

# ДИСКУСІЇ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

УДК 581.557:633.31:631.461.5

О.А. Пазюк  
к. б. н.

Державний агроекологічний університет

## ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ СИМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ У БОБОВИХ РОСЛИН

У висвітлено сучасні уявлення про симбіотичну азотфіксацію та генетичний контроль найважливіших ознак симбіотичної активності та ефективності.

Симбіотична фіксація молекулярного азоту атмосфери бульбочковими бактеріями роду *Rhizobium spp.* в симбіозі із рослинами родини бобових (*Fabaceae*) – унікальне біологічне явище живої природи планетарного значення і є однією з фундаментальних проблем теоретичної біології [53]. Симбіотична азотфіксація є надзвичайно актуальною проблемою і для сільськогосподарської біології та практики.

Симбіоз розглядається як найвищий ступінь процесу взаємодії мікроорганізмів і вищих рослин [89]. Здатність до симбіотичної азотфіксації виявлена більш ніж у 90 % вивчених у даному відношенні видів бобових [64]. Явище симбіозу можна досліджувати при одночасному застосуванні методів і досягнень генетики, біохімії, фізіології, морфології і екології мікроорганізмів та рослин.

Симбіотична азотфіксація забезпечує рослини екологічно чистим азотом і не викликає негативних екологічних наслідків. Роль біологічного азоту для росту сільськогосподарських культур постійно і різко зростає, тому що не всі країни у змозі повністю задовільнити свої потреби у зв'язаному азоті для отримання оптимального врожаю [18]. Особливу роль у біологічній фіксації азоту відіграють бактерії роду *Rhizobium*. Тому дослідження, які торкаються можливості контролю симбіозу між фіто- і мікробосимбіонтами, мають величезне значення для забезпечення харчовою продукцією населення з недостатнім рівнем виробництва мінерального азоту [104].

Еволюційне рішення проблеми забезпечення рослин азотом – біологічна фіксація атмосферного азоту [18]. Коефіцієнт використання біологічно-зв'язаного азоту в бобово-ризобіальних системах наближується до 100 %, що є прикладом безвідходної технології. Тому вирішувати проблему забезпеченості азотом рослин доцільно за рахунок симбіотичної азотфіксації. Так, в нестерильному монокультурному досліді на ґрунті інокуляція рослин вики волохатої – *Vicia villosa* Roth. штамами ризобій призводила до забезпечення більш високої прибавки сухої маси, ніж внесення повної норми “зв'язаного” азоту [21].

Бобові рослини завдяки симбіозу можуть отримувати з атмосфери значну частину азоту, інколи 50–80 % [25, 61]. При внесенні під посіви бобових препарату бульбочкових бактерій – ризоторфіну, кількість азоту, засвоєного щорічно на одному гектарі, досягає 400–500 кг [41]. За рахунок симбіозу можливо кожний рік залишати й накопичувати у ґрунті від 10 до 300–400 кг зв'язаного  $N_2$  на 1 га за рік [4, 12, 16, 35]. На протязі 3–5 років після посіву бобових культур 10–20 % азоту їх залишків ще використовується рослинами [18, 32, 38].

Збільшення урожаю зеленої маси бобових культур від бактеризації їхніми бульбочковими бактеріями складає 10–35 % [18, 41, 38]. Збір білку у люцерни посівної – *Medicago sativa* L. зростає на 20–50 % [4, 35, 38]. Показана висока ефективність нітрогенізації бобових рослин у географічній сітці дослідів [8]. Біомаса збільшується на 15–35 % [4, 16, 35, 38]. Збільшується врожай абсолютної сухої маси в польових дослідях. При інокуляції ризобіями абсолютна суха маса у *Trifolium spp.* збільшувалась на 10 %, у *M. sativa* L. на 25,2 %. При інокуляції дражованого насіння маса збільшувалась відповідно на 21,8–25,3 % і 33,1–41,0 %, при інокуляції насіння ризоторфіном – на 27,6 % і 30,9 % [1].

У простих і модельних мікровегетаційних стерильних і вегетаційних дослідях інокуляція бобових рослин високоактивними штамами, як правило, призводить до формування

нормального симбіотичного апарату у бобів – *Faba bona* Medik. [33], нормальних рожевих бульбочок *R. meliloti*, які фіксують азот [15]. Суттєво і достовірно підвищується ріст люпину жовтого – *Lupinus luteus* L. [5], висота рослин *F. bona* Medik. [33] і сої культурної – *Glycine max* (L.) Merr. [21], урожайність сухої і зеленої маси пагонів *M. sativa* L. [32, 15, 6], *F. bona* Medik. [33], *G. max* (L.) Merr. [50], *Lupinus luteus* L. [9], *Vicia villosa* Roth. [20] і *V. sativa* L. [22], *Medicago spp.* та інших видів бобових культур [34, 37, 39, 55, 60]. Збільшується кількість гілок у *G. max* (L.) Merr. [50], площа листків у *F. bona* Medik. [33], зростає вміст у біомасі азоту на 15–20 % у *Lupinus luteus* L. [9] і білку у *Vicia villosa* Roth. [20] та *G. max* (L.) Merr. [26]. Підвищується якість маси у *Vicia villosa* Roth. і *V. sativa* L. [22] та *G. max* (L.) Merr. [26]. Збільшується урожай насіння у *G. max* (L.) Merr. [25, 7], *F. bona* Medik. [33], *Lupinus luteus* L. [5], кількість бобів і насіння на рослину *G. max* (L.) Merr. [50, 26], вміст у них протеїну [25]. Від бактеризації рослин зростає маса коренів *F. bona* Medik. [33].

