

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ВЫЯВЛЕНИЮ ЖАРОУСТОЙЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ)

© 2023 г. Н. Н. Круглова¹, *, А. Е. Зинатуллина¹

¹Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*e-mail: kruglova@anrb.ru

Поступила в редакцию 24.10.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 08.11.2022 г.

Проблема устойчивости культурных растений к жаре как действию повышенных температур воздуха, ведущему к физиологической засухе, чрезвычайно актуальна не только в условиях прогнозируемой аридизации климата, но и при изучении действия сравнительно кратковременных волн жары (heat waves). Современная селекция ориентирована на создание высокоурожайных жароустойчивых сортов культурных растений, особенно хлебных злаков как основного мирового продовольственного ресурса. При селекционных разработках необходимо предварительно выявить жароустойчивые генотипы хлебных злаков для их включения в соответствующие программы. В статье дан критический анализ ряда представленных в литературе подходов к выявлению таких генотипов (моделирование действия стрессового фактора повышенных температур воздуха в экспериментальных условиях *in situ*; использование в таких условиях пыльников как генеративных структур, более чувствительных к воздействию данного стрессового фактора, в сравнении с вегетативными органами), которые можно оценить как методологические. Кроме того, с позиции описательной и экспериментальной эмбриологии растений в качестве перспективного методологического подхода предложено использование взаимосвязанных концепций (в разработке Т.Б. Батыгиной): оценка пыльника как сложной интегрированной системы тканей и наличие критических стадий в развитии этой системы.

Ключевые слова: абиотические стрессы, жара, физиологическая засуха, моделирование жары, пыльник как интегрированная система, критические стадии развития пыльника, хлебные злаки

DOI: 10.31857/S0042132423020060, **EDN:** KMFUPS

ВВЕДЕНИЕ

Физиологическая засуха расценивается как абиотический стрессовый фактор, под воздействием которого растения испытывают длительный водный дефицит в воздухе и почве (Zahoog et al., 2020). Засуха может быть вызвана различными причинами, в том числе действием повышенных температур воздуха (Jagadish, 2020; Khan et al., 2020; Jagadish et al., 2021; Gyawali et al., 2021). Проблема устойчивости культурных растений к такому виду засухи (а именно жароустойчивость) чрезвычайно актуальна в условиях прогнозируемой аридизации климата (Hussain et al., 2018; Climate change..., 2020) и определяет необходимость многочисленных исследований, ставящих целью выявить различные аспекты воздействия высокотемпературной засухи на рост и развитие растений (Raveena et al., 2019; Sakkar et al., 2019;

Sallam et al., 2019; Sattar et al., 2019; Lamers et al., 2020; Chowdhury et al., 2021; Gyawali et al., 2021; Zhan et al., 2022).

Большое значение исследователями в этой связи придается и изучению действия на растения так называемых волн жары (heat waves) — относительно кратковременного воздействия температур воздуха выше оптимальных (Li et al., 2020) — достаточно распространенных не только в засушливых, но и полузасушливых регионах. Стрессовая реакция растений на воздействие таких волн активно анализируется в современной литературе. Так, в редакторской статье специального выпуска журнала “Plant, cell & environment” (2021, V. 44, № 7) подчеркивается большой интерес исследователей к краткосрочным и долгосрочным последствиям их воздействия — от клеточного уровня до уровня экосистем (Jagadish et al., 2021).

В литературе представлено немало работ, посвященных анализу способов преодоления самими растениями воздействия абиотического стрессового фактора засухи, вызванной повышенными температурами воздуха. Это и стратегии избегания засухи (Basu et al., 2016; Jagadish, 2020), и реализация различных морфологических, физиологических и биохимических адаптационных механизмов (Yadav, Sharma, 2016; Plant life..., 2020; Jogawat et al., 2021; Kandel, 2021; Yadav et al., 2021; Kumar et al., 2022; Marone et al., 2022). В то же время и современная селекция ориентирована на создание высокоурожайных жароустойчивых сортов культурных растений, особенно хлебных злаков как основного мирового продовольственного ресурса. В этой области разрабатываются направления селекции как традиционные (Драгавцев, 2019; Abdolshahi et al., 2015), так и основанные на данных, полученных методами культуры *in vitro* клеток, тканей и органов, геномной инженерии, редактирования генома, а также omics-методами (Дубровная, 2017; Пикало и др., 2020; Khan et al., 2019; Maleki et al., 2019; Leng, Zhao, 2020; Liu et al., 2020; Guo et al., 2021; Wu et al., 2022). При всех направлениях селекционных разработок необходимо предварительно выявить жароустойчивые генотипы хлебных злаков для включения их в соответствующие программы.

Безусловно, выявлять жароустойчивые генотипы злаков следует в полевых условиях при непосредственном воздействии стрессового фактора повышенных температур воздуха. Однако такого рода исследования сравнительно немногочисленны (Шаманин и др., 2016; Алабушев и др., 2019; Prasad et al., 2017; Lv et al., 2018; Lawas et al., 2019; Demydov et al., 2021; El-Mowafi et al., 2021; Ali, Akmal, 2022), поскольку ограничены значительными методическими трудностями: короткий вегетационный сезон, невозможность создать контроль проводимых экспериментов, трудоемкость наблюдений и др. Кроме того, год от года могут меняться характер и степень воздействия изучаемого стрессового фактора.

Перспективное направление выявления жароустойчивых генотипов злаков состоит в использовании данных, полученных в экспериментальных условиях *in situ* (климатические камеры, фитотроны, теплицы). Этому вопросу посвящена обширнейшая литература, при этом предложены некоторые подходы, которые можно расценить как методологические. Цель данной статьи, являющейся продолжением цикла обзоров авторов (Круглова и др., 2018; Зинатуллина, 2020; Круглова, Зинатуллина, 2021; Зинатуллина et al., 2018; Kруглова, Zinatlina, 2022), состоит в критическом анализе обоснования ряда методологических подходов к экспериментальному выявлению жароустойчивых генотипов злаков на основе использования таких генеративных структур, как пыльники.

Отметим, что в статье приведены данные преимущественно последних пяти лет, хотя в литературе представлен большой экспериментальный материал по этой теме, полученный в разные годы.

Статья посвящена 95-летию со дня рождения чл.-кор. РАН Татьяны Борисовны Батыгиной (1927–2015), внесшей значительный вклад в разработку методологии изучения различных генеративных и эмбриональных структур цветковых растений.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ВЫЯВЛЕНИЮ ЖАРОУСТОЙЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ

Моделирование воздействия стрессового фактора повышенных температур воздуха в экспериментальных условиях in situ

Один из представленных в литературе подходов при выявлении жароустойчивых генотипов хлебных злаков – использование климатических камер, фитотронов и теплиц.

По отношению к изучению действия повышенных температур воздуха, такой подход, безусловно, методологически верен. Действительно, экспериментальные условия *in situ*, позволяющие задать контролируемый режим температур воздуха выше оптимальных, дают возможность моделировать воздействие такого вида засухи и выявить жароустойчивые генотипы. Кроме того, на примере многих сельскохозяйственных культур, в том числе злаков (Liu et al., 2018; Qaseem et al., 2018; Li et al., 2020; Brás et al., 2021; Da Costa et al., 2021; Langridge, Reynolds, 2021), продемонстрировано сходство ответных реакций различных органов растений как на относительно кратковременное, так и длительное стрессовое воздействие повышенных температур воздуха. Это позволяет исследовать в модельных условиях *in situ* адаптивные молекулярные, клеточные и тканевые механизмы жаро- и засухоустойчивости растений (Yadav et al., 2019; Zahoor et al., 2020; Wu et al., 2021; Chen et al., 2022), знание о которых крайне важно для современных селекционных исследований.

