

РЕАКЦИЯ *PINUS SYLVESTRIS* (PINACEAE) НА ИНБРИДИНГ И ЕЕ ХАРАКТЕРИСТИКА КАК ЭЛЕМЕНТА СИСТЕМЫ НЕСОВМЕСТИМОСТИ

© 2023 г. Н. Ф. Кузнецова^{1,*}

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии
ул. Ломоносова, 105, Воронеж, 393087, Россия*

**e-mail: nfsenyuk@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.09.2022 г.

После доработки 27.03.2023 г.

Принята к публикации 28.03.2023 г.

Обобщены результаты изучения систем семенного размножения сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при искусственном самоопылении и свободном опылении. Показано, что в оптимальные годы генеративная сфера сосны находится в равновесии, при котором популяции характеризуются минимальным уровнем самофертильности ($R_{сф} = 0.13–0.14$). Соотношение между самостерильными (сс), частично самофертильными (чсф) и самофертильными (сф) формами составляет 8сс : 4чсф : 1сф, доля инбредного потомства 7–8%. Установлено, что самоопыление снижает урожайность шишек и повышает их пустосемянность. При самоопылении у самостерильных форм несовместимость ведет к формированию зоны отторжения между инбредной пыльцевой трубкой и нуцеллусом и вызывает гибель до 20–30% мужских гамет. Во время раннего эмбриогенеза ширина этой зоны достигает диаметра 1–2 клеток, что приводит к гибели более 90% инбредных зародышей, свидетельствуя о высокой интенсивности процессов несовместимости между зародышем и эндоспермом. Выявлено, что в слабо аномальные годы (теплые, холодные), в умеренную и в сильную засуху уровень самофертильности повышается пропорционально силе погодного стресса, меняется структура выборки, доля инбредных потомств повышается от 1/12 до 1/9, 1/5 и 1/3 соответственно. Это подтверждает участие инбридинга в адаптации семенного генофонда к среде обитания. Обсуждается организация генетической системы несовместимости, ее изменения при переходе от голосеменных к покрытосеменным растениям.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, генеративная сфера, самоопыление, свободное опыление, самофертильность, несовместимость

DOI: 10.31857/S0006813623040051, **EDN:** РААМН1

Все виды цветковых растений по отношению к инбридингу принято делить на самостерильные (SI, self-incompatibility), самофертильные (SF, self-fertility) и самосовместимые (SC, self-compatibility) виды (East, 1929; Lewis, 1944; De Nettancourt, 1977, 2001; Vishnyakova, 1989; Surikov, 1991; Agadzhanian, 1992; Franklin-Tong, 2008; Rea, Nasrallah, 2008; Ferrer, Good, 2012; Zhao et al., 2022; и др.). Дифференциация есть результат многовекового эволюционного развития генетической системы несовместимости и полового воспроизведения семенных растений в целом, процессы которых до сих пор продолжают в разных звеньях ANGIOSPERMAE. В природе наиболее широко распространены SI растения, которые встречаются у 39% видов и принадлежат к 100 семействам (Igic et al., 2008). Наблюдается переход от SI к SC состоянию (De Nettancourt, 2001; Ferrer, Good, 2007; Igic et al., 2008; и др.). По данным Igic et al.

(2008) потери SI необратимы. Причины данного феномена неизвестны.

Понимание генетической природы несовместимости, ее проявления на более низких ступенях организации входит в число ключевых проблем ботаники. Все виды голосеменных являются перекрестноопыляющимися растениями. У них, как филогенетически более древнего непосредственно предшествующего покрытосеменным таксона, признаки наличия системы несовместимости уже должны присутствовать. Однако данный вопрос до сих пор является предметом дискуссии.

По определению самонесовместимость — это неспособность фертильных гермафродитных семенных растений продуцировать зиготы после самоопыления (De Nettancourt, 1977). Если исходить из данного определения, генетическая система несовместимости у голосеменных растений отсутствует. Механизмы, препятствующие само-

опылению, прорастанию собственной пыльцы и самооплодотворению выражены слабо. Инбридинговая депрессия реализуется в эмбриогенезе и характеризуется высокой эффективностью. Когда доля самоопыления в нижнем ярусе деревьев равна 34%, число инбредных семян составляет около 5% (Remington, O'Malley, 2000). По данным V. Koski (1971) уровень редукции еще выше: если собственная пыльца в пыльцевом пуле составляет 20%, то доля инбредного потомства не превышает 1%. Поэтому реакцию голосеменных растений на инбридинг принято оценивать по уровню самофертильности и описывать как явление самофертильности (Park, Fowler, 1984; Pozhidaeva, Isakov, 1989).

В настоящее время негативная роль самоопыления на формирование урожая семян доказана для многих видов хвойных растений (Johnson, 1945; Kotelova, 1956; Sarvas, 1962; Franklin, 1970; Park, Fowler, 1984; Williams, Savollainen, 1996; Svintsova, 2002; Kuznetsova, 1996, 2012; et al.). В разработанной генетической модели Koski (1971) причина гибели заложена в самом зародыше, связана с переходом при самооплодотворении рецессивных эмбриональных летелей в гомозиготное состояние. Летальный эффект реализуется в эмбриогенезе, имеет полигенное наследование, в котором задействованы от 75 до 10000 локусов (Williams et al., 2003).

Цель исследования — обобщить данные электронно-микроскопических исследований и результаты 2-х и 12-летнего опыта по самоопылению сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) для определения особенностей инбридинговой депрессии у самостерильных форм во время гаметогенеза и эмбриогенеза, оценки стабильности / лабильности признака самофертильности в оптимальные и засушливые годы, выявления связи между природой самофертильности сосны и генетической системой несовместимости покрытосеменных растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служило типичное по вегетативной и семенной продуктивности насаждение сосны обыкновенной Ступинского тест-объекта (Воронежская область, Рамонский район, 55–60-летние лесные культуры, прилегающие к Воронежскому биосферному заповеднику). Район исследований характеризуется умеренно-континентальным климатом, лесорастительные условия (ТУМ А₂, сосняк травяной) соответствуют биологии вида *Pinus sylvestris*. Ступинский тест-объект — объект длительного мониторинга (1987–2022 гг.) и комплексных исследований систем семенного размножения сосны в оптимальной зоне видовой ареала.

Опыт по искусственному самоопылению проводили по методике Н.В. Котеловой (Kotelova,

1956) на случайной выборке одних и тех же 50 деревьев в течение 12 лет (1988–1999 гг.) (Kuznetsova, 2009, 2012). При разработке его схемы мы исходили из того, что у голосеменных растений самофертильность является стабильным генетически детерминированным признаком. В число задач эксперимента входило изучение структуры популяции сосны по уровню самофертильности, степени стабильности / лабильности признака в разные годы, вклада самоопыления в семенную продукцию года, роли инбридинга в системе семенного размножения вида.

В мае мегастробилы изолировали в пакеты из пергамента в фазе “стоячая шишка” (Kotelova, 1956). Утром, когда рецептивность женских шишек в фазе “открытая шишка” была максимальной, проводили их опыление пыльцой только своего дерева. Изоляторы снимали через 7–10 дней, когда мегастробилы находились в фазе “закрытая шишка”. В 2-летнем эксперименте по самоопылению участвовали 26 деревьев. Число мегастробиллов на изолированных и маркированных контрольных ветках было одинаковым, лишние стробилы удалялись. Общее их количество на момент изоляции приняли за 100%. Сохранность шишек определяли ежемесячно вплоть до их созревания.