Інокуляція переважної кількості видів і сортів рослин високоефективними штамми дає позитивний ефект, як у *Glycine max* (L.) Merr. [17], *Medicago sativa* L. [47, 48, 58, 79, 86]. Інокуляція позитивно впливає на кількість бульбочок, яка зростає на 13 % у *Faba bona* Medik. [18], *Trifolium spp.* [23]. Зростає нітрогеназна активність у *Lupinus luteus* L. [5, 19, 31], *Glycine max* (L.) Merr. [30] та інших культур [34]. Посилюються процеси фотосинтезу у *Lupinus luteus* L. [19], сильно змінюються біохімічні показники у *M. sativa* L. [42]. При цьому заощаджуються азотні добрива [25].

Біологічний азот сприяє підвищенню родючості ґрунту, забезпечує пролонгуючу дію. Бобові культури з великим біологічним потенціалом являють собою потужний засіб відновлення родючості зрощуваних ґрунтів і створення позитивного балансу речовин у ґрунті [34, 54].

Біологічний азот є екологічно чистим. В минулому землеробство в основному базувалося на використанні сортів інтенсивного типу, вирощування яких вимагало високих доз мінеральних добрив, що засвоювалися рослиною лише на 30–40 %, та хімічних засобів захисту рослин. В таких умовах одержання екологічно чистої продукції було пов'язане із значними енергетичними затратами, призводило до забруднення навколишнього середовища, вимивання добрив і забруднення водойм [18]. Збільшення врожайності бобових під впливом азотних мінеральних добрив окупалося ціною зниження потенційної родючості ґрунту і погіршення екологічного становища [53, 54].

Альтернативою мінеральному азоту є використання зеленої маси бобових рослин у якості екологічно чистих добрив. При заробці у ґрунт бобових культур у якості зеленого добрива збільшується загальний вміст гумусу і фульвокислот, гуміну, ґрунт збагачується азотом із високим ступенем алифатичності, збільшується вміст рухомих форм азоту – аміачного і нітратного [14].

Актуальною проблемою є використання відтворюваних ресурсів біологічних угруповань. Формування таких угруповань значною мірою засновано на взаємодії рослин з мікроорганізмами ґрунту. Основою адаптивного або біологічного землеробства є максимальне використання можливостей ризобіо-рослинної взаємодії. Реалізація потенціалу взаємовигідної взаємодії рослин і мікроорганізмів потребує, з одного боку, з'ясування генетичного контролю, молекулярно-біологічних і еколого-фізіологічних механізмів цієї взаємодії. З іншого боку, необхідні розробки конкретних селекційних програм, які будуть спрямовані на створення висококомплементарних комбінацій макро- і мікросимбіонтів, придатних забезпечувати високий вихід повноцінної і екологічно чистої рослинної біомаси. Експериментальний підхід до вивчення даних систем потребує наявності адекватних моделей, в яких результат мікроборослинної взаємодії може бути достатньо точно виміряний. Модель необхідно розкласти на складові елементи, що можуть бути з'єднані після їх вивчення і модифікації у попередніх або нових комбінаціях. Унікальною модельною системою для цього є симбіоз бобових рослин із ризобіями [53].

Доведена висока ефективність нітрогеназації бобових культур, зокрема і *Medicago spp.* [4, 1]. Маса контролю (небактеризованих) та інокульованих рослин, як правило, достовірно

відрізняється [37]. Виявлена висока негативна кореляція між масою неінокульованих рослин *Medicago spp.*, у буркуна білого – *Melilotus albus* Medik. і величиною її прибавки за рахунок симбіотичної азотфіксації [38].

Люцерна посівна або синя (*Medicago sativa* L.) відноситься до триби конюшинових – *Trifoliaceae* Wronn., до групи перехресної інокуляції [41] і являє собою полісомний поліплоїд із тетрасомним ( $2n=32$ ) успадкуванням [56, 57]. Серед багаторічних бобових трав *M. sativa* L. має великі потенційні можливості у різних зонах України і є культурою універсального значення [32, 10, 46].

*Medicago sativa* L., на відміну від інших бобових, дає прибавки урожаю навіть у перший рік використання при внесенні N і NPK [54]. Дикі форми *Medicago spp.* суттєво перевищують культурні сорти за азотфіксувальною ( $C_2H_2$ -редуктазною) активністю і симбіотичною ефективністю [43]. Серед багаторічних бобових трав'яних культур *M. sativa* L. характеризується найбільшою азотфіксувальною здатністю [35, 54], внеском азоту в азотний фонд ґрунту і забезпеченням підвищеної врожайності наступних культур, заміною внесення азоту дозою більше, ніж 90 кг/га [54]. Одним з основних факторів, який обумовлює високу врожайність і кормову цінність люцерни, є здатність цієї бобової культури до симбіозу з бульбочковими бактеріями–ризобіями–*Rhizobium meliloti* [4]. У *Medicago sativa* L. автотрофне (мінеральне) живлення азотом переважає над симбіотрофним [44]. Перевага автотрофного живлення азотом над симбіотрофним призводить до того, що внесення азотних добрив забезпечує більшу врожайність, ніж інокуляція найбільш активними штамми ризобій [43]. Але мінливість бобових, зокрема *Medicago spp.* дозволяє вести селекцію на збільшення активності асиміляції зв'язаного азоту і “переключення” на переважно симбіотичне азотне живлення, яке суттєво прискорює розвиток рослин. *M. sativa* L. є перспективним видом у селекції на підвищення інтенсивності симбіотичної азотфіксації [44]. Особливо великий врожай *M. sativa* L. одержується при нітрогенізації насіння активними штамми, а не при спонтанній інокуляції, яка забезпечує малу прибавку врожаю [54]. Інокуляція ефективними штамми (обробка ризоторфіном) у сприятливих умовах симбіозу суттєво підвищує активність фіксації молекулярного азоту [4, 16, 35].