Основным же преимуществом такого подхода, по нашему мнению, следует считать сходство морфогенетических реакций всего растения в естественных *in vivo* и экспериментальных (в том числе стрессовых) *in situ* условиях, согласно принципу универсальности морфогенеза растений (Батыгина, 2014).

Использование в модельных экспериментах in situ пыльников как генеративных структур, наиболее чувствительных к воздействию повышенных температур воздуха

Для выявления жароустойчивых генотипов хлебных злаков в модельных экспериментах *in situ* в литературе предложен подход, состоящий в использовании пыльников, и этот подход также можно считать методологическим.

Известно, что пыльник представляет собой фертильную часть тычинки, в микроспорангиях которой происходит микроспорогенез, образуются и созревают пыльцевые зерна, содержащие мужские гаметы – спермии. В сформированном виде эта генеративная структура представлена небольшим числом тканей (спорогенная ткань и ткани стенки гнезда: тапетум, эндотечий, средний слой, экзотечий), имеющих общее происхождение (Камелина, 2009; Åstrand et al., 2021).

В результате многочисленных исследований, проведенных как в естественных условиях *in vivo*, так и в экспериментах *in situ*, установлено, что органы злаков по-разному реагируют на стрессовое воздействие жары, при этом именно цветок и его части более чувствительны к повышенным температурам воздуха, по сравнению с вегетативными органами (Mesihovic et al., 2016; Fábíán et al., 2019; Jagadish, 2020; Sinha et al., 2021). Особенно восприимчивы к высоким температурам воздуха пыльники (Matsui, Hasegawa, 2019; Yu et al., 2019; Fernández-Gómez et al., 2020; Browne et al., 2021; Khlaimongkhon et al., 2021; Kumar et al., 2022). Развитие пыльцевого зерна оценивается в этой связи как “самое слабое звено” (Lohani et al., 2020, с. 558), поскольку индуцируемое температурным стрессом фактором снижение жизнеспособности пыльцы, вплоть до ее стерильности (Feng et al., 2018; Begcy et al., 2019; Schindfessel et al., 2021; Ullah et al., 2022), безусловно, значительно влияет на репродуктивный успех (Zhang et al., 2018; Bheemanahalli et al., 2020; van Es, 2020; Hu et al., 2021). В целом, репродуктивную стадию с этих позиций относят к критическим периодам онтогенеза растений (Zhang et al., 2021).

Экспериментально выявлено, что оптимальная температура воздуха для развития пыльников злаков составляет 24–28°C (Khan et al., 2020). Температура на 5–15°C выше этого показателя, даже при кратковременном воздействии в условиях как *in vivo*, так и *in situ*, вызывает стресс в пыльниках, что приводит к негативным изменениям их физиолого-биохимических (увеличение содержания гормона стресса абсцизовой кислоты, синтез активных форм кислорода и белков теплового шока, дезактивация ферментов фотосинтеза, нарушение липидного и углеводного обмена, снижение уровня митохондриального дыхания и др.) и молекулярно-генетических (нарушение

экспрессии генов, участвующих в регуляции транскрипции, транспорта и метаболизма 3-индолилуксусной и гиббереллиновой кислот как важнейших гормонов морфогенеза и др.) показателей. Такое температурное воздействие ведет и к нарушению ряда морфологических (появление пыльцевых зерен, деградировавших на той или иной стадии развития) и даже количественных (уменьшение количества фертильных пыльцевых зерен в зрелом пыльнике) параметров. Детальный анализ этих вопросов на примере различных растений, в том числе злаков, представлен во многих обзорах последних лет (Круглова, 2022б; Gahlaut et al., 2016; Mesihovich et al., 2016; Baillo et al., 2019; Kimotho et al., 2019; Bheemanahalli et al., 2020; Lohani et al., 2020; Khan et al., 2020; Chaturvedi et al., 2021; Gyawali et al., 2021; Zhang et al., 2021), и мы отсылаем заинтересованного читателя как к этим обзорам, так и к включенным в них публикациям.

В то же время хотелось бы обратить особое внимание на перспективный, по нашему мнению, методологический подход – сравнение некоторых молекулярно-генетических показателей пыльников заведомо жароустойчивых и жарочувствительных сортов злаков при воздействии высокотемпературного стресса в экспериментах *in situ*. Этот подход напрямую не связан с выявлением жароустойчивых генотипов, однако позволяет выявить гены и генные сети, имеющие решающее значение в адаптации растений к высоким температурам воздуха. Полученные данные важны не только в целях молекулярной селекции жароустойчивых генотипов злаков, но и в изучении генетических особенностей развития генеративных структур растений в экстремальных условиях. Так, у жароустойчивого сорта риса методом РНК-секвенирования зрелых пыльников выявлена активизация ряда генов, кодирующих белки-шапероны теплового шока (González-Schain et al., 2016). Использование наборов транскриптомных данных, полученных на основе использования микрочипов и результатов РНК-секвенирования пыльников жароустойчивых сортов этого же злака, позволило выявить 45 генов-кандидатов для ускоренной селекции генотипов, устойчивых к жаре. При этом исследователи высказали мнение о существовании у риса регуляторного механизма смягчения стрессового воздействия повышенных температур воздуха на репродуктивной стадии (Raza et al., 2020). Транскриптомный анализ выявил ряд экспрессируемых в пыльниках жароустойчивых сортов пшеницы ключевых генов, участвующих не только в реакции на температурный шок путем активации биосинтеза некоторых гормонов (ауксин, этилен, гиббереллин), но и в развитии пыльников (Browne et al., 2021). Интересно, что и в полевых условиях засухи экспрессия генов биосинтеза гормона стресса абсцизовой кислоты индуцировалась сильнее в пыльниках жароустойчивых сор-

тов пшеницы, в сравнении с пыльниками жарочувствительных сортов (Zhang et al., 2021).

Сравнительный анализ показателей пыльников заведомо жароустойчивых и жарочувствительных сортов злаков в условиях высокотемпературного экспериментального стресса *in situ* проводится и по некоторым физиолого-биохимическим параметрам. Так, у жароустойчивого и жарочувствительного сортов риса в условиях теплового стресса выявлены контрастные метаболомные изменения в органах цветка (включая пыльники), при этом идентифицированы метаболические маркеры, определяющие репродуктивный успех, продемонстрирована важная роль метаболизма сахаров в формировании жароустойчивости цветков (Li et al., 2015). Методом масс-спектрометрии в обработанной высокими температурами зрелой пыльце жароустойчивого сорта риса показано значительное содержание фосфатидилинозитола (предшественник фосфоинозотида, индуцирующего передачу сигналов для прорастания пыльцы), при полном его отсутствии в пыльце жарочувствительного сорта (Wada et al., 2020). Интересно, что даже без высокотемпературного воздействия метаболическое профилирование пыльников жарочувствительного сорта пшеницы выявило значительное содержание в них ряда аминокислот и гормона стресса абсцизовой кислоты при невысоком содержании полиаминов и органических кислот (Vheemanahalli et al., 2020); аналогичные результаты получены для риса (Zhang et al. 2021).

Все эти результаты свидетельствуют в пользу возможности выявления в условиях *in situ* специфических молекулярно-генетических/физиолого-биохимических маркеров как для разработки способов повышения устойчивости злаков к тепловому стрессу, так и для быстрой диагностики жароустойчивых генотипов в селекционных целях.