Коэффициент самофертильности (K_{cf}) вычисляли как соотношение процента полных семян при самоопылении к аналогичному показателю при свободном опылении. Диапазон изменчивости деревьев по данному признаку разбит на три класса: самостерильные (*сс*) $0 \leq K_{cf} \leq 0.1$; частично-самофертильные (*чсф*) $0.1 \leq K_{cf} \leq 0.5$; самофертильные (*сф*) $0.5 \leq K_{cf} \leq 0.8$ и выше. Долю инбредных потомств в семенной продукции года находили по соотношению количества выполненных инбредных семян к числу аутбредных. Годы исследований по погодным условиям распределились следующим образом: 1990, 1994 — холодные, 1996, 1998 — теплые годы, 1995 — умеренная засуха, 1991 — сильная засуха. Остальные годы соответствовали региональной норме.

Светооптические и электронно-микроскопические исследования гаметогенеза и эмбриогенеза при самоопылении и свободном опылении проводили на самостерильных (*сс*) и высоко самостерильных (*всс*, $K_{cf} < 0.03$) деревьях ступинской популяции. Растительный материал фиксировали 2% глутаровым альдегидом с дофиксацией 1% OsO₄. Препараты полутонких и ультратонких срезов просматривали и фотографировали в световом микроскопе МБИ-6 и электронном микроскопе Tesla BS-613.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что в оптимальные годы для реакции сосны на инбридинг характерен высокий внутривидовой полиморфизм (0–0.75).

Средний K_{cf} выборки варьирует в узких пределах 0.13–0.14. Показатели K_{cf} индивидуальных деревьев в разные оптимальные годы изменяются в небольших пределах. Ранговое положение дерева в выборке довольно постоянно, коэффициент ранговой корреляции Спирмена 0.89–0.96. Снижение урожая семян при самоопылении составляет 12–15 раз. Доля инбредных семян в семенной продукции года равна 8.7% (рис. 1). Более 90% деревьев отрицательно реагирует на самоопыление. Высокая повторяемость показателей и однотипная структура выборки в разные оптимальные годы свидетельствуют, что самофертильность является генетически обусловленным признаком. Распределение генотипов в выборке представляет асимметричную кривую с максимумом в области самостерильных форм. Процентное соотношение между *сс*, *чсф* и *сф* формами по суммарным данным 6 оптимальных лет равно $\sim 8сс : 4чсф : 1сф$. Доля *сф* форм составляет 7–8%. 61% деревьев выборки – автостерильные формы.

Гидротермический стресс выводит систему семенного размножения из равновесия, повышает лабильность деревьев по уровню самофертильности. Показано, что самофертильность является стабильным признаком только в оптимальные годы. При отклонении климатических условий от региональной нормы создается новая мода K_{cf} . Установлены высокая чувствительность признака к погодному стрессу и разная реакция контрастных групп деревьев на его воздействие. Средний K_{cf} выборки при повышении и понижении температурного режима изменяется только однонаправленно – в сторону увеличения самофертильности. Повышенная лабильность наблюдается в группе *сс* деревьев, а самая низкая – в группе *сф*. По мере усиления погодного стресса трансформируется структура популяции по уровню самофертильности и увеличивается доля инбредных семян (рис. 1б, в, г). В холодные и теплые годы средний K_{cf} выборки повысился почти в 1.5 раза – с 0.13–0.14 до 0.18–0.21. Соотношение между формами стало $4сс : 8чсф : 1сф$. В умеренную засуху модальное значение K_{cf} превысило уровень оптимальных лет втрое и составило 0.38. Доля *сс*, *чсф* и *сф* форм стала одинаковой. В сильную засуху величина среднего K_{cf} достигла 0.58. Структура выборки приняла асимметричный вид по отношению к оптимальным годам ($1сс : 1чсф : 2сф$). Соответственно увеличивалась и доля инбредных семян. Так, если инбредное потомство в генофонде оптимальных лет составляло 1/12–1/14 часть, то в аномальные годы их доля повысилась до 1/9, 1/5, 1/3 (соответственно теплые, умеренная и сильная засуха). В теплые и холодные годы доля инбредных семян увеличилась в среднем до 11% (рис. 1б). В умеренную засуху, когда урожайность сосны снизилась вдвое, вклад инбридинга увеличился до 21% (рис. 1в). В сильную

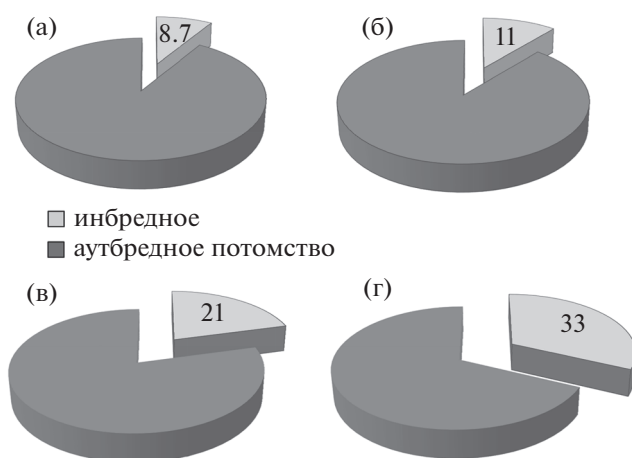


Рис. 1. Доля инбредного потомства сосны обыкновенной в разные по погодным условиям годы: а – оптимальные годы; б – холодные и теплые годы; в – умеренная засуха; г – сильная засуха.

Fig. 1. Share of inbred progeny of Scots pine in years with different weather conditions: а – optimal years; б – cold and warm years; в – moderate drought; г – severe drought.

засуху (5-кратная редукция урожая) инбредные генотипы составили 1/3 от числа выживших семян (рис. 1г). Важно отметить, что подавляющая часть семенного генофонда все эти годы по происхождению было аутбредным потомством (рис. 1).

О разной генетической природе *сс* (типичных перекрестников) и *чсф* + *сф* (потенциальных самоопылителей) форм можно судить по величине отклика на погодный стресс (Kuznetsova, 2012). Его определяли у данных групп деревьев по среднему K_{cf} , который у *сс* и *чсф* + *сф* форм в оптимальные годы составлял 0.056 и 0.362 соответственно. Данные значения мы приняли за 100%. Оказалось, что в теплом 1998 г., когда лишь намечалась тенденция снижения урожая сосны, средний K_{cf} деревьев *сс* группы повысился в 1.5 раза, а у *чсф* + *сф* группы только на 20%. Более явные различия наблюдались в умеренную засуху 1995 г. В этот год величина сдвига составила 3.8 раза для *сс* и 54.8% для *чсф* + *сф* форм.

Реакция сосны на самоопыление в прогамный период изучалась на отдельном опыте по самоопылению. Годы его проведения (1987–1988 и 1988–1989 гг.) были оптимальными по погодным условиям. Динамика сохранности шишек 1- и 2-го года развития при самоопылении и свободном опылении в 1987–1988 гг. приведена на рис. 2. Полученные данные свидетельствуют о неравномерной редукции их числа в период между опылением мегастробиллов и сбором шишек. Установлены два пика опада шишек: первый приходится на второй месяц после опыления (период развития пыльцевых трубок), второй – на май следующего года (выход шишек из состояния покоя). Различия между вариантами опыления проявились на второй месяц после

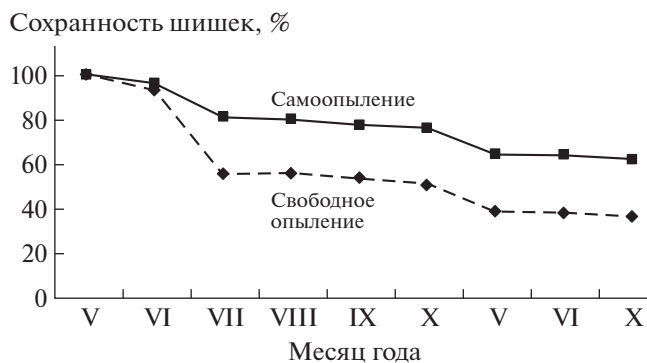


Рис. 2. Сохранность шишек сосны обыкновенной после самоопыления и свободного опыления.