Суттєва відмінність явищ симбіозу від паразитизму полягає в тому, що впровадження у тканини господаря створює ряд переваг у розвитку господаря. Очікувалося, що реакція чутливості до симбіотичних мікроорганізмів буде успадковуватися домінантно. Дійсно, із часом виявилось, що сприйняття рослинами патогенів контролюється рецесивними генами [63]. Стійкість (нечутливість) різних видів бобових рослин до бульбочкових бактерій носить рецесивний характер [13] і контролюється рецесивними генами в гомозиготному стані [63, 93], зокрема у *Medicago sativa* L. [100]. Знайдено гени стійкості до зараження бульбочковими бактеріями у *Pisum sativum* L. [81, 83]. У нута звичайного – *Cicer arietinum* L. порушення бульбочкоутворення контролюється неалельними генами і ці гени пов'язані із кількома фізіологічними й морфологічними ознаками [68]. Гени, які гальмують симбіоз і викликають поп-нодуляцію [13] або симбіоз *M. sativa* L., коли бульбочки утворюються спонтанно – при відсутності *R. meliloti*, являються рецесивними [78].

До теперішнього часу виявлено і на достатньому рівні вивчено молекулярні і генетичні фактори – гени, які детермінують здатність бобових рослин вступати в симбіоз [93] у гуньби сінної – *Trigonella foenum graecum* L. [36], *Medicago sativa* L. [72], лядвенцю польового – *Lotus corniculatus* L. [74], *Pisum sativum* L. [82], *Trifolium spp.* [98]. Виявлено гени формування бульбочок у бобових [59, 85]. Вивчено окремі етапи формування симбіозу у кількох видів [85], у *Pisum sativum* L. [80]. Встановлено характер симбіотичних відносин між партнерами [85], як у *Melilotus albus* Medik. [51] та інших рослин [62]. Показано, що ознаки симбіозу, від інфікування, регуляції і інтенсивності експресії генів до кінцевої продуктивності азотфіксації мають складний генетичний характер [85], як у *Pisum sativum* L. [69] і контролюються якісно, як у *P. sativum* L. [84], арахісу підземного – *Arachis hypogaeas* L. [90], конюшини лучної – *Trifolium pratense* L. [92], *M. sativa* L. [97], *Glycine max* (L.) Merr. [105, 106]. Кількісно, тобто не одним геном, а групою генів контролюється симбіоз у *M. sativa* L. [72], *Pisum sativum* L.

[69]. Симбіоз детермінується полігенно [63], як у *P. sativum* L. [81], *Trigonella foenum graecum* L. [36], *Trifolium pratense* L. [92], *M. sativa* L. [40] та інших [84]. Отже, регуляція експресії генів симбіозу, їх активність і функціонування бульбочки носить складний спадковий характер [53], як у *Glycine max* L. [87] та інших культур [91] і контролюється великою кількістю генів обох симбіопартнерів [59].

Мутації з альтернативними симбіотичними фенотипами описані у деяких симбіозах на фізіологічному, морфологічному і біохімічному рівнях [77]. З боку рослини симбіоз контролюється генами, їх комбінаціями, алельним станом, рівнем гетерозиготності, і ці генні ефекти звичайно проявляються на популяційному рівні, як у *M. sativa* L. [52]. Існують приклади, коли в популяціях бобових велика частка особин, не здатних вступати в симбіотичні відносини через відсутність необхідних алелей генів для нормальної взаємодії з ризобіями, як у *M. sativa* L., *Trifolium pratense* L., *Trigonella foenum graecum* L. [99].

За азотфіксувальною активністю судять про активність ризобій і можливості ефективного симбіозу [3]. Результати багатьох досліджень свідчать про спадковий характер азотфіксувальної активності у *Trigonella foenum graecum* L. [36], *Pisum sativum* L. [24, 49], детермінацію її рослинами [61], *M. sativa* L. [72], *P. sativum* L. [24] та інших [27, 29, 75]. Інтенсивність азотфіксації передається потомству у *M. sativa* L. [52, 65], конюшини багряної – *Trifolium incarnatum* L. [102]. Було виявлено гени фіксації азоту у *Pisum sativum* L. [84] та деякі елементи успадкування азотфіксації у *M. sativa* L. [100] і *Trifolium incarnatum* L. [102, 101]. Генетичний аналіз потомства від багатьох схрещувань рослин із різним рівнем азотфіксації виявив, що гени, які контролюють розвиток цієї ознаки, являються домінантними [61], як у *P. sativum* L. [81, 84], *Glycine max* L. [105, 106], [70], *Trifolium pratense* L. і конюшини підземної – *T. subterraneum* L. [94]. У самоzapильників ці гени здебільшого перебувають у гомозиготному стані, як у *P. sativum* L. [24]. Домінантність генів ацетиленредуктазної активності повинна полегшити селекцію за цією ознакою [61]. Визначені деякі елементи характеру успадкування рівня азотфіксації у *Medicago sativa* L. [100, 72], *Trifolium incarnatum* L. [102, 101]. При схрещуванні всередині групи з високою азотфіксувальною здатністю у  $F_1$  *M. sativa* L. проявлявся високий гетерозис і у наступних поколіннях високий рівень успадкування [52].