Использование концепций эмбриологии растений в оценке стрессового воздействия повышенных температур воздуха на пыльники злаков in situ

Пыльник — предмет исследований эмбриологии растений (Камелина, 2009). Поэтому еще одним методологическим подходом к выявлению жароустойчивых генотипов злаков в экспериментальных условиях *in situ*, по нашему предложению, может стать использование разработанных с позиции описательной и экспериментальной эмбриологии растений взаимосвязанных концепций: оценка пыльника как интегрированной системы и анализ критических стадий развития этой генеративной структуры.

Обе эти концепции детально разработаны Т.Б. Батыгиной (обобщение: Батыгина, 2014). Исследователь рассматривает пыльник цветковых растений как сложную интегрированную систему,

представленную следующими элементами: спорогенная ткань и ткани стенки гнезда пыльника (тапетум, эндотеций, средний слой, экзотеций), при этом свойства пыльника как системы не сводимы к простой сумме свойств элементов-тканей.

В результате детального цитогистологического анализа развивающихся пыльников пшеницы выявлено (Батыгина, 2014), что клетки спорогенной ткани и тканей стенки гнезда, происходящие от общих инициалей, с самых ранних стадий морфогенеза развиваются взаимосвязано и сопряженно, морфологически и структурно достигая высокой специализации, связанной с выполнением их основных функций. Каждая из тканей стенки гнезда пыльника играет свою роль в ходе развития спорогенных клеток, дающих начало пыльцевым зернам. Исследователем сделан вывод о том, что пыльники как интегрированные структуры обладают общими регуляторными механизмами и единым ритмом развития элементов, при этом нормальный ход развития клеток спорогенной ткани, дающих начало пыльцевым зернам, зависит от нормального функционирования клеток всех тканей стенки гнезда в пределах системы пыльника по принципу части и целого.

Подтверждение такой общности регуляторных механизмов развития элементов-тканей в единой системе пыльника можно видеть, например, в ряде публикаций, выполненных на примере риса, хотя сами авторы понятие “система” по отношению к пыльнику не используют. Так, выявлено, что ключевые гены морфогенеза пыльника этого злака активируются каскадно строго на определенных стадиях дифференциации тканей стенки гнезда пыльника в координации с процессами микроспоро- и микрогаметогенеза (Zhang et al., 2011), возможно, по принципу обратной связи, как это показано для арабидопсиса (Huang et al., 2016). В работе, посвященной анализу участия в развитии пыльника риса протеинкиназы OsCPK29, показано, что этот фермент в норме вырабатывается в зрелых пыльцевых зернах, тогда как подавление его функционирования приводит не только к формированию нежизнеспособных пыльцевых зерен за счет нарушений развития интины в их оболочках, но и к аномалиям в структуре клеток эндотеция (Ranjan et al., 2022). Яркий пример системности пыльника (и не только злаков) — деградация клеток тапетума на стадии зрелого пыльника, когда отпадает необходимость в поставке питательных веществ из этой ткани в развивающиеся пыльцевые зерна; многими авторами деградация клеток тапетума в зрелом пыльнике расценивается как запрограммированная гибель — апоптоз (Khan et al., 2021; Guo et al., 2022). Более того, задержка деградации клеток тапетума ведет к деградации и зрелых пыльцевых зерен, как это выявлено у риса (Lei et al., 2022). На примере пшеницы необходимость системного подхода продемонстрирована и

по отношению к исследованиям пыльников в условиях культуры *in vitro* (Круглова, Зинатуллина, 2018). Показано также, что пыльник как составная часть входит в систему тычинки, являющаяся элементом цветка, который и сам является сложной системой органов и, в свою очередь, представляет собой часть системы растения (Круглова, 2022a).

Предложен (Батыгина, 2014) особый аспект исследований – применение концепции пыльника как интегрированной системы к изучению морфогенеза этих генеративных структур не только в естественных условиях, но и в условиях экспериментов, проводимых с учетом того, что дифференциация тканей пыльника протекает в условиях пыльник–окружающая среда. В контексте данной статьи это означает необходимость исследования стрессового воздействия *in situ* повышенных температур воздуха на пыльник злаков как интегрированную систему. В то же время анализ значительного объема литературных источников по этой теме свидетельствует, что исследователи, как правило, не расценивают пыльники злаков, находящихся в условиях повышенных температур воздуха, в качестве интегрированных систем. Более того, авторы большинства работ анализируют стрессовые реакции только развивающихся пыльцевых зерен без оценки изменений статуса тканей стенки гнезда пыльника. К редким исключениям можно отнести результаты исследований пыльников риса, специально направленных на оценку деградации под действием *in situ* высоких температур воздуха тканей стенки гнезда пыльника и в первую очередь тапетума (Matsui et al., 2005). В обзорной работе (Zhang et al., 2021) сообщается о влиянии теплового стресса на многие процессы развития пыльников ряда злаков, в том числе на функции тканей стенки гнезда (особенно тапетума и экзотеция), приводится анализ нарушения экспрессии соответствующих генов, однако понятие “система пыльника” авторы не используют.

Предложено (Батыгина, 2014) моделирование развития пыльников на основе данных морфофизиологического исследования этих генеративных структур в естественных условиях во время последовательных стадий развития. Как свидетельствует анализ большого количества литературных источников, вопросу стадийности развития пыльника злаков экспериментаторами в целом уделяется достаточное внимание, что обусловлено методической необходимостью при проведении селекционно-генетических, молекулярно-генетических, биотехнологических исследований (Browne et al., 2018; Tang et al., 2018; Pan et al., 2020; Sun S. et al., 2021; Sun Y. et al., 2021). В то же время исследователи, как правило, не рассматривают пыльники как интегрированные системы, не учитывают тесные взаимоотношения развивающихся спорогенной

ткани и тканей стенки гнезда пыльника, а во главу угла ставят только развитие пыльцевого зерна.

Однако ряд публикаций составляет исключение.

Так, при исследовании развития пыльника риса особое внимание уделено ключевым генам, играющим решающую роль в развитии не только пыльцы, но и тканей стенки гнезда пыльника на 14 выделенных авторами стадиях (Zhang et al., 2011).

У риса же выявлены транскрипционные факторы, характерные для различных тканей пыльника на пяти стадиях развития, выделенных авторами (Liu et al., 2022).

В работе, выполненной на примере пшеницы, ячменя, риса и кукурузы, изучена динамика накопления малых РНК во всех тканях пыльников в течение выделяемых исследователями премеитической, мейотической и постмейотической стадий (Bélander et al., 2020).

Высказано мнение о том, что высокие температуры воздуха негативно влияют на пыльники в ходе всех стадий развития (Laza et al., 2022). С этим мнением нельзя не согласиться. В то же время, с позиции эмбриологии растений в морфогенезе пыльников как интегрированных систем выделяют так называемые критические стадии развития на основании критерия повышенной чувствительности пыльника к воздействию внешних стрессовых факторов (Батыгина, 2014; Круглова, 2022b). Отметим, что критерий повышенной чувствительности органов растений к внешнему стрессовому воздействию на определенных стадиях развития, предложенный еще в конце XIX в. (Броунов, 1897, по: Светлов, 1960), разрабатывается и по отношению к развитию зародышей растений (Батыгина, 2014; Круглова и др., 2020, 2022; Kruglova et al., 2020) и животных (Светлов, 1960; Severtsova, Severtsov, 2011, 2012, 2013).

Согласно анализу литературных данных, на основании критерия повышенной чувствительности пыльника к воздействию внешних стрессовых факторов в качестве критических можно выделить две стадии развития этой генеративной структуры у злаков.