Fig. 2. Persistence of Scots pine cones after self-pollination and open pollination.

опыления, и сохранялись вплоть до созревания шишек. В опыте 1987 г. сохранность шишек была выше на 28,8% при свободном опылении, чем при самоопылении. Размах варьирования признака от 6 до 94%. В 1988 г. разница между типами опыления составила 25%, что свидетельствует о наличии инбридинговой депрессии между пыльцевой трубкой и нуцеллумом в год опыления.

Электронно-микроскопическое изучение зоны контакта пыльцевых трубок с нуцеллумом проводилось при двух вариантах опыления – самоопылении и свободном опылении. Их развитие в год опыления принято подразделять на 5 периодов (Kotelova, Khromova, 1974): 1) прорастание и интенсивное внедрение; 2) неразветвленный рост трубок; 3) ветвление кончика трубки; 4) резкое уменьшение роста; 5) период покоя. На рис. 3 показана ультраструктура пыльцевых трубок при самоопылении и свободном опылении в начале 2-го и в конце 3-го периода формирования на примере их развития у *всс* дерева № 81 ($K_{сф} = 0.01$). Показано, что после перехода вегетативной клетки пыльцы в нуцеллус отложения каллозы на ее оболочке отсутствуют (рис. 3а). К концу 3-го периода оболочка утолщается, на границе с нуцеллумом видны небольшие отложения каллозы. Признаки дегенерации цитоплазмы отсутствуют (рис. 3б). При самоопылении зона отторжения между инбридной пыльцевой трубкой и нуцеллумом начинает формироваться во 2-м периоде, сразу после перехода с автотрофного на гетеротрофный способ питания (рис. 3в). По-видимому, инбридные пыльцевые трубки могут использовать для своей трофики лишь часть компонентов питательной ткани. Остальные в условиях дегенерации накапливаются на границе, вызывая остановку роста и переход в состояние покоя, или гибель. Показано, что интенсивность реакций несовместимости в прогамный период недостаточна для ингибирования развития большинства трубок. Поэтому они успевают завершить цикл своего развития, возобновляют рост весной следу-

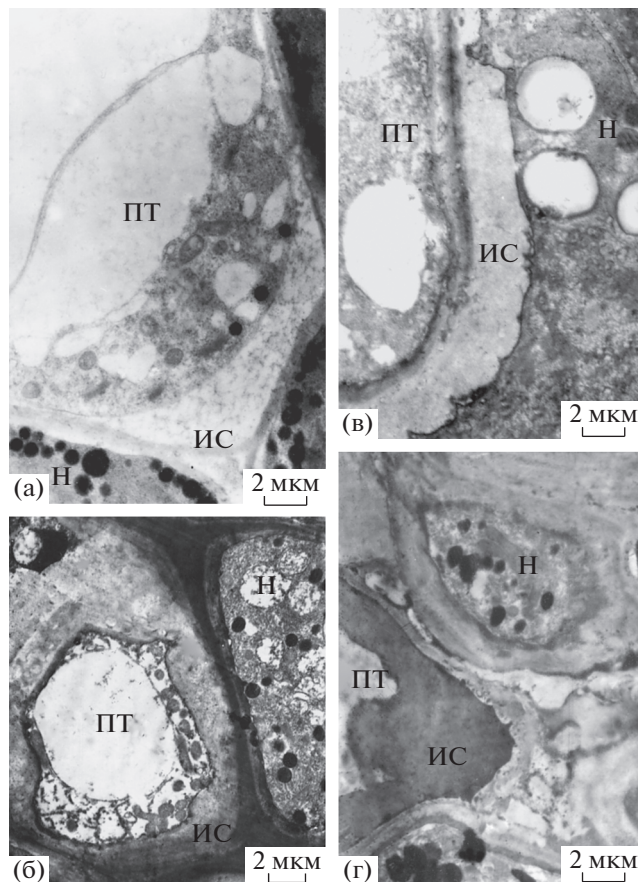


Рис. 3. Ультраструктура зоны контакта между пыльцевой трубкой и нуцеллумом у самостерильных форм сосны обыкновенной после ее прорастания и в конце 1-го вегетационного сезона при свободном опылении (а, б) и самоопылении (в, г). ПТ – пыльцевая трубка, Н – нуцеллус.

Fig. 3. Ultrastructure of the pollen tube to nucellus contact zone in self-sterile forms of Scots pine after its germination and at the end of 1st vegetation season in open pollination (а, б) and self-pollination (в, г). ПТ – pollen tube, Н – nucellus.

ющего года и участвуют в оплодотворении. Погибшие пыльцевые трубки снаружи и часто внутри заполнены каллозой. Ее отложения наблюдаются вокруг близлежащих клеток нуцеллуса, что свидетельствует о несовместимости тканей (рис. 3г).

При свободном опылении у *всс* деревьев в оптимальные годы формируется в среднем 23–24 семян на шишку, уровень полнотерности выборки колеблется в пределах 80–92%. При самоопылении подавляющее число шишек у деревьев данной группы пустосемянные. Количество выживших семян не превышает 1–2, остальные – пустые капсулы. Капсулы, как правило, имеют размеры выполненных семян своего дерева, подтверждая, что оплодотворение имело место. Это дало нам основание считать, что инбридинговая депрессия в период эмбриогенеза является основной причиной их гибели.

Эмбриогенез голосеменных растений включает проэмбриогенез, ранний и поздний эмбриогенез (Singh, 1978, Kozubov et al., 1982). Электронно-микроскопические исследования *всх* форм подтвердили, что инбридинговая депрессия у сосны реализуется во время раннего эмбриогенеза. Сравнительное изучение проэмбриогенеза при самоопылении и свободном опылении показало, что гибель зародышей в этот период происходит редко и не связана с типом опыления. Также не выявлено нарушений в ультраструктуре клеток зародыша сразу после выхода его в коррозийную полость.

Показано, что в ходе раннего эмбриогенеза на границе между аутбредным зародышем и эндоспермом начинает формироваться изоляционный слой (рис. 4а). Его ширина в период недифференцированного роста постепенно увеличивается (рис. 4б), не препятствуя активному росту зародыша, и не нарушая его трофическую функцию. Данный слой, по мере утолщения, к концу раннего эмбриогенеза ограничивает рост зародыша, инициирует процессы внутренней дифференциации, формирования эмбриональных структур и переход в состояние физиологического покоя.

При самоопылении *сс* и особенно *всф* форм наблюдается иная ситуация. На микрограмме отчетливо видно, как происходит отторжение инбридного зародыша в зоне контакта с эндоспермом (рис. 4в). Между ними не устанавливается нормальный обмен веществ из-за несовместимости тканей. В клетках эндосперма отмечается частичная фрагментация гранул крахмала, что свидетельствует о нарушении его оттока из пластид. Лишь незначительная часть питательных веществ поглощается, а остальные в условиях деградации стремительно накапливаются вокруг зародышевого комплекса (рис. 4в). Изоляционный слой часто достигает толщины 1–2 клеток (рис. 4г). Он полностью отделяет инбридный зародыш от питательных веществ эндосперма, что обуславливает его гибель. По нашим данным, у *сс* форм во время раннего эмбриогенеза погибает до 90% инбридных зародышей, у *всф* — 95–100%. Стадия гибели определяется степенью физиологической несовместимости в системе “зародыш–эндосперм” в период раннего эмбриогенеза. В периферийных клетках эндосперма ультраструктурных изменений в это время не наблюдается. Ткань эндосперма, как правило, деградирует последней.