У деяких видів *Medicago spp.* [38], *Pisum sativum* L. [81, 84] *Glycine max* L. [105, 106], інших видів [70] та *Trifolium pratense* L. і *T. subterraneum* L. [94] більшість генів, або всі гени, які визначають високий рівень нітрогеназної активності, в симбіозі із *Rhizobium* рецесивні. Показано також, що гени контролю азотфіксації у *Pisum sativum* L. [81, 84] і *Trifolium pratense* L. і *T. subterraneum* L. [94] та інших [70] можуть бути напівдомінантними.

Кількість бульбочок є одним із найважливіших показників симбіотичної азотфіксації. Ознаки відсутності або присутності бульбочок, їх кількість, маса і місце розташування на коренях послужили критерієм у ряді генетичних і селекційних праць по азотфіксації у *Glycine max* (L.) Merr. [28]. Показники вірулентності відселектованих штамів прийнято оцінювати за кількістю і масою бульбочок у середньому на одну рослину *Glycine max* (L.) Merr. [2]. З часом виявили спадковий характер бульбочкоутворення [13]. Успадковується здатність інфікуватися у *Centosema pubescens* Benth. [67], період утворення бульбочок в онтогенезі рослини *Vicia faba* L. [73], кількість бульбочок – інтенсивність нодуляції у різних бобових [29], конюшини повзучої – *Trifolium repens* L. [88], об'єм бактероїдної тканини на одну рослину у *Vicia faba* L. [73]. Показано, що характер успадкування бульбочкоутворення залежить від штаму *Rhizobium* у *Glycine max* (L.) Merr. [71] і генетичних факторів рослини [27]. Ідентифіковано ряд генів, які контролюють здатність до бульбочкоутворення у *Glycine max* (L.) Merr., *Pisum sativum* L. [85, 70], процеси нодуляції у *Vicia faba* L. [73]. Нодуляція може успадковуватися полігенно, як у *M. sativa* L., люцерни жовтої – *M. falcata* L., *Trifolium spp.* [82, 40], або якісно і кількісно, як у *Trifolium spp.* [29]. У багатьох бобових культур здатність формувати бульбочки в симбіозі виявилася домінантною ознакою, як у *M. sativa* L. і *M. falcata* L. [63, 13], *Glycine max* (L.) Merr. [105, 106], *Trifolium pratense* L. і *T. subterraneum* L. [94] та інших [70].

Як відомо, бобові можуть селективно інокулюватися одним із штамів ризобій. Деяко відомо про взаємовідносини між генетичним поліморфізмом ризобіальних популяцій і

вибірковістю в нодуляції генотипами рослин-господарів. Аналіз 500 штамів *R. meliloti* і трьох різних сортів *Medicago sativa* L. показав високу мінливість у популяціях серед штамів, які нодулюють різні сорти *M. sativa* L. Ці дані використовують у Nod-генному аналізі [96]. Ряд ліній *Glycine max* (L.) Merr. здатні вибірково заражатися активними штамми, і ця властивість рослин контролюється одним домінантним геном [103]. У *Pisum sativum* L. [66] гени максимальної кількості бульбочок на коренях знаходяться у гомозиготному рецесивному стані, а рослини з мінімальним числом бульбочок – домінантні гомозиготи [29]. У рослин *Arachis hypogaea* L. утворення бульбочок контролюється двома дублікатними рецесивними генами [90].

Були ідентифіковані “великі” і “малі” гени господаря, які контролюють утворення бульбочок. Саме “крупні” гени часто специфічно взаємодіють із бактеріальними факторами штаму. Деякі із цих генів рослин впливають тільки на симбіотичні функції, інші – на різні аспекти фізіології і росту рослини-господаря [11].

У бобових сформувалася система авторегуляції бульбочкоутворення, яка регулюється надземною частиною і дозволяє контролювати нодуляцію в залежності від забезпеченості рослин “зв’язаним” азотом [45]. Механізм контролю кількості бульбочок – авторегуляція бульбочкоутворення, та їх розмірів, впливає на кількість фіксованого азоту в багатьох бобових [29] і *Glycine max* (L.) Merr. [76]. Інколи у *Glycine max* (L.) Merr. виникають мутації, які порушують авторегуляцію бульбочкоутворення. Це призводить до формування надлишкового числа бульбочок, що обумовлює зниження маси рослин через перевитрати енергії, до нездатності пригнічувати бульбочкоутворення у присутності нітратів [95].

На першому етапі досліджень необхідно визначити число генів бобових рослин, які “вмикають” симбіоз із бульбочковими бактеріями і визначити їх “специфічні” продукти в бульбочках [11]. Гени, які контролюють утворення бульбочок, можуть бути виявлені формально-генетичними методами: виділення з природних популяцій або отримання шляхом експериментального мутагенезу форм рослин із порушенням різних стадій формування симбіозу та їх наступний генетичний аналіз [53].

### Література

1. Амбразайтене Д.Ю. Пути повышения эффективности инокуляции клубеньковыми бактериями многолетних бобовых трав // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 4.
2. Антипчук А.Ф., Садовников Ю.С., Скочинская Н.Н. Испытание клубеньковых бактерий сои в вегетационном опыте и использование некоторых математических методов для оценки значимости полученных результатов // Микробиол. журн. – 1986. – Т. 48, № 1. – С. 25–30.
3. Антипчук А.Ф., Канцелярук Р.М., Рангелова В.Ф., Садовников Ю.С. Связь между симбиотической азотфиксацией и урожаем бобовых растений // Микробиология. – 1989. – Т. 58, № 4. – С. 649–652.
4. Берестецкий О.А., Доросинский Л.М., Кожемяков А.П. Эффективность препаратов клубеньковых бактерий в Географической сети опытов // Изв. АН СССР. Сер. Биол. – 1987. – № 5. – С. 670–679.
5. Бутницький І.М., Старченков Ю.П., Векірчик К.М. та ін. Вплив передпосівної інокуляції насіння бульбочковими бактеріями та різного рівня азотного живлення на азотфіксуючу активність, ріст і урожай люпину жовтого // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 13.
6. Васюк Л.Ю. Видовая и сортовая специфичность люцерны по отношению к штаммам *Rhizobium meliloti* // Тр. ВНИИСХМ. – 1978. – Т. 47. – С. 52–62.
7. Даценко В.К., Мар’юшкін В.Ф., Курочкіна Л.Л. Первинний скринінг зразків із світової колекції сої за елементами структури врожаю // Биол. фиксация молекуляр.

- азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 20.
8. Доросинский Л.М. Эффективность нитрагина в Географической сети опытов // Бюл. ВНИИСХМ. – 1978. – Т. 19, № 2. – С. 3–8.
  9. Дубовенко Е.К., Чечельницкая Л.Н., Дяк Ю.П., Крикунец В.М. Сочетание некоторых сортов люпина желтого и штаммов *Bradyrhizobium sp. (Lupinus)* в симбиозе и его эффективность // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 22.
  10. Жаринов В.И., Клюй В.С. Люцерна. – Киев: Урожай, 1983. – 240 с.
  11. Жизневская Г.Я. Взаимодействие бобового растения и клубеньковых бактерий // Прикл. биохимия и микробиология. – 1983. – Т. 19, № 3. – С. 314–329.
  12. Иванов А.И. Люцерна. – М.: Агропромиздат, 1980. – 321 с.
  13. Имиенецкий А.А., Парийская А.Н. Изменчивость и селекция клубеньковых бактерий // Вестник АН СССР. – 1972. – № 3. – С. 53–60.
  14. Иутинская Г.А., Иванова Н.И. Экологические аспекты использования бобовых культур в качестве сидератов // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 30.
  15. Ерко В.Н., Старченков Е.П. Комплементация лейциновой ауксотрофности *Rhizobium meliloti* банком генов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39 // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 3. – С. 264–268.
  16. Канивец Н.А., Письменный А.Г., Швец Д.Г. Эффективность применения ризоторфина под горох в зоне Лесостепи УССР // Использование достижений микробиологической науки в повышении эффективности земледелия. – Киев: ВАСХНИЛ, 1989. – С. 62–66.
  17. Каппушев А.У., Кожемяков А.П., Панков И.С., Зуева Л.Д. Эффективность нитрогенизации семян ссн в Ставропольском крае // Бюл. ВНИИСХМ. – 1988. – № 48. – С. 10–13.
  18. Кордюм В.А. Биологическая азотфиксация. Проблемы и перспективы // Молекуляр. биология. – 1982. – Вып. 30. – С. 45–57.
  19. Крикунец В.М., Ромашко Я.Д., Маховская М.А. Влияние активности штамма клубеньковых бактерий на интенсивность дыхания и фотосинтеза люпина желтого // Материалы IV Всесоюз. Бах. коллоквиума. – Черноголовка, 1973. – С. 108–112.
  20. Курчак О.Н., Проворов Н.А., Лисова Н.Е., Ситаров Б.В. Симбиотические свойства штаммов *Rhizobium leguminosarum*, выделенных из клубеньков вики мохнатой (*Vicia villosa*) // Бюл. ВНИИСХМ. – 1990. – № 53. – С. 18–21.
  21. Курчак О.Н., Проворов Н.А. Отзывчивость вики мохнатой (*Vicia villosa* Roth.) и посевной (*V. sativa* L.) на инокуляцию ризобиями и на внесение карбамида // Физиология растений. – 1995. – Т. 42, № 3. – С. 484–490.
  22. Курчак О.Н., Проворов Н.А., Лисова Н.Е. и др. Отзывчивость видов и сортов вики на инокуляцию высокоэффективными штаммами *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* // Физиология и биохимия культ. растений. – 1995. – Т. 27, № 5–6. – С. 351–359.
  23. Латинская Э.Б. Об эффективности перекрестной инокуляции клевера различными штаммами клубеньковых бактерий // Микробиология. – 1975. – Т. 44, вып. 4. – С. 695–699.
  24. Макашева Р.Х., Алисова С.М., Алексеева Е.Г. и др. Оценка симбиотических свойств гороха // Сб. науч. тр. по прикл. бот., ген. и сел. ВНИИ растениеводства. – 1985. – Т. 91. – С. 7–14.