Одна из таких стадий соответствует мейозу микроспороцитов. Изучению экспериментального стрессового воздействия *in situ* высокими температурами воздуха на мейотические пыльники злаков посвящено немало исследований. Так, экстремальное температурное воздействие на пыльники ячменя во время мейоза приводило к прекращению биосинтеза ауксинов в микроспороцитах, к остановке экспрессии генов, участвующих в репликации ДНК, в отдельных случаях – к блокированию мейотического деления (Lohani et al., 2020). Мейотические aberrации (нерегулярная сегрегация хромосом, образование межхромосомных мостиков и микроядер), индуцируемые экспериментальным тепловым стрессом, вы-

явлены в микроспороцитах риса (Endo et al., 2009) и пшеницы (Omidi et al., 2014). Установлено, что микроспороциты пшеницы особенно чувствительны к высоким температурам во время двух фаз мейоза — интерфазы и лептотены (Draeger, Mooge, 2017). Мейоз оказался более уязвимой к воздействию повышенных температур стадией развития пыльника пшеницы, в сравнении с цветением (соответствует стадии зрелого пыльцевого зерна) (Bokshi et al., 2021). Действие *in situ* даже умеренно высоких температур воздуха на пыльники кукурузы, содержащие продукт мейоза — тетрады микроспор, привело к аномалиям морфологии этих клеток, к нарушениям в них биосинтеза крахмала и липидов, а также к снижению ферментативной активности и к деконденсации ДНК (Begcy et al., 2019); авторы назвали эту стадию развития пыльника высокочувствительной, что вполне соответствует термину “критическая”. Аналогичные данные получены для тетрад микроспор в пыльниках ячменя после кратковременного воздействия умеренно высоких температур воздуха (32°C), при этом гибель тетрад микроспор вызывают нарушения формирования каллозной оболочки, окружающей тетрады (Schindfessel et al., 2021). Такие нарушения формирования каллозной оболочки, по нашему мнению, можно расценивать как проявление нарушения системы пыльника под воздействием температурного стресса, поскольку биосинтез каллозы осуществляется при участии тапетума (Камелина, 2009). Подтверждения нарушения системы пыльника в условиях повышенных температур воздуха *in situ* можно видеть и в данных по аномалиям дифференциации тапетума в пыльниках риса, пшеницы и ячменя, вплоть до дегенерации этой ткани, приводившей в конечном счете к стерильности пыльцы (Zhang et al., 2021).

Отметим, что нарушения системы пыльника выявлены у ряда злаков и под действием искусственно-го дефицита воды в экспериментах *in situ*; такой дефицит приводил не только к аномальной вакуолизации клеток тапетума, но и аномальному увеличению размеров клеток среднего слоя, а в целом также вызывал стерильность пыльцы (Yu et al., 2019).

Аналогичные результаты получены и под воздействием стрессового фактора холода на мейотические пыльники риса (González-Schain et al., 2019).

Анализ таких данных позволяет высказать предположение об общности клеточных и тканевых механизмов действия различных стрессовых факторов на пыльники растений, особенно во время их критических стадий развития. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные по стрессовой реакции пыльников *Arabidopsis thaliana* на стадии мейоза в ответ на действие температур выше пороговых: методом флуоресцентной гибридизации *in situ* в микроспороцитах этого растения также выявлены нарушения и расхож-

дения хромосом, и цитокинеза (Lei et al., 2020), как это установлено для микроспороцитов риса (Endo et al., 2009) и пшеницы (Omidi et al., 2014).

Однако для окончательного вывода об общности механизмов воздействия различных стрессовых факторов на пыльники растений во время их критических стадий развития требуются дополнительные сведения.

Для злаков достаточно убедительно показана еще одна критическая стадия развития пыльника, которая соответствует митозу микроспор. Выявлено, что стрессовая обработка *in situ* высокой температурой пыльников риса, содержащих митотически делящиеся микроспоры, приводила к снижению жизнеспособности пыльцы и/или нарушению ее способности прорасти на рыльце (Das et al., 2014; Khlaimongkhon et al., 2021). Для этого же злака приводятся сведения об индуцированных высокотемпературным стрессом аномалиях не только митоза микроспор, но и тканей стенки гнезда пыльника: утолщение оболочек клеток экзотеция, неравномерное распределение телец Убиша в клетках тапетума (Hu et al., 2021); и в этом можно видеть отражение нарушений структуры всего пыльника как системы.

По отношению к пыльникам ряда злаков показана их особая уязвимость на стадии митоза микроспор к дефициту воды, коррелирующему с засухой (Yu et al., 2019).

Важно обратить внимание на то, что критичность пыльника на стадии, соответствующей микроспоре, отмечена и у мужско-стерильного мутанта риса *paal* (*post-meiosis abnormal anther 1*) без внешнего стрессового воздействия, при этом выявлены как аномалии формирующейся экзины оболочки микроспор, так и дегенерация клеток тапетума (Lei et al., 2022).

Подтверждения критической стадии развития пыльника злаков, соответствующей стадии микроспоры, можно видеть и в результатах экспериментальных исследований биологического феномена андрогенеза *in vitro* (в другой терминологии — андроклинии), состоящего в переключении программы развития микроспоры с обычного гаметофитного пути, приводящего к образованию зрелого пыльцевого зерна, на индуцированный стрессом *in situ* (в том числе высокотемпературным) спорофитный путь, ведущий к формированию растения-регенеранта в условиях *in vitro* и *ex vitro* (Круглова, 2019; Bednarek et al., 2021; Kanbar et al., 2021). Исследования в этой области посвящены не только оценке на этой стадии стрессового воздействия высоких температур на пыльники злаков, но и анализу структуры микроспоры, которую предложено относить к ствольным клеткам (Батыгина, 2014). Так, для пшеницы установлено, что высокотемпературный режим воздействия *in situ* (32–34°C в течение четырех суток) на пыльники индуциру-

ет спорофитный морфогенез микроспоры (Дьячук и др., 2019). Такое воздействие вызывает индукцию синтеза белков теплового шока, которые, действуя как молекулярные шапероны, блокируют программу гаметофитной дифференциации микроспоры (Vednarek et al., 2021) и, по-видимому, создают возможность реализации спорофитной дифференциации микроспоры как стволовой клетки. Морфогенетическая компетентность к переключению развития на спорофитный путь морфогенеза определяется структурной организацией микроспоры, главным образом наличием крупной центральной вакуоли, что, по-видимому, и определяет ее повышенную чувствительность к стрессовому воздействию; кроме того, температурный стресс индуцирует отхождение микроспор от стенки пыльника, нарушая тем самым общую интегрированность структуры пыльника (Батыгина и др., 2010; Круглова, 2019).

Таким образом, можно полагать, что в результате выполненных экспериментов достаточно достоверно выявлены две критические стадии развития системы пыльника злаков, во время которых эти генеративные структуры особенно чувствительны к экспериментальному действию *in situ* высокой температуры воздуха. Эти стадии соответствуют стадиям мейоза микроспороцитов и митоза микроспор. Такие результаты вполне ожидаемы, поскольку негативное воздействие различных абиотических стрессов на процессы мейоза и митоза установлено для многих растений (Fuchs et al., 2018). По-видимому, можно обнаружить и другие критические стадии развития пыльника злаков, исходя из критерия повышенной чувствительности к воздействию стрессового фактора высокой температуры воздуха *in situ*. Однако в этом отношении другие стадии морфогенеза пыльника злаков изучены в значительно меньшей степени, исследования посвящены главным образом аномалиям в прорастании зрелых пыльцевых зерен (Coast et al., 2016; Zhang et al., 2018; Fábíán et al., 2019; Fedotova et al., 2020), то есть без учета состояния тканей стенки гнезда пыльника.