ОБСУЖДЕНИЕ

Генетически контролируемая несовместимость — сложная многоуровневая система по предотвращению слияния близкородственных гамет, которая представлена у покрытосеменных растений разными типами и механизмами (De Nettancourt, 1977; Rea, Nasrallah, 2008). Основным аргументом отсутствия у голосеменных рас-

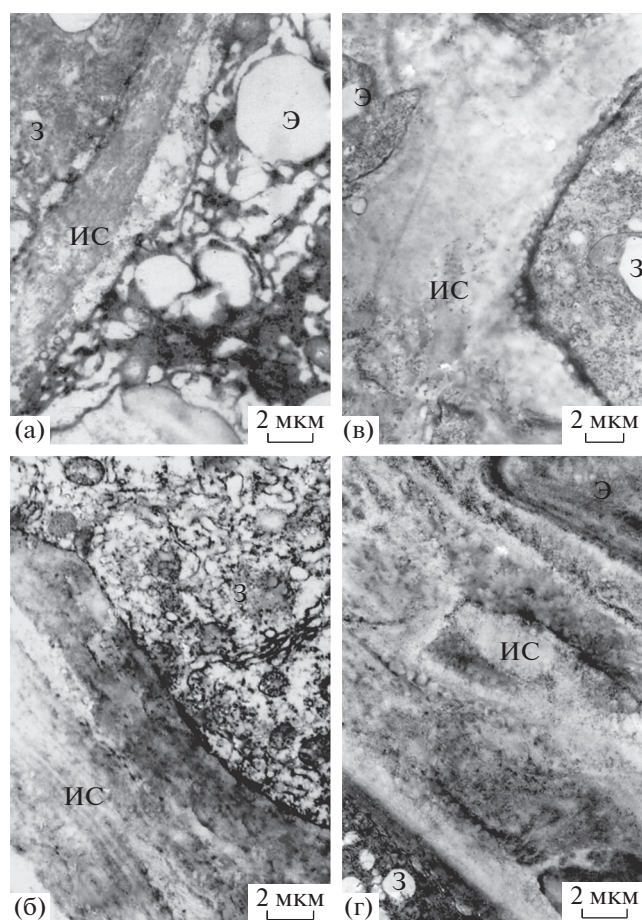


Рис. 4. Ультраструктура зоны контакта зародыша с эндоспермом у самостерильных форм сосны обыкновенной в начале и в конце раннего эмбриогенеза при самоопылении и свободном опылении. З — зародыш, Э — эндосперм.

Fig. 4. Ultrastructure of the embryo to endosperm contact zone in self-sterile forms of Scots pine at the beginning and the end of early embryogenesis in self-pollination and open pollination. З — embryo, Э — endosperm.

тений системы несовместимости является то, что инбридная пыльца способна прорасти на нуцеллусе и участвовать в оплодотворении. Несмотря на то что некоторые авторы пытались выявить у хвойных растений физиологический барьер несовместимости, подобный тому, какой существует у покрытосеменных растений (Hagman, Mikko-la, 1963; Dogra, 1967), природа инбридинговой депрессии до сих пор является предметом дискуссии. Вероятность самоопыления довольно велика. Временные интервалы рецептивных фаз мужских и женских стробиллов перекрываются, а механизмы, препятствующие попаданию собственной пыльцы в пыльцевую камеру, слабо выражены. Различия в скорости роста инбридных пыльцевых трубок по сравнению с аутбредными недостаточны для остановки их развития, обеспе-

чивая, таким образом, сингамию гамет при самоопылении (Sarvas, 1962).

Поскольку деструктивные изменения при самоопылении приурочены к эмбриогенезу, то было высказано предположение, что причина инбридинговой депрессии у голосеменных растений обусловлена нарушением физиологической связи между зародышем и эндоспермом (Mergen et al., 1965; Dogra, 1967; Bramlett, Popham, 1971; Koski, 1971; и др.). На этой основе в 70-х годах прошлого столетия была разработана теория эмбриональных леталей (Bramlett, Popham, 1971; Koski, 1971), согласно которой популяции содержат значительное количество летальных и сублетальных генов (эмбриональных леталей), находящихся в гетерозиготном состоянии в виде скрытого генетического груза. При самоопылении эмбриональные летали переходят в гомозиготное состояние и вызывают остановку развития зародышей. Согласно данной концепции нарушения физиологических связей сводились к внутренней причине и заложены в генетической конституции самого зародыша. В этом случае гибель семян должна начинаться с деградации инбредного зародыша. Материалы наших исследований показали, что инбридинговая депрессия у *сс* форм сосны проявляется в другой последовательности: вначале формируется зона отторжения между зародышем и эндоспермом, затем погибает зародыш, и только после него начинает разрушаться эндосперм, что не укладывается в теорию эмбриональных леталей. Молекулярно-генетический анализ изменчивости в хвое сосны обыкновенной аллозимных локусов выявил достоверную связь между уровнем самофертильности и индивидуальной гетерозиготностью: высоко самостерильные деревья оказались наиболее гомозиготными, а высоко самофертильные — высокогетерозиготными (Isakov, Semerikov, 1997). Полученные данные можно объяснить, если допустить, что природа самофертильности связана с действием генетической системы несовместимости в период эмбриогенеза.

Экологическую зависимость и высокую чувствительность признака самофертильности к погодному стрессу (Kuznetsova, 2009, 2012) также нельзя объяснить по теории эмбриональных леталей. Эмбриогенез протекает внутри достигших окончательного размера шишек, поэтому его процесс в меньшей степени подвержен колебаниям климата. Эмбриональные летали при самоопылении *сс* и особенно *всс* форм должны вызывать очень глубокие нарушения программы развития зародышей и неизбежно вести их к гибели вне зависимости от погодных условий. Прямая зависимость реакций несовместимости от температуры описана у цветковых растений Е.М. East (1929): максимальный уровень при оптимальной температуре, снижение интенсивности при более низком и высоком температурном режиме, что часто используется в селекционной практике для

преодоления барьеров несовместимости (Maletskiy, Denisova, 1974). Аналогичный отклик на погодный стресс выявлен у сосны (Kuznetsova, 2012): низкие показатели $K_{сф}$ в оптимальные годы, более высокие — в холодные и теплые годы, самые высокие — в сильную засуху.

Показано, что *SC* формы покрытосеменных имеют селективное преимущество в резко меняющейся неблагоприятной среде, обеспечивая относительную стабильность плодоношения растений (Agadzhanian, 1992). В опытах по химическому мутагенезу нами получен такой же эффект (Mashkina et al., 2009; Kuznetsova, Mashkina, 2011). Семена от свободного опыления *сс* и *сф* деревьев сосны обыкновенной были обработаны химическими мутагенами НДММ, НММ, ДМС в концентрации 0.1%. Исследования проводились в онтогенезе (M_1) и при смене поколений (M_2) с учетом генетических особенностей материнских деревьев. Установлено, что индуцированное потомство *сф*-форм по всем показателям (всхожесть семян, сохранность растений в течение более 20 лет, количество измененных растений, число патологий митоза) превосходило потомство *сс*-форм, полученное при сходном варианте обработки тем же мутагеном. Это указывает, что *сф* формы сосны по сравнению с *сс* более устойчивы к мутагенам.

