bogoutdinova L.R.**, Baranova E.N., Raldugina G.N. A simple and effective bioassay method suitable to comparative *in vitro* study of tomato salt tolerance at early

development stages // Methods and Protocols. – 2022. – Vol. 5, – № 1. – P. 11. doi: https://doi.org/10.3390/mps5010011 Scopus, (Web of Science) Q2.

2. **Bogoutdinova L.R.**, Baranova E.N., Kononenko N.V., Chaban I.A., Konovalova L.N., Gulevich A.A., Khaliluev M.R. Characteristics of Root Cells during *In Vitro* Rhizogenesis under Action of NaCl in Two Tomato Genotypes Differing in Salt Tolerance // International Journal of Plant Biology. – 2023. – Vol. 14. – №. 1. – P. 104–119. doi: https://doi.org/10.3390/ijpb14010010 Scopus, (Web of Science) Q2.

3. **Bogoutdinova L.R.**, Khaliluev M.R., Chaban I.A., Gulevich A.A., Shelepova O.V., Baranova E.N. Salt Tolerance Assessment of Different Tomato Varieties at the Seedling Stage // Horticulturae. – 2024. – Vol. 6. – №. 10. — С. 598. doi: https://doi.org/10.3390/horticulturae10060598 Scopus, (Web of Science) Q1.

Публикации в отечественных изданиях, которые входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук

1. **Богоутдинова Л.Р.**, Баранова Г.Б., Баранова Е.Н., Халилуев М.Р. Сравнительная анатомо-морфологическая характеристика клеток эпидермиса и паренхимы коры гипокотиля у двух генотипов томата (*Solanum lycopersicum* L.) в условиях хлоридного засоления *in vitro* // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, №. 3. – С. 318–326. doi: 10.15389/agrobiology.2016.3.318rus.

2. **Богоутдинова Л.Р.**, Баранова Е.Н., Баранова Г.Б., Кононенко Н.В., Лазарева Е.М., Смирнова Е.А., Халилуев М.Р. Морфо-биологическая и цитологическая характеристика регенерирующих корней томата (*Solanum lycopersicum* L.) сорта "Рекордсмен" в условиях NaCl-засоления *in vitro* // Цитология. – 2019. – Т. 61, № 12. – С. 998–1013. doi: 10.1134/S1990519X20030025.