В целом следует отметить, что степень изученности и пыльника злаков как интегрированной системы тканей, и критических стадий развития этой системы в экспериментальных условиях повышенных температур воздуха *in situ* сравнительно невелика. В то же время как системная оценка пыльника, так и выявление критических стадий морфогенеза этой генеративной структуры могут служить методологическим подходом не только при выявлении жароустойчивых генотипов, но и в понимании механизмов ответных реакций клеток и тканей растений на различные стрессовые воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема устойчивости культурных растений к абиотическому стрессовому фактору физиологической засухи, вызванной действием высоких температур воздуха, привлекает большое внимание исследователей всего мира, что неудивительно в условиях прогнозируемой аридизации климата.

Жароустойчивость растений – сложный процесс, определяемый многими генетическими и эпигенетическими факторами. Для выявления генотипов культурных растений в селекционных целях создания жароустойчивых высокопродуктивных сортов необходимы разработка и привлечение различных подходов. Так, для хлебных злаков предложены следующие подходы, рассцениваемые в данном обзоре как методологические: а) моделирование воздействия стрессового фактора повышенных температур воздуха в экспериментальных условиях *in situ* (климатические камеры, фитотроны, теплицы); б) использование в модельных экспериментах *in situ* пыльников как генеративных структур, наиболее чувствительных к действию повышенных температур воздуха, в том числе пыльников жароустойчивых и жарочувствительных сортов, то есть контрастных по отношению к изучаемому стрессовому фактору. Такие методологические подходы получили достаточное обоснование в современных исследованиях хлебных злаков. В литературе представлено значительное количество работ, посвященных использованию пыльников пшеницы, кукурузы и особенно риса в экспериментальной оценке действия высоких температур воздуха в условиях *in situ*.

Весьма перспективным в этой области, на наш взгляд, является привлечение разработанного с позиции описательной и экспериментальной эмбриологии растений методологического подхода, состоящего в использовании взаимосвязанных концепций: оценка пыльника как сложной интегрированной системы тканей и наличие критических стадий в развитии этой системы (Батыгина, 2014). Эти концепции получили экспериментальное подтверждение. В то же время критический анализ обширных литературных данных, полученных на примере хлебных злаков, свидетельствует о том, что большинство исследователей при изучении стрессовых реакций пыльников в модельных экспериментальных условиях высокотемпературного воздействия *in situ* анализируют только развитие пыльцевых зерен, не принимая во внимание состояние тканей стенки гнезда пыльника, взаимодействие их как друг с другом, так и с развивающимися пыльцевыми зернами. Иначе говоря, эти генеративные структуры, как правило, не рассматриваются экспериментаторами как сложные интегрированные системы при оценке воздействия на них абиотического высокотемпературного стрессового фактора. Морфо-

генез пыльника представляет собой сложный динамичный процесс, протекающий в достаточно короткие сроки, что осложняет использование этого методологического подхода. Но, тем не менее, необходима его дальнейшая разработка, а также его активное применение в выявлении жароустойчивых генотипов и не только по отношению к злакам.

Важно подчеркнуть, что рассмотренные в статье экспериментальные исследования пыльников хлебных злаков сосредоточены на изучении воздействия единичного абиотического стресса засухи, вызванного повышенной температурой воздуха, тогда как в полевых условиях одновременно действует множество стрессов и их комбинаций. Проанализированные методологические подходы могут способствовать пониманию механизмов влияния множественных стрессовых факторов на развитие пыльников и выявлению возможных ключевых генов или генных сетей комплексной стрессовой устойчивости.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена по теме № АААА-А18-118022190099-6 в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-00326-19-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При подготовке данной статьи участие людей и использование животных в качестве объектов исследований не рассматривалось.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алабушев А.В., Ионова Е.В., Лиховидова В.А., Газе В.Л. Оценка засухоустойчивости озимой мягкой пшеницы в условиях модельной засухи // Земледелие. 2019. № 7. С. 35–37.
- Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
- Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. и др. От микроспоры – к сорту / Ред. В.А. Вахитов. М.: Наука, 2010. 174 с.
- Драгавцев В.А. Решения технологических задач селекционного повышения урожая, вытекающие из теории эколого-генетической организации количественных признаков // Бюл. ГНБС. 2019. № 132. С. 17–28.
- Дубровная О.В. Селекция *in vitro* пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам // Физиол. раст. генет. 2017. Т. 49. № 4. С. 279–292.
- Дьячук Т.И., Хомякова О.В., Акинина В.Н. и др. Микроспоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов // Вавилов. журн. генет. селекц. 2019. Т. 23. № 1. С. 86–94.
- Зинатуллина А.Е. Модельная система “зародыш–зародышевый каллус” в экспресс-оценке стрессовых и антистрессовых воздействий (на примере злаков) // Экобиотех. 2020. Т. 3. № 1. С. 38–50.
- Камелина О.П. Систематическая эмбриология цветковых растений. Т. 1. Двудольные. Барнаул: АРТИКА, 2009. 501 с.
- Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 3. С. 234–245.
- Круглова Н.Н. Системный подход к морфогенезу пыльника цветковых растений // Бюл. ГНБС. 2022а. Вып. 145. В печати.
- Круглова Н.Н. Экспериментальное выявление засухоустойчивых генотипов хлебных злаков на основе использования пыльников как интегрированных систем: постановка проблемы // Таврич. вест. агр. науки. 2022б. № 4 (32). С. 106–121.
- Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Системный подход к органогенезу пыльника *in vivo* как методологическая основа экспериментальных исследований *in vitro* (на примере злаковых и бобовых) // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 3. С. 143–160.
- Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Культура *in vitro* автономных зародышей как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи соврем. биол. 2021. Т. 141. № 5. С. 483–495.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стрессоустойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи соврем. биол. 2018. Т. 138. № 3. С. 283–293.
- Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. и др. Зародыш цветковых растений в критическую стадию относительной автономности эмбриогенеза (на примере злаков) // Онтогенез. 2020. Т. 51. № 1. С. 3–18.
- Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Зинатуллина А.Е. Критические стадии эмбриогенеза злаков: теоретическое и практическое значение // Онтогенез. 2022. Т. 53. № 6. С. 437–453.
- Пикало С., Демидов О., Юрченко Т. и др. Методи оцінки посухостійкості селекційного матеріалу пшениці // Вісн. Львівськ. ун-ту. Сер. біол. 2020. Вип. 82. С. 63–79.
- Светлов П.Г. Теория критических периодов развития и ее значение для понимания принципов действия среды на онтогенез // Вопросы цитологии и общей физиологии / Ред. Ю.И. Полянский. М., Л.: АН СССР, 1960. С. 263–285.
- Шаманин В.П., Трущенко А.Ю., Пинкаль А.В. и др. Проблема засухоустойчивости яровой мягкой пшеницы в Западной Сибири и современные экспресс-методы ее оценки в полевых условиях // Вест. НГАУ. 2016. № 3 (40). С. 57–64.
- Abdolshahi R., Nazari M., Safarian A. et al. Integrated selection criteria for drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programs using discriminant analysis // Field Crops Res. 2015. V. 174. P. 20–29.