Приведенные результаты 12-летнего опыта показали, что в аномальные годы самофертильность становится лабильным экологически зависимым признаком, чутко реагирующим на изменение погодных условий (Kuznetsova, 2009, 2012). Порог его чувствительности — холодные и теплые годы. При повышении и понижении температурного режима показатели $K_{сф}$ сдвигаются однонаправленно — в сторону большей самофертильности. Повышение в засушливые годы доли инбредных семян свидетельствует об участии инбридинга в адаптации семян к погодным условиям своего года. В засуху механизмы генотипической коррекции сопряжены с падением урожайности и селективной смертностью генотипов, которые протекают на базе неспецифической реакции и ведут к повышению в семенном генофонде доли инбредных и засухоустойчивых генотипов (Kuznetsova, 2012). Полученные материалы свидетельствуют, если неблагоприятные условия станут постоянной средой обитания, данные генотипы будут иметь адаптивное преимущество для выживания вида. При возвращении климата к норме большая часть инбредных потомств будет удалена отбором, что подтверждено на многих видах сем. Pinaceae (Franklin, 1970) и в нашем эксперименте по химическому мутагенезу (Kuznetsova, Mashkina, 2011). Большая часть растений в контрольных семьях (инбредное потомство *сс* форм без обработки) отставала в росте и погибла до вступления в фазу семеношения.

У покрытосеменных растений связь между образованием каллозы в пыльцевых трубках и несовместимостью доказана (Турю, 1959, De Nettancourt, 1977). Показано, что место остановки роста и гибели инбредных трубок в столбике происходит после достижения пороговых отложений каллозы и находится в прямой зависимости от интенсивности реакций несовместимости (Poddubnaya-Arnol'di, 1976). Подобная реакция инбредных пыльцевых трубок на самоопыление наблюдается у *сс* и *всс* форм сосны. Установлено, что их гибель вызвана отложениями каллозы в несовместимых с нуцеллумом трубках (Kuznetsova, 1991, 1996).

Известно, что отсутствие опыления, или ингибирование роста пыльцевых трубок вызывает опад шишек сосны обыкновенной в первый год развития (Kotelova, 1956; Sarvas, 1962). По нашим данным более низкая сохранность шишек при самоопылении является следствием гибели части инбредных трубок из-за несовместимости с нуцеллумом. Уменьшение их числа при самоопылении подтверждено в ряде работ (Forschell, 1974; Kotelova, 1956, Belostotskaya, 1979; Kuznetsova, 1991, 2012). Так, по данным Н.В. Котеловой (Kotelova, 1956) сохранность шишек при самоопылении и перекрестном опылении составила 39 и 65%, соответственно, в нашем опыте — 40 и 69% при самоопылении и свободном опылении. Таким образом, результаты 2-летнего эксперимента по самоопылению и электронно-микроскопического изучения пыльцевых трубок при самоопылении и свободном опылении также свидетельствуют, что самофертильность сосны и генетическая система несовместимости покрытосеменных растений имеют одинаковую природу.

Несмотря на то что инбридинговая депрессия у сосны в прогамный период характеризуется таким же, как у покрытосеменных растений морфологическим и физиологическим проявлением, интенсивность реакций несовместимости даже у *всс* форм недостаточна, чтобы ингибировать развитие большинства инбредных трубок и разорвать репродуктивный цикл до сингамии гамет. Изучение инбредных пыльцевых трубок *Pinus peuce* показало, что они углубляются от 1/3 до 1/2 длины нуцеллуса и только некоторые из них меньше данного показателя (Nagman, Mikkola, 1963). Ультраструктурно несовместимость проявляется в виде более мощного каллозного слоя, который формируется между инбредной пыльцевой трубкой и нуцеллумом в течение 3-го периода ее развития (Kuznetsova, 1991).

По данным цитологического анализа инбридинговая депрессия у *Pinus sylvestris* проявляется в начале раннего эмбриогенеза, или перед дифференциацией зародыша (Svintsova, 2002). При сравнении числа оплодотворенных яйцеклеток при инбридинге и аутбридинге установлено, что негативное влияние инбридинга на количество зигот на семяпочку находится на уровне тенденции, и

составляет 0.79. Признаки несовместимости инбредного зародыша с эндоспермом появляются после выхода его в коррозионную камеру (Kuznetsova, Isakov, 1987, Kuznetsova, 2012). В это время устанавливается связь с эндоспермом и происходит переход зародыша на новый источник питания. Близлежащие клетки эндосперма трансформируются в клетки секреторного типа, начинается активное перемещение свободных аминокислот, диссоциация молекул крахмала на более простые соединения и их поглощение зародышем (Конаг, 1958). По мере разрушения и поглощения продуктов распада зародышем их место занимают клетки следующих слоев питающей ткани. При самоопылении несовместимость тканей зародыша и эндосперма ведет к тому, что часть веществ не проходит через клеточную оболочку и накапливается на внешней его границе в виде широкой зоны отторжения. После достижения пороговых концентраций данный слой изолирует зародыш от питательных веществ эндосперма и становится причиной его гибели. Последовательность гибели семян следующая: вначале формируется зона отторжения, затем погибает зародыш, и только после него разрушается эндосперм.

Сравнение инбридинговой депрессии выявило общую закономерность ее морфологического проявления у инбредных пыльцевых трубок *SI* видов цветковых растений и *сс* форм сосны обыкновенной. Так, их рост и развитие прекращаются не сразу, а по мере того, как зона отторжения начинает приближаться к порогу, по достижению которого сам слой становится барьером на пути перемещения питательных веществ. На основании того, что инбридинг разрывает репродуктивный цикл после оплодотворения, можно сделать вывод, что генетическая система несовместимости сосны обыкновенной по сравнению с видами цветковых растений находится на более раннем этапе эволюционного развития. Проанализируем некоторые этапы ее эволюции при переходе от голосеменных к покрытосеменным растениям.

Понятие несовместимости шире, чем самофертильности. Оно включает весь спектр реакций от перекрестной несовместимости до самонесовместимости. Все виды голосеменных — перекрестноопыляющиеся растения. Их дифференциация по самофертильности осуществляется на популяционном и организменном уровне, характеризуется высокой внутривидовой изменчивостью (Barnes et al., 1962; Park, Fowler, 1984; Kuznetsova, 2012; и др.). У *SI* видов покрытосеменных механизмы, препятствующие самоопылению, и типы контроля самонесовместимости хорошо развиты, у голосеменных они выражены слабо или отсутствуют. У *SI* видов отторжение инбредных пыльцевых трубок происходит до оплодотворения, у голосеменных — после оплодотворения. Несовместимость у покрытосеменных растений встречается у 39% видов (Igic et al., 2008), у сосны обыкновенной

доля *sc* форм на треть выше (Kuznetsova, 2012). При этом реакция на погодный стресс у них одинаковая: инбридинговая депрессия максимальна при оптимальной температуре, и снижается при ее повышении или понижении.

После того, как заросток папоротниковидных потерял способность к самостоятельному существованию, и репродуктивный процесс стал полностью осуществляться на спорофите, роль генетической системы несовместимости как основного регулятора взаимоотношений между вегетативной и генеративной сферой семенных растений существенно возросла. Главное ее предназначение — ограничить развитие зародыша на материнском растении пределами семени путем перевода его в состояние физиологического покоя. В противном случае само дерево будет обречено на гибель.

Одним из направлений эволюции генетической системы несовместимости покрытосеменных является переход от самонесовместимости к самосовместимости, процесс которого продолжается до настоящего времени (Agadzhanian, 1992; De Nettancourt, 2001; Igc et al., 2008; Zhao et al., 2022 и др.). При анализе причин, лежащих в его основе, мы исходили из того, что при прогрессивной направленности эволюции семенных растений регулирование взаимоотношений между вегетативной и генеративной сферой на организменном уровне возможно лишь в том случае, когда эволюционные процессы будут совпадать с интенсификацией реакций несовместимости. Здесь очень важным является то обстоятельство, что интенсификация, как реально протекающий на базе таксона *Spermatophyta* эволюционный процесс, должна подчиняться фундаментальным законам природы. По закону сохранения количество вступающей в реакцию энергии и вещества должно быть равно количеству энергии и вещества ее продуктов. Это означает, что исходный уровень интенсивности реакций несовместимости в ходе эволюции семенных растений не меняется. В-третьих, по данным Lewis (1944), чем короче период между опылением и оплодотворением, тем интенсивность реакций несовместимости выше.