25. Марьюшкин В.Ф., Даценко В.К., Курочкина Л.Л. и др. Изменчивость симбиотической азотфиксации у различных генотипов сои // Физиология и биохимия культ. растений. – 1990. – Т. 22, № 2. – С. 132–136.
26. Марьюшкин В.Ф., Даценко В.К., Старченков Е.П. и др. Эффективность различных симбиотических систем сои и ризобий // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 3. – С. 257–264.
27. Мильто Н.И. Клубеньковые бактерии и продуктивность бобовых растений. – Минск: Наука и техника, 1982. – 296 с.
28. Михайлов В.Г., Дубовенко Е.К., Чечельницкая Л.Н. Эффективность отбора на повышение азотфиксирующей способности у сои // Селекция и семеноводство. Респ. межвед. темат. сб. – 1988. – Вып. 65. – С. 63–68.
29. Натман П.С. Генетика взаимодействия бобовых растений и клубеньковых бактерий // С.-х. биология. – 1970. – Т. 5, № 3. – С. 462–469.
30. Нгуен Тхи Чи, Андреева Т.Ф., Строгонова Л.Е. и др. Фотосинтез и фиксация атмосферного азота растениями сои // Физиология растений – 1983. – 30, вып. 4. – С. 674–681.
31. Нгуен Тхи Чи, Андреева Т.Ф., Строгонова Л.Е. и др. Взаимосвязь фотосинтеза с азотфиксацией у растений люпина // Физиология растений. – 1983. – 30, вып. 5. – С. 925–930.
32. Ничик М.М., Петерсон Н.В., Коць С.Я. и др. Связанные и свободные аминокислоты листьев люцерны при инокуляции новыми штаммами клубеньковых бактерий // Физиология и биохимия культ. растений. – 1991. – Т. 23, № 5. – С. 439–445.
33. Онщук Д.Н., Петерсон Н.В. Влияние инокуляции на некоторые физиологические показатели и продуктивность кормовых бобов // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 56.
34. Патька В.Ф. Роль азотфиксирующих микроорганизмов в повышении продуктивности сельскохозяйственных растений на орошаемых землях // Биол. фиксация молекуляр. азота и азот. метаболизм боб. раст.: Тез. докл. респ. конф. (Тернополь, окт., 1991 г.): – К., 1991. – С. 59.
35. Петерсон Н.В., Ничик М.М., Коць С.Я. Влияние минерального азота на эффективность симбиоза клубеньковых бактерий с люцерной // Микробиол. журн. – 1991. – Т. 53, № 1. – С. 16–22.
36. Проворов Н.А., Симаров Б.В. Наследование способности к симбиозу с *Rhizobium meliloti* в автофертильном потомстве пажитника греческого (*Trigonella foenum graecum* L.) // С.-х. биология. – 1985. – № 11. – С. 60–61.
37. Проворов Н.А., Симаров Б.В. Внутрисортная изменчивость люцерны по активности симбиоза с *Rhizobium meliloti* // С.-х. биология. – 1986. – № 12. – С. 37–41.
38. Проворов Н.А., Симаров Б.В., Зарецкая А.Н. и др. Изменчивость культурных видов люцерны по способности к симбиотической азотфиксации // С.-х. биология. – 1987. – № 6. – С. 29–32.
39. Проворов Н.А., Федоров С.Н., Симаров Б.В. Зависимость симбиотической активности *Rhizobium meliloti* от метеорологических факторов // Тр. ВНИИСХМ. – 1989. – Т. 59, № 45. – С. 52–56.
40. Проворов Н.А., Симаров Б.В., Сметанин Н.И., Квасова Э.В. Селекция люцерны на повышение эффективности симбиоза с клубеньковыми бактериями (методические рекомендации) / Под ред. Шумного В. К. – М.: ВАСХНИЛ, 1990. – 50 с.
41. Проворов Н.А. Взаимосвязь между таксономией бобовых и специфичностью их взаимодействия с клубеньковыми бактериями // Бот. журн. – 1992. – Т. 77, № 8. – С. 21–32.



42. Проворов Н.А., Курносоев М.М., Грушин А.А., Ситаров Б.В. Действие инокуляции *Rhizobium meliloti* на урожайность и биохимические показатели люцерны // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 3. – С. 281–288.
43. Проворов Н.А. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты // Физиология растений. – 1996. – Т. 43, № 1. – С. 127–135.
44. Проворов Н.А. Перспективы использования популяций некоторых видов сем. *Fabaceae* в селекции на повышение интенсивности симбиотической азотфиксации // Растительные ресурсы. – 1996. – Т. 32. – вып. 3. – С. 124–132.
45. Проворов Н.А. Эволюция генетических систем симбиоза у клубеньковых бактерий // Генетика. – 1996. – Т. 32, № 8. – С. 1029–1040.
46. Проскура И.Н. Интенсификация кормопроизводства в засушливых районах страны // Вестн. с.-х. науки. – 1987. – № 10. – С. 69–75.
47. Рангелова В.Н., Антипчук А.Ф., Танцюренко Е.В. Эффективность симбиоза некоторых штаммов *Rhizobium meliloti* с различными сортами люцерны // Микробиол. журн. – 1982. – Т. 44, № 5. – С. 41–43.
48. Саимназаров Ю.Б. Специфичность взаимодействия штаммов *Rhizobium meliloti*, полученных генетическими методами, с сортами люцерны среднеазиатского генцентра: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Л.: ВНИИСХМ, 1991. – 17 с.
49. Сидорова К.К. Генетические аспекты бобово-ризобияльного симбиоза (на примере *P. sativum* L.) // С.-х. биология. – 1989. – № 3. – С. 35–40.
50. Сичкарь В.И., Князев А.В., Толкачев Н.З., Патыка В.Ф. Повышение эффективности симбиотической азотфиксации путем селекции сои // Масличные культуры. – 1986. – № 6. – С. 26–27.
51. Сметанин Н.И., Железнов А.В., Шумный В.К. Изучение полиморфизма донника белого по уровню азотфиксирующей способности // Вестн. с.-х. науки. – 1983. – № 3. – С. 109–111.
52. Сметанин Н.И., Родынюк И.С., Шумный В.К. Сортовой полиморфизм люцерны по азотфиксирующей способности // С.-х. биология. – 1987. – № 6. – С. 25–28.
53. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Пути использования адаптивного потенциала систем “растение – микроорганизм” для конструирования высокопродуктивных агрофитоценозов // С.-х. биология. – 1993. – № 5. – С. 36–46.
54. Трепачев Е.П., Азаров Б.Ф. Биологический потенциал различных видов многолетних бобовых трав по способности к азотфиксации и вкладу органического вещества в плодородие типичного чернозема // С.-х. биология. – 1989. – № 3. – С. 25–34.
55. Федоров С.Н., Фокина И.Г., Ситаров Б.В. Оценка симбиотических свойств клубеньковых бактерий люцерны (*Rhizobium meliloti*) в лабораторных условиях // С.-х. биология. – 1986. – № 1. – С. 112–118.
56. Частная селекция полевых культур / Под ред. Г.В. Гуляева. – М.: Колос, 1975. – 463 с.
57. Частная селекция полевых культур / Под ред. Ю.Б. Коновалова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 543 с.
58. Чеботарь Н.И. Об эффективности сои в условиях северной зоны Молдавии // Бюл. ВНИИСХМ. – 1988. – № 48. – С. 13–19.
59. Черемисов Б.М. Селекция бобовых растений и клубеньковых бактерий на интенсификацию их симбиоза. – М.: Агропромиздат, 1985. – 250 с.
60. Черствый С.М., Губанова Л.С., Граб Т.А. Эффективность штаммов клубеньковых бактерий люцерны в зависимости от сортовых особенностей растений и почвенных условий // Тр. ВНИИСХМ. – 1987. – Т. 57. – С. 78–84.