- Ali N., Akmal M. Wheat growth, yield, and quality under water deficit and reduced nitrogen supply. A review // Ges. Pflanzen. 2022. V. 74. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1007/s10343-021-00615-w>
- Åstrand J., Knight C., Robson J. et al. Evolution and diversity of the angiosperm anther: trends in function and development // Plant Reprod. 2021. V. 34. P. 307–319.
<https://doi.org/10.1007/s00497-021-00416-1>
- Baillo E.H., Kimotho R.N., Zhang Z., Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement // Genes. 2019. V. 10. P. 771.
<https://doi.org/10.3390/genes10100771>
- Basu S., Ramegowda V., Kumar A., Pereira A. Plant adaptation to drought stress // F1000Research. 2016. V. 5. P. 1554.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Bednarek P.T., Pachota K.A., Dynkowska W.M. et al. Understanding *in vitro* tissue culture-induced variation phenomenon in microspore system // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 7546.
<https://doi.org/10.3390/ijms22147546>
- Bélander S., Pokhler S., Czymmek K., Meyers B.C. Pre-meiotic, 24-nucleotide reproductive phasiRNAs are abundant in anthers of wheat and barley but not rice and maize // Plant Physiol. 2020. V. 184. P. 1407–1423.
- Begcy K., Nosenko T., Zhou L.Z. et al. Male sterility in maize after transient heat stress during the tetrad stage of pollen development // Plant Physiol. 2019. V. 181. P. 683–700.
- Bheemanahalli R., Impa S.M., Krassovskaya I. et al. Enhanced N-metabolites, ABA and IAA-conjugate in anthers instigate heat sensitivity in spring wheat // Physiol. Plant. 2020. V. 169. P. 501–514.
- Bokshi A.I., Tan D., Thistlethwaite R.J. et al. Impact of elevated CO₂ and heat stress on wheat pollen viability and grain production // Funct. Plant Biol. 2021. V. 48. P. 503–514.
- Brás T.A., Seixas J., Carvalhais N., Jägermeyr J. Severity of drought and heatwave crop losses tripled over the last five decades in Europe // Environ. Res. Lett. 2021. V. 16. P. 065012.
<https://doi.org/10.1088/1748-9326/abf004>
- Browne R.G., Iacuone S., Li S.F. et al. Anther morphological development and stage determination in *Triticum aestivum* // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 228.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00228>
- Browne R.G., Li S.F., Iacuone S. et al. Differential responses of anthers of stress tolerant and sensitive wheat cultivars to high temperature stress // Planta. 2021. V. 254. P. 4.
<https://doi.org/10.1007/s00425-021-03656-7>
- Chaturvedi P., Wiese A.J., Ghatak A. et al. Heat stress response mechanisms in pollen development // New Phytol. 2021. V. 231. P. 571–585.
<https://doi.org/10.1111/nph.17380>
- Chen Z., Galli M., Gallavotti A. Mechanisms of temperature-regulated growth and thermotolerance in crop species // Curr. Opin. Plant Biol. 2022. V. 65. P. 102134.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102134>
- Chowdhury M.K., Hasan M.A., Bahadur M.M. et al. Evaluation of drought tolerance of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through phenology, growth, and physiological indices // Agronomy. 2021. V. 11. P. 1792.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11091792>
- Climate change and food security with emphasis on wheat / Eds M. Ozturk, A. Cul. L.: Acad. Press, 2020. 370 p.
- Coast O., Murdoch A.J., Ellis R.H. et al. Resilience of rice (*Oryza* spp.) pollen germination and tube growth to temperature stress // Plant Cell Environ. 2016. V. 39. P. 26–37.
- Da Costa M.V.J., Ramegowda V., Sreeman S., Nataraja K.N. Targeted phytohormone profiling identifies potential regulators of spikelet sterility in rice under combined drought and heat stress // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 11690.
<https://doi.org/10.3390/ijms222111690>
- Das S., Krishnan P., Nayak M., Ramakrishnan B. High temperature stress effects on pollens of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes // Environ. Exp. Bot. 2014. V. 101. P. 36–46.
- Demydov O., Khomenko S., Fedorenko M. et al. Stability and plasticity of collection samples of durum spring wheat in the forest-steppe conditions of Ukraine // Am. J. Agr. Forest. 2021. V. 9. P. 83–88.
- Draeger T., Moore G. Short periods of high temperature during meiosis prevent normal meiotic progression and reduce grain number in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2017. V. 130. P. 1785–1800.
- El-Mowafi H.F., Alkahtani M.D.F., Abdallah R.M. et al. Combining ability and gene action for yield characteristics in novel aromatic cytoplasmic male sterile hybrid rice under water-stress conditions // Agriculture. 2021. V. 11. P. 226.
<https://doi.org/10.3390/agriculture11030226>
- Endo M., Tsuchiya T., Hamada K. et al. High temperatures cause male sterility in rice plants with transcriptional alterations during pollen development // Plant Cell Physiol. 2009. V. 50. P. 1911–1922.
- Fabián A., Sáfrán E., Szabó-Eitel G. et al. Stigma functionality and fertility are reduced by heat and drought co-stress in wheat // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. P. 244.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00244>
- Fedotova O.A., Polyakova E.A., Grabelnykh O.I. Influence of high temperatures on heat tolerance and synthesis of heat shock proteins in spring wheat at the initial stages of development // Sib. J. Life Sci. Agric. 2020. V. 12. P. 179–191.
- Feng B., Zhang C., Chen T. et al. Salicylic acid reverses pollen abortion of rice by heat stress // BMC Plant Biol. 2018. V. 18. P. 245.
<https://doi.org/10.1186/s12870-018-1472-5>
- Fernández-Gómez J., Talle B., Tidy A.C., Wilson Z.A. Accurate staging of reproduction development in Cadenza wheat by non-destructive spike analysis // J. Exp. Bot. 2020. V. 71. P. 3475–3484.
- Fuchs L.K., Jenkins G., Phillips D.W. Anthropogenic impacts on meiosis in plants // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 1429.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01429>
- Gahlaut V., Jaiswal V., Kumar A., Gupta P.K. Transcription factors involved in drought tolerance and their possible role in developing drought tolerant cultivars with emphasis on wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2016. V. 129. P. 2019–2042.
- González-Schain N., Dreni L., Lawas L.M. et al. Genome-wide transcriptome analysis during anthesis reveals new insights into the molecular basis of heat stress responses