Предками совместимых видов покрытосеменных растений, как известно, были самонесовместимые виды голосеменных. При сохранении исходного уровня несовместимости эволюция голосеменных могла одновременно идти по нескольким направлениям. Во-первых, рост интенсивности реакций возможен лишь при переходе генетической системы несовместимости цветковых растений на видовой уровень организации. При этом возникновение *SI* видов происходило лишь в том случае, если появлялись виды, интенсивность реакций которых была ниже. Это одна из важных причин произошедшего в меловом периоде деления покрытосеменных на группы *SI*, *SF* и *SC* видов. Во-вторых, результатом интенсификации стал разрыв репродуктивного цикла между опы-

лением и оплодотворением у *SI* видов. В-третьих, интенсивность реакций несовместимости могла повышаться за счет уменьшения интервала между опылением и оплодотворением. Установлено, что голосеменные растения по сравнению с покрытосеменными характеризуются более коротким периодом между опылением и оплодотворением (Kordyum, 1978).

Значительная часть покрытосеменных растений до сих пор представлена *SI* видами. На стыке требований прогрессивной эволюции и законов сохранения дальнейшее развитие систем семенного размножения покрытосеменных растений сопряжено с постепенным уменьшением доли *SI* видов, что доказано частыми переходами от *SI* к *SC* (Igc et al., 2008). Поскольку причина редукции заложена в природе самого процесса, то утрата *SI* видов необратима. Дальнейшее сокращение *SI* видов и продолжающееся развитие от самонесовместимости к самосовместимости (De Nettancourt, 2001; Igc et al., 2008; Zhao et al., 2022) дают основание рассматривать увеличение численности *SC* видов как одно из генеральных направлений эволюции систем размножения покрытосеменных растений (Agadzhanian, 1992). Немаловажным фактом является то, что в условиях усиливающегося антропогенного прессинга и изменения климата *SC* виды, как более стрессоустойчивые, будут иметь адаптивное и селективное преимущество. В отношении сосны обыкновенной отметим: несмотря на то, что генетическая система несовместимости вида находится на более раннем этапе эволюционного развития, полученные данные свидетельствуют, что ее эффективность по предотвращению самоопыления очень высокая. К концу эмбриогенеза она удаляет из репродуктивного процесса более 90% инбредных генотипов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электронно-микроскопические данные, результаты 2-х и 12-летнего опыта по самоопылению свидетельствуют, что природа инбридинговой депрессии у сосны обыкновенной обусловлена действием генетической системы несовместимости, которая находится на более ранней, чем у покрытосеменных растений стадии эволюционного развития. Показано, что ее организация уже на данном этапе имеет все потенции для дальнейшего развития и совершенствования, прослеживается прямая связь с генетической системой несовместимости покрытосеменных растений.

При самоопылении интенсивность реакций несовместимости между мужским гаметофитом и нуцеллусом недостаточна, чтобы остановить развитие пыльцевых трубок, и самооплодотворение, как правило, имеет место. В раннем эмбриогенезе реализуется инбридинговая депрессия (несовместимость зародыша и эндосперма), которая отличается высокой эффективностью, удаляя из ре-

продуктивного процесса более 90% инбредных генотипов.

Генетическая система несовместимости выполняет ряд важных функций. Во-первых, адаптирует генотипический состав семян к специфике регионального климата, обеспечивая приспособление основных лесов к разным природно-климатическим условиям ареала *Pinus sylvestris* L. и выживание вида в пределах его адаптационных возможностей. Во-вторых, регулирует близкородственные отношения особей в популяциях. В-третьих, осуществляет контроль развития и регулирует отношения между вегетативной и генеративной сферой растений на организменном уровне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Agadzhanyan] Агаджанян А.М. 1992. К вопросу об эволюции самонесовместимости у покрытосеменных: генные мутации. — Бот. журн. 77 (1): 19–32.
- Barnes B.V., Bingham R.T., Squillace A.E. 1962. Selective fertilization in *Pinus monticola* Dougl.: Results of additional tests. — *Silvae Genet.* 11: 103–111.
- [Belostotskaya] Белостоцкая С.Х. 1979. Особенности развития мужского и женского гаметофитов сосны обыкновенной при внутри- и межвидовой гибридизации. — *Лесоведение.* 5: 61–72.
- Bramlett D., Popham T.W. 1971. Model relating unsound seed and embryonic lethal alleles in self-pollinated pines. — *Silvae Genet.* 20: 237–268.
- De Nettancourt D. 1977. Incompatibility in Angiosperms. Berlin. Springer-Verlag. 230 p.
- De Nettancourt D. 2001. Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants. Berlin. Heidelberg. Springer-Verlag. 332 p.
- Dogra P.D. 1967. Seed sterility and disturbances in embryogeny in conifers with particular reference to seed testing and tree breeding in Pinaceae. — *Stud. For. Suec.* 5: 1–97.
- East E.M. 1929. Self-sterility. *Bibliogr. Genet.* 5: 331–368.
- Ferrer M.M., Good S.V. 2012. Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. — *Ann. Bot.* 110 (3): 535–553. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs124>
- Forschell C.P. 1974. The development of cones and seeds in the case of self- and crosspollination in *Pinus sylvestris* L. — *Medd. Stat. Storsk. -inst.* 43: 3–42.
- Franklin E.C. 1970. Survey of mutant forms and inbreeding depression in species of the family of Pinaceae. — *USDA Forest Service Res. Paper.* SE-61: 1–21.
- Franklin-Tong V.E. 2008. Self-incompatibility in flowering plants: evolution, diversity and mechanisms. Berlin. Heidelberg. 313 p.
- Hagman M., Mikkola L. 1963. Observation on cross-, self- and intraspecific pollination in *Pinus peuce* Griseb. — *Silvae Genet.* 12 (3): 73–79.
- Igic B., Lande R., Kohn J. 2008. Loss of self-incompatibility and its evolutionary consequences. — *Int. J. Plant Sci.* 169 (1): 93–104. <https://doi.org/10.1086/523362>
- [Isakov, Semerikov] Исаков Ю.Н., Семериков В.Л. 1997. Связь генотипа по некоторым аллозимным locus-ам и способности к самоопылению у сосны обыкновенной. — *Генетика.* 33 (2): 274–276.
- Johnson L. 1945. Reduced vigor, chlorophyll deficiency and other effects of self-fertilization in *Pinus*. — *Can. J. Res.* 23: 145–149.
- Konar R.N. 1958. A qualitative survey of the aminoacids and sugars in the developing female gametophyte and embryo of *Pinus roxburghii* Sar. — *Phytomorphology.* 8: 168–173.
- [Kordyum] Кордюм Е.Л. 1978. Эволюционная цитозембриология покрытосеменных растений. Киев. 219 с.
- Koski V. 1971. Embryonic lethals of *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. — *Commun. Inst. For. Fenn.* 16: 1–30.
- [Kotelova] Котелова Н.В. 1956. Влияние самоопыления и перекрестного опыления на качество семян и семянцев сосны обыкновенной. — *Науч.-техн. информ. МЛТИ.* 20: 1–74.
- [Kotelova, Khromova] Котелова Н.В., Хромова Л.В. 1974. К вопросу об опылении и росте пыльцевых трубок у двуххвойных сосен при ксеногамии. — *В кн. Физиология, селекция и озеленение городов.* М. 51: 44–50.
- [Kozubov et al.] Козубов Г.М., Тренин В.В., Тихова М.А., Кондратьева В.П. 1982. Репродуктивные структуры голосеменных (Сравнительное описание). Л. 104 с.
- [Kuznetsova] Кузнецова Н.Ф. 1991. Развитие мужского гаметофита сосны обыкновенной при самоопылении и свободном опылении. — *Лесоведение.* 3: 27–33.
- [Kuznetsova] Кузнецова Н.Ф. 1996. Генетическая система несовместимости и ее проявление у сосны обыкновенной. — *Лесоведение.* 5: 27–33.
- [Kuznetsova] Кузнецова Н.Ф. 2009. Влияние климатических условий на проявление признака самофертильности у сосны обыкновенной. — *Экология.* 5: 390–395. <https://doi.org/10.1134/S1067413609050105>
- Kuznetsova N.F. 2012. Self-fertility in Scots pine as a system for regulating close relationships and species survival in an adverse environment. — In: *Advances in Genetics Research.* Vol. 9. New York. P. 83–106.
- [Kuznetsova, Isakov] Кузнецова Н.Ф., Исаков Ю.Н. 1987. Ультраструктурные аспекты физиологической несовместимости у сосны обыкновенной. — *Лесоведение.* 3: 11–16.
- [Kuznetsova, Mashkina] Кузнецова Н.Ф., Машкина О.С. 2011. Реакция на стресс и ее последствие в онтогенезе и при смене поколений. — *Хвойные бореальной зоны.* 28 (1–2): 83–90.
- Lewis D. 1944. Incompatibility in plants. — *Nature (London).* 153 (3889): 575–578.
- [Maletskiy, Denisova] Малецкий С.И., Денисова Э.В. 1974. Перспективы использования инцухт-метода в селекции диплоидных и тетраплоидных форм сахарной свеклы. — В кн. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. М. С. 5–13.
- [Mashkina et al.] Машкина О.С., Кузнецова Н.Ф., Исаков Ю.Н., Буторина А.К. 2009. Самофертильность у сосны обыкновенной как один из механизмов ее устойчивости к химическим мутагенам. — *Экология.* 6: 423–428.
- Mergen F., Burley J., Furnival G.M., Furnival G.M. 1965. Embryo and seedling development in *Picea glauca* (Monch) Voss after self-, cross-, and mind-pollination. — *Silvae Genet.* 14 (6): 188–194.
- Park Y.S., Fowler D.P. 1984. Inbreeding in black spruce (*Picea mariana* (Mill) B.S.P.): self-fertility, genetic load and performance. — *Can. J. For. Res.* 14 (1): 17–21. <https://doi.org/10.1139/x84-003>
- [Poddubnaya-Arnol'di] Поддубная-Арнольди В.А. 1976. Цитозембриология покрытосеменных. Основы и перспективы. М. 508 с.