61. Чундерова А.И. О генетике бобово-ризобияльного симбиоза // С.-х. биология. – 1981. – Т. 16, № 3. – С. 402–406.
62. Чундерова А.И. Оценка сортов бобовых растений по эффективности симбиоза с клубеньковыми бактериями методом ацетиленовой пробы // С.-х. биология. – 1981. – Т. 16, № 3. – С. 476–477.
63. Щербakov В.К. Генетика симбиоза // Сельское хозяйство за рубежом. – 1974. – № 6. – С. 44–46.
64. Allen O.N., Allen E.K. The leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. Madison: Univ. Wisconsin Pres. – 1981. – 800 p.
65. Barnes D.K., Heichel G.H., Vancee C.P. et al. Successes and problems encountered while breeding for enhanced N<sub>2</sub> fixation in alfalfa // Genet. eng. symbiotic nitrogen fixat. and conserv. fixed nitrogen. pròc. symp. enhanc. biol. prod. ammonia atmos. nitrogen and soil nitrate, lake tahoe, Calif., 29 june - 3 july, 1980, New York; London, 1981. – P. 233–248.
66. Blixt S. The gene symbols of Pisum. The Pisum Newslether Supplement. – 1977. – 9. – 60 p.
67. Bowen G.D., Kennedy M.M. Heritable variation in nodulation of *Centosema pubescens* Benth // Queensl. J. Agr. Sca. – 1961. – V. 18, № 2. – P. 161–170.
68. Davis Th., Foster K.W., Philips D.A. Inheritance and expression of three genes controlling root nodule formation in chickpea // Crop Sci. – 1986. – V. 26, № 4. – P. 719–723.
69. Degenhardt T., La Rue T., Paul F. Investigation of non-nodulating of *Pisum sativum* // Canad. J. Bot. – 1976. – V. 54, № 14. – P. 1633–1636.
70. Devine T.E., Weber D.F. Genetic specificity of nodulation // Euphytica. – 1977. – 26, № 3. – P. 527–535.
71. Devine T.E. Inheritance of soybean nodulation response with a fast-growing strain of *Rhizobium* // J. Heredity. – 1984. – V. 75, № 5. – P. 359–363.
72. Duhigg P., Melton B., Baltensperger A. Selection for acetylene reduction rates in “Mesilla” alfalfa // Crop Sci. – 1978. – V. 18, № 5. – P. 813–816.
73. El-Sherbeeney M.H., Lawes D.A., Mytton L.R. Symbiotic variability in *Vicia faba*. 2. Genetic variation in *Vicia faba* // Euphytica. – 1977. – V. 26, № 2. – P. 491–495.
74. Gershon D. Genetic studies of effective nodulation in *Lotus spp.* // Can. J. Microbiol. – 1961. – V. 7, № 6. – P. 961–963.
75. Gibson A.H. Genetic variation in the effectiveness of nodulation of lucerne varieties // Austral. J. Res. – 1962. – V. 13, № 3. – P. 388–399.
76. Gresshoff P.M. Analisis of nodulation controlling genes in soybean // Current develop. Soybean–Rhizobium symbiot. nitrogen fixation / Ed. Don Xintian. Harbin (China): Heilongjiang sci. tech. publ., 1993. – P. 3–32.
77. Gresshoff P.M., Stiller J., Men A., Pillai S. et al. Mutants and genome analysis for further understanding of legume symbiosis // 11–th International Congress on Nitrogen fixation, Book of Abstracts. 20–25 July 1997. – P. 18.
78. Grosjean C., Huguet Th. Alfalfa nodulation in the absence of *Rhizobium*: Genetic complexity of nodular development and comparison with the *Rhizobium*–induced nodulation // Biol. Cell. – 1995. – V. 84, № 1–2. – P. 113.
79. Hera C., Popersu A. Researches on symbiosis between *Rhizobium japonicum* and soybean // Eurosoya. – 1986. – № 4. – P. 72–90.
80. Hobbs S., Mahon J. Heritability of N<sub>2</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) fixation rates and related characters in peas (*Pisum sativum* L.) // Canad. J. Plant Sci. – 1982. – V. 62, № 2. – P. 265–276.
81. Holl F.B. Host–plant control of the inheritance of dinitrogen fixation in the *Pisum* – *Rhizobium* symbiosis // Euphytica. – 1975. – V. 24, № 3. – P. 767–770.