- in tolerant and sensitive rice varieties // *Plant Cell Physiol.* 2016. V. 57. P. 57–68.
- González-Schain N., Roig-Villanova I., Kater M.M. Early cold stress responses in post-meiotic anthers from tolerant and sensitive rice cultivars // *Rice.* 2019. V. 12. P. 94. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0350-6>
- Guo J., Gu X., Lu W., Lu D. Multiomics analysis of kernel development in response to short-term heat stress at the grain formation stage in waxy maize // *J. Exp. Bot.* 2021. V. 72. P. 6291–6304.
- Guo X., Li L., Liu X. et al. *MYB2* is important for tapetal PCD and pollen development by directly activating protease expression in *Arabidopsis* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 3563. <https://doi.org/10.3390/ijms23073563>
- Gyawali A., Upadhyaya K., Panthi B. et al. Heat stress effect on wheat: a review // *i TECH MAG.* 2021. V. 3. P. 5–8. <https://doi.org/10.26480/itechmag.03.2021.05.08>
- Hu Q., Wang W., Lu Q. et al. Abnormal anther development leads to lower spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) under high temperature during the panicle initiation stage // *BMC Plant Biol.* 2021. V. 21. P. 428. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03209-w>
- Huang J., Zhang T., Linstroth L. et al. Control of anther cell differentiation by the small protein ligand TPD1 and its receptor EMS1 in *Arabidopsis* // *PLoS Genet.* 2016. V. 12. P. e1006147. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006147>
- Hussain J., Khaliq T., Ahmad A. et al. Wheat responses to climate change and its adaptations: a focus on arid and semi-arid environment // *Int. J. Environ. Res.* 2018. V. 12. P. 117–126. <https://doi.org/10.1007/s41742-018-0074-2>
- Jagadish S. Heat stress during flowering in cereals – effects and adaptation strategies // *New Phytol.* 2020. V. 226. P. 1567–1572.
- Jagadish S., Way D., Sharkey T. Scaling plant responses to high temperature from cell to ecosystem // *Plant Cell Environ.* 2021. V. 44. № 7. P. 1987–1991.
- Jogawat A., Yadav B., Lakra N. et al. Crosstalk between phytohormones and secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: a review // *Physiol. Plant.* 2021. V. 172. P. 1106–1132. <https://doi.org/10.1111/ppl.13328>
- Kanbar O.Z., Lantos C., Pauk J. *In vitro* anther culture as efficiently applied technique for doubled haploid production of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Ratar. Povrtar.* 2021. V. 58. P. 31–45.
- Kandel S. Wheat responses, defense mechanisms and tolerance to drought stress: a review article // *Int. J. Res. Appl. Sci. Biotechnol.* 2021. V. 8. Iss. 5. P. 99–109. <https://doi.org/10.31033/ijrasb.8.5.14>
- Khan A., Ahmad M., Ahmed M., Hussain I.M. Rising atmospheric temperature impact on wheat and thermotolerance strategies // *Plants.* 2020. V. 10. P. 43. <https://doi.org/10.3390/plants10010043>
- Khan R.M., Yu P., Sun L. et al. *DCET1* controls male sterility through callose regulation, exine formation and tapetal programmed cell death in rice // *Front. Genet.* 2021. V. 12. P. 790789. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.790789>
- Khan S., Anwar S., Yu M. et al. Development of drought-tolerant transgenic wheat: achievements and limitations // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 3350. <https://doi.org/10.3390/ijms20133350>
- Khlaïmongkhon S., Chakhonkaen S., Tongmark K. et al. RNA sequencing reveals rice genes involved in male reproductive development under temperature alteration // *Plants.* 2021. V. 10. P. 663. <https://doi.org/10.3390/plants10040663>
- Kimotho R.N., Baillo E.H., Zhang Z. Transcription factors involved in abiotic stress responses in maize (*Zea mays* L.) and their roles in enhanced productivity in the post genomics era // *PeerJ.* 2019. V. 7. P. e7211. <https://doi.org/10.7717/peerj.7211>
- Kruglova N.N., Zinatullina A.E. *In vitro* culture of autonomous embryos as a model system for the study of plant stress tolerance to abiotic factors (on the example of cereals) // *Biol. Bull. Rev.* 2022. V. 12. P. 201–211.
- Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. *In vitro* callus as a model system for the study of plant stress-resistance to abiotic factors (on the example of cereals) // *Biol. Bull. Rev.* 2018. V. 8. P. 518–526.
- Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Embryo of flowering plants at the critical stage of embryogenesis relative autonomy // *Russ. J. Dev. Biol.* 2020. V. 51. P. 1–15.
- Kumar S., Thakur M., Mitra R. et al. Sugar metabolism during pre- and post-fertilization events in plants under high temperature stress // *Plant Cell Rep.* 2022. V. 41. P. 655–673.
- Lamers J., van der Meer T., Testerink C. How plants sense and respond to stressful environments // *Plant Physiol.* 2020. V. 182. P. 1624–1635.
- Langridge P., Reynolds M. Breeding for drought and heat tolerance in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2021. V. 134. P. 1753–1769.
- Lawas L.M.F., Erban A., Kopka J. et al. Metabolic responses of rice source and sink organs during recovery from combined drought and heat stress in the field // *Giga-science.* 2019. V. 8. P. giz102. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz102>
- Laza H.E., Kaur-Kapoor H., Xin Z. et al. Morphological analysis and stage determination of anther development in Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) // *Planta.* 2022. V. 255. P. 86. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03853-y>
- Lei T., Zhang L., Feng P. et al. *OsMYB103* is essential for tapetum degradation in rice // *Theor. Appl. Genet.* 2022. V. 135. P. 929–945.
- Lei X., Ning Y., Elesawi I.E. et al. Heat stress interferes with chromosome segregation and cytokinesis during male meiosis in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Signal. Behav.* 2020. V. 15. P. 1746985. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1746985>
- Leng P., Zhao J. Transcription factors as molecular switches to regulate drought adaptation in maize // *Theor. Appl. Genet.* 2020. V. 133. P. 1455–1465. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03494-y>
- Li L., Zheng Z., Biederman J.A. et al. Drought and heat wave impacts on grassland carbon cycling across hierarchical levels // *Plant Cell Environ.* 2020. V. 44. P. 2402–2413.