- [Pozhidaeva, Isakov] Пожидаева И.Н., Исаков Ю.Н. 1989. Цитогенетический анализ деревьев сосны обыкновенной, контрастных по уровню самофертильности – Генетика. XXV (4): 674–682.
- Rea A.C., Nasrallah J.B. 2008. Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. – *Int. J. Dev. Biol.* 52 (5–6): 627–636. <https://doi.org/10.1387/ijdb.072537ar>
- Remington D.L., O'Malley D.M. 2000. Whole-genome characterization of embryonic stage inbreeding depression in a selfed loblolly pine family. – *Genetics*. 155 (1): 337–348. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.1.337>
- Sarvas R. 1962. Investigation of the flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. – *Commun. Inst. For. Fenn.* 53: 1–198.
- Singh H. 1978. Embryology of Gymnosperms. *Encyclopedia of Plant Anatomy*. Vol. XII. Berlin-Stuttgart. 302 p.
- [Surikov] Суриков И.М. 1991. Несовместимость и эмбриональная стерильность растений. М. 220 с.
- [Svintsova] Свинцова В.С. 2002. Характер изменчивости признаков репродуктивной сферы *Pinus sylvestris* L. в условиях среднерусской лесостепи (Воронежская область): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж. 22 с.
- Tury J. 1959. Callose formation in pollen tube and incompatibility. – *Biol. Plantarum*. 1: 192–198.
- [Vishnyakova] Вишнякова М.А. 1989. Структурно-функциональные основы самонесовместимости у цветковых растений. – *Бот. журн.* 74 (2): 137–152.
- Williams C.G., Auckland L.D., Reynolds M.M., Leach K.A. 2003. Overdominant lethals as part of the conifer embryo lethal system. – *Heredity (Edinb)*. 91 (6): 584–582. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800354>
- Williams C.G., Savolainen O. 1996. Inbreeding depression in conifers: implication for breeding strategy. – *For. Sci.* 42: 143–147. <https://doi.org/10.1093/FORREST-SCIENCE%2F42.1.102>
- Zhao H., Zhang Y., Zhang H., Song Y., Zhao F., Zhang Y., Zhu S., Zhang H., Zhou Z., Guo H., Li M., Li J., Gao Q., Han Q., Huang H., Copsey L., Chen H., Coen E., Zhang Y., Xue Y. 2022. Origin, loss and retain of self-incompatibility in angiosperm. – *Plant Cell*. 34 (1): 579–596. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab266>

Response of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) to Inbreeding, and Its Characterization as an Element of Incompatibility System

N. F. Kuznetsova^{a, #}

^a All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology
Lomonosov Str., 105, Voronezh, 393087, Russia

[#]e-mail: nfsenyuk@mail.ru

The results of the study of seed reproduction systems of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) under self-pollination and open-pollination are summarized (2- and 12-year experiment on self-pollination; electron microscopy). It was shown that in optimal years the generative sphere of pine is in equilibrium, with the populations being characterized by a minimum level of self-fertility ($R_{sf} = 0.13–0.14$). The ratio between self-sterile, partly self-fertile and self-fertile forms is $8ss : 4psf : 1sf$, the proportion of inbred progeny is 7–8%. It was found that self-pollination partially reduces cone yield and increases the share of empty seeds. During self-pollination, the incompatibility of the self-sterile forms is ultrastructurally manifested in formation of the isolation zone at the border of pollen tube and nucellus, or of the embryo and endosperm. In early embryogenesis, the isolation zone between embryo and endosperm reaches a diameter of 1–2 cells, indicating the intensity of incompatibility processes. It has been shown that in slightly anomalous (cold or warm) and dry years the level of self-fertility increases in proportion to the strength of weather stress, and the sample structure changes. The share of inbred progeny increases from 1/12 in optimal years to 1/9, 1/5 and 1/3, in cold and warm, moderately dry and severely dry years, respectively. This confirms the participation of inbreeding in the adaptation of the seed gene pool to the habitat. The organization of the genetic incompatibility system in the pine and its changes in the transition from gymnosperms to angiosperms are discussed.

Keywords: Scots pine, generative sphere, self-pollination, open pollination, self-fertility, incompatibility

REFERENCES

- Agadzhanayn A.M. 1992. To a question on evolution of self-incompatibility in Angiosperms: gene mutation. – *Bot. Zhurn.* 77 (1): 19–32 (In Russ.).
- Barnes B.V., Bingham R.T., Squillace A.E. 1962. Selective fertilization in *Pinus monticola* Dougl.: Results of additional tests. – *Silvae Genet.* 11: 103–111.
- Bramlett D., Popham T.W. 1971. Model relating unsound seed and embryonic lethal alleles in self-pollinated pines. – *Silvae Genet.* 20: 237–268.
- Belostotskaya S.N. 1979. Peculiarities of male and female gametophyte development in intra- and interspecific hybridization. – *Russian Forest Sciences*. 5: 61–72 (In Russ.).
- De Nettancourt D. 1977. Incompatibility in Angiosperms. Berlin. Springer-Verlag. 230 p.
- De Nettancourt D. 2001. Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants. Berlin. Heidelberg. Springer-Verlag. 332 p.
- Dogra P.D. 1967. Seed sterility and disturbances in embryogeny in conifers with particular reference to seed testing and tree breeding in Pinaceae. – *Stud. For. Suec.* 5: 1–97.
- East E.M. 1929. Self-sterility. – *Bibliogr. Genet.* 5: 331–368.