82. Kneen B.E., La Rue T.A. Peas (*Pisum sativum* L.) with strain specificity for *Rhizobium leguminosarum* // Heredity. – 1984. – V. 52, № 3. – P. 383–389.
83. Lie T.A. Symbiotic specialization in pea plants: the requirement of specific *Rhizobium* strains for pea from Afghanistan // Annu. Appl. Biol. – 1978. – V. 88, № 3. – P. 462–465.
84. Lie T.A., Goktan D. Gene centres, a source for genetic variants in symbiotic nitrogen fixation: the symbiotic response of the cultivated pea to *Rhizobium leguminosarum* strains from Europe and the Middle East // Plant and Soil. – 1984. – V. 82, № 3. – P. 415–425.
85. Long Sharon R. Rhizobium–legume nodulation: Life together in the underground // Cell. – 1989. – V. 56, № 2. – P. 203–214.
86. Macdowell T.D.N. Influence of nitrogen supply on developmental kinetics of symbiotic and non symbiotic alfalfa. Al–Gonquin through first flowering // Can. J. Bot. – 1985. – V. 63, № 4. – P. 841–846.
87. Marker K.A., Lund M., Jewnsen E. O. et al. Transcription of the soybean leghaemoglobin genes during nodule development // EMBO J. – 1984. – V. 3. – P. 1691–1695.
88. Mytton R., Rys G.J. The potential for breeding white clover (*Trifolium repens* L.) with improved nodulation and nitrogen fixation when grown with combined nitrogen. 2. Assesment of genetic variation *Trifolium repens* // Plant and Soil. – 1985. – V. 88, № 2. – P. 197–211.
89. Nap.B., Bisseling T. Development biology of plant–prokaryote symbiosis: The legume root nodule // Science. – 1990. – V. 250, № 4993. – P. 943–954.
90. Nigam S.N., Nambiar P.T.C., Dwivedi S.L. et al. Genetics of non–nodulation in groundnut (*Arachis hypogaeas* L.). Stadies with single and mixed *Rhizobium* strains // Euphytica. – 1982. – V. 31, № 3. – P. 691–693.
91. Nutman P.S. The influence of the legume in root–nodule symbiosis // Biol. Rev. – 1956. – V. 31, № 2. – P. 109–151.
92. Nutman P.S. Symbiotic effectiveness in nodulated red clover. III. Further stadies of inheritance of ineffectiveness in the host // Heredity – 1957. – V. 11, № 2. – P. 157–172.
93. Nutman P.S. Genetics of symbiosis and nitrogen fixation in legumes // Proc. Roy. Soc. L., ser. B. – 1969, – V. 172, № 1029. – P. 417–437.
94. Nutman P.S. Improving nitrogen fixation in legumes by plant breeding; the relevance of host selection experiments in red clover (*T. pratense* L.) and subterranean clover (*T. subterraneum* L. ) // Plant and Soil. – 1984. – V. 82, № 3. – P. 285–301.
95. Ohyama T., Nicholas J.C., Harper J.E. Assimilation of  $^{15}\text{N}_2$  and  $^{15}\text{NO}_3^-$  by partially nitrate – tolerant nodulation mutants of soybean // J. Exp. Bot. – 1993. – V. 44, № 269. – P. 1739–1747.
96. Paffetti D., Daguim F., Fancelli S. et al. Effect of plant genotype on the selection for nodulating *Rhizobium meliloti* strains // 11–th International Congress on Nitrogen fixation, Book of Abstracts. 20–25 July 1997. – P. 82.
97. Peterson M.A., Barnes D.K. Inheritance of ineffective nodulation and non–nodulation trait in alfalfa // Crop Sci. – 1981. – V. 21, № 4. – P. 611–616.
98. Pinchbeck B.R., Hardin R.T., Cook F.D. et al. Genetic stadies of symbiotic nitrogen fixation in Spanish clover // Can. J. Plant Sci. – 1980. – V. 60, № 2. – P. 509–518.
99. Provorov N.A., Simarov B.V. Genetic variation in alfalfa, sweet clover and fenugreek for the activity of symbiosis with *Rhizobium meliloti* // Plant Breeding. – 1990. – V. 105, № 2. – P. 300–310.
100. Seetin M.W., Barnes D.K. Variation among alfalfa genotypes for rate of acetylene reduction // Crop Sci. – 1977. – V. 17, № 5. – P. 783–787.
101. Smith G.R., Knight W.E., Peterson H.L., Hagedorn C. The effect of *Rhizobium trifolii* strains and crimson clover genotypes on  $\text{N}_2$  fixation // Crop Sci. – 1982. – V. 22, № 5. – P. 970–973.

102. *Smith G.R., Knight W.E., Peterson H.L.* The inheritance of N<sub>2</sub> fixation efficiency in crimson clover // *Crop Sci.* – 1982. – V. 22. № 6. – P. 1091–1094.
103. *Triplett E.W., Sadowsky M.J.* Genetics of competition for nodulation of legumes // *Annu. Rev. Microbiol.* – 1992. – № 46. – P. 399–428.
104. *Verma D.P.S.* Agriculture 2020: nitrogen fixation is essential to feed the world of 8 billion people // 11-th International Congress on Nitrogen fixation, Book of Abstracts. 20–25 July 1997. – P. 18.
105. *Vest G.* Rj3 – a gene conditioning ineffective nodulation in soybean // *Crop Sci.* – 1970. – V. 10, № 1. – P. 34–35.
106. *Vest G., Caldwell B.E.* Rj4 – a gene conditioning ineffective nodulation in soybeans // *Crop Sci.* – 1972. – 12, № 8. – P. 692–694.