- Li X., Lawas L.M.F., Malo R. et al.* Metabolic and transcriptomic signatures of rice floral organs reveal sugar starvation as a factor in reproductive failure under heat and drought stress // *Plant Cell Environ.* 2015. V. 38. P. 2171–2192.
- Liu J., Zhou Y., Wang L. et al.* Cytological analysis and fine mapping of *paal* (post-meiosis abnormal anther 1) mutant with abnormal tapetum and microspore development // *Biochem. Genet.* 2022. V. 60. P. 2268–2285. <https://doi.org/10.1007/s10528-022-10217-4>
- Liu Y., Liu X., Wang X. et al.* Heterologous expression of heat stress-responsive *AtPLC9* confers heat tolerance in transgenic rice // *BMC Plant Biol.* 2020. V. 20. P. 514. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02709-5>
- Liu Z., Qin J., Tian X. et al.* Global profiling of alternative splicing landscape responsive to drought, heat and their combination in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Plant Biotechnol. J.* 2018. V. 16. P. 714–726.
- Lohani N., Singh M.B., Bhalla P.L.* High temperature susceptibility of sexual reproduction in crop plants // *J. Exp. Bot.* 2020. V. 71. P. 555–568.
- Lv S., Feng K., Peng S. et al.* Comparative analysis of the transcriptional response of tolerant and sensitive wheat genotypes to drought stress in field condition // *Agronomy.* 2018. V. 8. P. 247. <https://doi.org/10.3390/agronomy8110247>
- Maleki M., Ghorbanpour M., Nikabadi S., Wani S.H.* *In vitro* screening of crop plants for abiotic stress tolerance // *Recent approaches in omics for plant resilience to climate change* / Ed. S. Wani. Cham: Springer, 2019. P. 75–91.
- Marone D., Mastrangelo A.M., Borelli G.M. et al.* Specialized metabolites: physiological and biochemical role in stress resistance, strategies to improve their accumulation, and new applications in crop breeding and management // *Plant Physiol. Biochem.* 2022. V. 172. P. 48–55.
- Matsui T., Hasegawa T.* Effect of long anther dehiscence on seed set at high temperature during flowering in rice (*Oryza sativa* L.) // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 20363. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56792-2>
- Matsui T., Kobayashi K., Kagata H., Horie T.* Correlation between viability of pollination and length of basal dehiscence of the theca in rice under a hot-and-humid condition // *Plant Prod. Sci.* 2005. V. 8. P. 109–114.
- Mesihovic A., Iannacone R., Firon N., Fragkostefanakis S.* Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants // *Plant Reprod.* 2016. V. 29. P. 93–105.
- Omidi M., Siahpoosh M.R., Mamghani R., Modarresi M.* The influence of terminal heat stress on meiosis abnormalities in pollen mother cells of wheat // *Cytologia.* 2014. V. 79. P. 49–58.
- Pan X., Yan W., Chang Z. et al.* *OsMYB80* regulates anther development and pollen fertility by targeting multiple biological pathways // *Plant Cell Physiol.* 2020. V. 61. P. 988–1004.
- Plant life under changing environment: responses and management / Eds D.K. Tripathi, V.P.P. Singh, D.K. Chauhan et al. L.: Acad. Press, 2020. 1020 p.
- Prasad P.V., Bheemanahalli R., Jagadish S.K.* Field crops and the fear of heat stress – opportunities, challenges and future directions // *Field Crops Res.* 2017. V. 200. P. 114–121.
- Qaseem M.F., Qureshi R., Muqaddasi Q.H. et al.* Genome-wide association mapping in bread wheat subjected to independent and combined high temperature and drought stress // *PLoS One.* 2018. V. 13. P. e0199121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199121>
- Ranjan R., Malik N., Sharma S. et al.* *OsCPK29* interacts with *MADS68* to regulate pollen development in rice // *Plant Sci.* 2022. V. 321. P. 111297. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2022.111297>
- Raveena, Bharti R., Chaudhary N.* Drought resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.): a review // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2019. V. 8. P. 1780–1792.
- Raza Q., Riaz A., Bashir K., Sabar M.* Reproductive tissues-specific meta-QTLs and candidate genes for development of heat-tolerant rice cultivars // *Plant Mol. Biol.* 2020. V. 104. P. 97–112.
- Sakkar T., Thankappan R., Mishra G.P., Nawade B.D.* Advances in the development and use of *DREB* for improved abiotic stress tolerance in transgenic crop plants // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2019. V. 25. P. 1323–1334.
- Sallam A., Alqudah A.M., Dawood M.F. et al.* Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 3137. <https://doi.org/10.3390/ijms20133137>
- Sattar S., Afzal R., Bashir I. et al.* Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // *Int. J. Innov. Appr. Agricult. Res.* 2019. V. 3. P. 510–528.
- Schindfessel C., Drozdowska Z., De Mooij L., Geelen D.* Loss of obligate crossovers, defective cytokinesis and male sterility in barley caused by short-term heat stress // *Plant Reprod.* 2021. V. 34. P. 243–253.
- Severtsova E.A., Severtsov A.S.* Crucial stages of embryogenesis of *R. arvalis*. Part 1. Linear measurements of embryonic structures // *Russ. J. Dev. Biol.* 2011. V. 42. P. 331–341.
- Severtsova E.A., Severtsov A.S.* Crucial stages of embryogenesis of *R. arvalis*. Part 2. Development of head structures // *Russ. J. Dev. Biol.* 2012. V. 43. P. 164–171.
- Severtsova E.A., Severtsov A.S.* Crucial stages of embryogenesis of *R. arvalis*. Part 3. Modularity of developmental integrity // *Russ. J. Dev. Biol.* 2013. V. 44. P. 273–278.
- Sinha R., Fritschi F.B., Zandalinas S.I., Mittler R.* The impact of stress combination on reproductive process in crops // *Plant Sci.* 2021. V. 311. P. 111007. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111007>
- Sun S., Wang D., Li J. et al.* Transcriptome analysis reveals photoperiod-associated genes expressed in rice anthers // *Front. Plant Sci.* 2021. V. 12. P. 621561. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.621561>
- Sun Y., Wang X., Chen Z. et al.* Quantitative proteomics and transcriptomics reveals differences in proteins during anthers development in *Oryza longistaminata* // *Front. Plant Sci.* 2021. V. 12. P. 744792. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.744792>
- Tang H., Song Y., Guo J. et al.* Physiological and metabolome changes during anther development in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Plant Physiol. Biochem.* 2018. V. 132. P. 18–32.

- Ullah A., Nadeem F., Nawaz A. et al. Heat stress effects on the reproductive physiology and yield of wheat // *J. Agronom. Crop Sci.* 2022. V. 208. P. 1–17.
- van Es S.W. Too hot to handle, the adverse effect of heat stress on crop yield // *Physiol. Plant.* 2020. V. 169. P. 499–500.
- Wada H., Hatakeyama Y., Nakashima T. et al. On-site single pollen metabolomics reveals varietal differences in phosphatidylinositol synthesis under heat stress conditions in rice // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. 2013. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58869-9>
- Wu C., Cui K., Li Q. et al. Estimating the yield stability of heat-tolerant rice genotypes under various heat conditions across reproductive stages: a 5-year case study // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. P. 13604. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93079-x>
- Wu L., Jing X., Zhang B. et al. A natural allele of *OsMS1* responds to temperature changes and confers thermosensitive genic male sterility // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. P. 2055. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29648-z>
- Yadav S., Sharma K.D. Molecular and morphophysiological analysis of drought stress in plants // *Plant growth*. Ch. 10 / Ed. E.C. Rigobelo. Rijeka: IntechOpen, 2016. P. 149. <https://doi.org/10.5772/65246>
- Yadav A.K., Carroll A.J., Estavillo G.M. et al. Wheat drought tolerance in the field is predicted by amino acid responses to glasshouse-imposed drought // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. P. 4931–4948.
- Yadav B., Jogawat A., Rahman M.S., Narayan O.P. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: a review // *Gene Rep.* 2021. V. 23. P. 101040. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101040>
- Yu J., Jiang M., Guo C. Crop pollen development under drought: from the phenotype to the mechanism // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 1550. <https://doi.org/10.3390/ijms20071550>
- Zahoor I., Hasan H., Gul A. et al. Molecular mechanism of drought tolerance in wheat // *Climate change and food security with emphasis on wheat* / Eds M. Ozturk, A. Gul. L.: Acad. Press, 2020. P. 129–154.
- Zhan X., Chen Z., Chen R., Shen C. Environmental and genetic factors involved in plant protection-associated secondary metabolite biosynthesis pathways // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. P. 877304. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.877304>
- Zhang D., Luo X., Zhu L. Cytological analysis and genetic control of rice anther development // *J. Genet. Genom.* 2011. V. 38. P. 379–390.
- Zhang C., Li G., Chen T. et al. Heat stress induces spikelet sterility in rice at anthesis through inhibition of pollen tube elongation interfering with auxin homeostasis in pollinated pistil // *Rice.* 2018. V. 11. P. 14. <https://doi.org/10.1186/s12284-018-0206-5>
- Zhang Z., Hu M., Xu W. et al. Understanding the molecular mechanism of anther development under abiotic stresses // *Plant Mol. Biol.* 2021. V. 105. P. 1–10.

Some Methodological Approaches to the Identification of Heat Resistant Genotypes of Cultivated Plants (on the Example of Cereals)

N. N. Kruglova^a, * and A. E. Zinatullina^a

^aUfa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

*e-mail: kruglova@anrb.ru

The problem of cultivated plants resistance to heat as the effect of high air temperatures leading to physiological drought is extremely relevant not only in the conditions of predicted climate aridization, but also when studying the effects of relatively short-term “heat waves”. Modern breeding is focused on the creation of high-yielding heat-resistant varieties of cultivated plants, especially cereals as the main world food resource. During breeding developments, it is necessary to first identify heat-resistant cereal genotypes for their insertion in the appropriate programs. The article provides a critical analysis of a number of approaches presented in the literature to identify such genotypes (modeling of the effect of the high temperature stress factor in experimental conditions *in situ*; the use of anthers in such conditions as the generative structures more sensitive to the effects of this stress factor in comparison with vegetative organs), which can be assessed as methodological. In addition, from the standpoint of descriptive and experimental plant embryology, the use of inter-related concepts (developed by T.B. Batygina, 2014 and earlier) is proposed as the promising methodological approach: the assessment of the anther as the complex integrated tissue system and the presence of critical stages in the development of this system.

Keywords: abiotic stresses, heat, physiological drought, heat modeling, anther as integrated system, critical stages of anther development, cereals