- Ferrer M.M., Good S.V. 2012. Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. — *Ann. Bot.* 110 (3): 535–553. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs124>
- Forschell C.P. 1974. The development of cones and seeds in the case of self- and crosspollination in *Pinus sylvestris* L. — *Medd. Stat. Stog. Storskn.-inst.* 43: 3–42.
- Franklin E.C. 1970. Survey of mutant forms and inbreeding depression in species of the family of Pinaceae. — *USDA Forest Service Res. Paper.* SE-61: 1–21.
- Franklin-Tong V.E. 2008. Self-incompatibility in flowering plants: evolution, diversity and mechanisms. Berlin. Heidelberg. 313 p.
- Hagman M., Mikkola L. 1963. Observation on cross-, self- and intraspecific pollination in *Pinus peuce* Griseb. — *Silvae Genet.* 12 (3): 73–79.
- Isakov Yu.N., Semerikov V.L. 1997. Relationship of genotype for some allozyme loci and ability for self-pollination in Scots pine (*Pinus sylvestris*). — *Russian Journal of Genetics.* 33 (2): 213–215 (In Russ and Engl.).
- Johnson L. 1945. Reduced vigor, chlorophyll deficiency and other effects of self-fertilization in *Pinus*. — *Can. J. Res.* 23: 145–149.
- Konar R.N. 1962. A qualitative survey of the aminoacids and sugars in the developing female gametophyte and embryo of *Pinus roxburghii* Sar. — *Phytomorphology.* 8: 168–173.
- Kordyum E.L. 1978. Evolutionary cytoembryology of angiosperms. Kiev. 220 p. (In Russ.).
- Koski V. 1973. Embryonic lethals of *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. — *Commun. Inst. For. Fenn.* 16: 1–30.
- Kotelova N.V. 1956. Influence of self-pollination and cross-pollination on the quality of seeds and seedlings of Scots pine. — *Scientific and technical information.* Moscow. Vol. 20. P. 1–74 (In Russ.).
- Kotelova N.V., Khromova L.V. 1974. K voprosu ob opylenii i roste pyl'tsevykh trubok u dvukhkhvoynykh sosen pri ksenogamii [To the question about the pollination and pollen the growth in the two-needles pines at the xenogamy]. — In: *Physiology, breeding and gardening of cities.* Moscow. Vol. 51. P. 44–50 (In Russ.).
- Kozubov G.M., Trenin V.V., Tikhova M.A., Kondratieva V.P. 1982. Reproductive structures of gymnosperms (Comparative description). Leningrad. 104 p. (In Russ.).
- Kuznetsova N.F., Isakov Yu.N. 1987. Ultrastructural aspects of physiological incompatibility in Scots pine. — *Russian Forest Sciences.* 3: 11–16 (In Russ.).
- Kuznetsova N.F. 1991. Development of the male gametophyte of Scots pine in self-pollination and open pollination. — *Russian Forest Sciences.* 3: 27–33 (In Russ.).
- Kuznetsova N.F. 1996. Genetic system of incompatibility and its display in Scots pine. — *Russian Forest Sciences.* 5: 27–33. (In Russ.).
- Kuznetsovs N.F. 2009. Effect of climatic conditions the expression of self-fertility in Scots pine. — *Russian Journal of Ecology.* 5: 390–395 (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S1067413609050105>
- Kuznetsova N.F., Mashkina O.S. 2011. Stress response and its aftereffects in Scots pine in ontogenesis and during the change of generations. — *Conifers of the Boreal Area.* XXVIII (1–2): 83–90 (In Russ.).
- Kuznetsova N.F. 2012. Self-fertility in Scots pine as a system for regulating close relationships and species survival in an adverse environment. — In: *Advances in Genetics Research.* Vol. 9. New York. P. 83–106.
- Lewis D. 1944. Incompatibility in plants. — *Nature (London).* 153 (3889): 575–578.
- Maletsky S.I., Denisova E.V. 1974. Perspektivy ispol'zovaniya intsuht-metoda v selektsii diploidnykh i tetraploidnykh form sakharnoy svekly [Perspectives of use of incucht-method in selection of diploid and tetraploid forms of sugar beet]. — In: *Theoretical and Practical Problems of Polyploidy.* Moscow. P. 5–13 (In Russ.).
- Mashkina O.S., Kuznetsova N.F., Isakov Y.N., Butorina A.K. 2009. Self-fertility in Scots pine as a mechanism of resistance to chemical mutagens. — *Russian Journal of Ecology.* 40 (6): 399–404 (In Russ. and Engl.). <https://doi.org/10.1134/S1067413609060046>
- Mergen F., Burley J., Furnival G.M., Furnival G.M. 1965. Embryo and seedling development in *Picea glauca* (Monch) Voss after self-, cross-, and mind-pollination. — *Silvae Genet.* 14 (6): 188–194.
- Park Y.S., Fowler D.P. 1984. Inbreeding in black spruce (*Picea mariana* (Mill) B.S.P.): self-fertility, genetic load and performance. — *Can. J. For. Res.* 14 (1): 17–21. <https://doi.org/10.1139/x84-003>
- Poddubnaya-Arnoldi V.A. 1976. Cytoembryology of angiosperms. Foundation and Perspectives. Moscow. 508 p. (In Russ.).
- Pozhidaeva I.M., Isakov Yu.N. 1989. Cytogenetic analysis of common pine trees contrasting in self-fertility. — *Russian Journal of Genetics.* 25 (4): 674–682 (In Russ.).
- Rea A.C., Nasrallah J.B. 2008. Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. — *Int. J. Dev. Biol.* 52 (5–6): 627–636. <https://doi.org/10.1387/ijdb.072537ar>
- Remington D.L., O'Malley D.M. 2000. Whole-genome characterization of embryonic stage inbreeding depression in a selfed loblolly pine family. — *Genetics.* 155 (1): 337–348. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.1.337>
- Sarvas R. 1962. Investigation of the flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. — *Commun. Inst. For. Fenn.* 53: 1–198.
- Singh H. 1978. Embryology of Gymnosperms. *Encyclopedia of Plant Anatomy.* Vol. XII. Berlin-Stuttgart. 302 p.
- Svintsova V.S. 2002. Character of variability of reproductive traits of *Pinus sylvestris* L. in conditions of Central Russian forest-steppe (Voronezh region): PhD Thesis. Voronezh. 22 p. (In Russ.).
- Surikov I.M. 1991. Incompatibility and embryonal sterility of plants. Moscow. 220 p. (In Russ.).
- Tupy J. 1959. Callose formation in pollen tube and incompatibility. — *Biol. Plantarum.* 1: 192–198.
- Vishnyakova M.A. 1989. Structural and functional bases of self-incompatibility in flowering plants. — *Bot. Zhurn.* 74 (1): 137–152 (In Russ.).
- Williams C.G., Savolainen O. 1996. Inbreeding depression in conifers: implication for breeding strategy. — *For. Sci.* 42: 143–147. <https://doi.org/10.1093/FORREST-SCIENCE%2F42.1.102>
- Williams C.G., Auckland L.D., Reynolds M.M., Leach K.A. 2003. Overdominant lethals as part of the conifer embryo lethal system. — *Heredity (Edinb).* 91 (6): 584–582. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800354>
- Zhao H., Zhang Y., Zhang H., Song Y., Zhao F., Zhang Y., Zhu S., Zhang H., Zhou Z., Guo H., Li M., Li J., Gao Q., Han Q., Huang H., Copey L., Chen H., Coen E., Zhang Y., Xue Y. 2022. Origin, loss and retain of self-incompatibility in angiosperm. — *Plant Cell.* 34 (1): 579–596. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab266>