

УДК 581.557:633.31:631.461.5

О. А. Пазюк

к. б. н.

Державний агроекологічний університет (м. Житомир)

ГЕНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ СИМБІОЗУ *MEDICAGO SATIVA L.* ТА *RHIZOBIUM MELILOTI*

У роботі наведені результати рівня мінливості симбіотичних ознак, відносного внеску симбіопартнерів у формуванні ознак симбіозу, їх успадкованості, впливу інбридингу, ефекту гетерозису, характеру і сили зв'язку між ознаками симбіозу.

Проблема симбіотичної азотфіксації молекулярного азоту є фундаментальною проблемою теоретичної і прикладної біології [1]. Знання генетики симбіозу, генетичний аналіз усіх факторів процесу симбіотичної азотфіксації надасть можливість покращити властивості фіто- і ризобіопартнерів, використати значний біологічний резерв бобових рослин і бульбочкових бактерій з метою підвищення ефективності симбіозу і фіксації атмосферного азоту, що безпосередньо пов'язано з урожайністю [1, 13–15]. Симбіоз між *Rhizobium meliloti* і *Medicago sativa L.* може бути моделлю для вивчення комплексної взаємодії між рослинами і бактеріями [1, 14]. Необхідними етапами вивчення генетики системи *Medicago sativa L.* - *Rhizobium meliloti* є дослідження: рівня мінливості, відносного внеску симбіопартнерів у формуванні ознак симбіозу, їх успадкованості, впливу інбридингу, ефекту гетерозису, характеру і сили зв'язку між ознаками симбіозу [1, 15].

Метою даної експериментальної роботи було дослідити бульбочкоутворення, азотфіксацію, масу і висоту у лінійних і гібридних рослинах люцерни, інокульованих штамми бульбочкових бактерій 34, 425а та М4.

Матеріали і методи досліджень

Бульбочкові бактерії люцерни посівної (*Rhizobium meliloti*). Штам "425а-34" отримано методом транспозонового мутагенезу ризобій від штаму-стандарту 425а. Штам "ВНИИСХМ М4" отримано методом міжродової кон'югації *Escherichia coli* JC 5466 (pRDI) і *Rhizobium meliloti* при селекції за ознакою "азотфіксувальна активність". **Рослини** двадцяти різних за походженням ліній *Medicago sativa L.* 295-29 (I₅) – Евріка-4, 151-2 (I₆), 152-7 (I₆), 167-4 (I₆) – Евріка-10 – Україна; 270-1 (I₄) – Моріс Кабул, 192-2 (I₆) – Фелу, 177-4 (I₄), 179-3 (I₆), 182-4 (I₆) – Кішварді 16, 171-9 (I₆) – Кішварді 27, 155-9 (I₇), 154-8 (I₆), 158-7 (I₇), 162-9 (I₇) – Кішварді 46 – Угорщина; 276-18 (I₃) – місцева ФРН – Німеччина; 191-2 (I₆), 212-7 (I₄) – Альфа-38, 229-4 (I₅) – Вертус – Швеція; 198-4 (I₄), 298-2 (I₅) – Бореале-47 – Франція. Як контроль використовували рослини сорту Ярославна, який являється національним стандартом з насінневої продуктивності.

Мікровегетатійний стерильний дослід. Скарифіковане насіння стерилізували 2,5 хв 3,3 %-им розчином перекису водню, пророщували протягом доби в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері у термостаті при 28 °С. По одному проростку висаджували в скляні пробірки (20×195 мм, об'єм 60 мл) із стерильним перлітом (3,5 г) і середовищем Красильникова-Кореняко без азоту (9 мл) та сумішшю мікроелементів (1 мл). Інокуляцію рослин проводили суспензією тижневої культури штаму М4 (1 мл, концентрація 10⁸ клітин/мл) і закривали пробкою. На 10-й день вегетації в розчин добавляли 0,1 норми азоту з метою запобігання азотного голодування. Рослини вирощували при 16-годинному природному освітленні. Нітрогеназну активність вимірювали через 24 години ацетиленовим методом на газовому хроматографі “Хром 504” виробництва ЧССР. Для цього пробірки з рослинами герметично закривали ковпачками і вводили в них ацетилен (10 % від об'єму пробірки). Кількість бульбочок оцінювали підрахунком, ефективність симбіозу – за масою і висотою зелених рослин. На основі тестування рослин у мікровегетатійному стерильному досліді було відібрано контрастні лінії за інтенсивністю азотфіксації – 212-7⁺, 229-4⁺, 298-2⁺, 171-9⁻, 192-2⁻ і за кількістю бульбочок – 152-7⁺, 295-29⁺, 154-8⁺, 198-4⁻, 192-2⁻. При доборі ліній уникали генотипів зі значною інбредною депресією.

Примусове самозапилення і штучна гібридизація. Від відібраних ліній шляхом примусового самозапилення в подальшому отримали рослини наступного покоління інбридингу, а шляхом штучної гібридизації – гібриди F₁. Для самозапилення та гібридизації рослини вирощували в ґрунті. На китиці рослин, які мали бути запилені з метою отримання лінійних і гібридних рослин, перед початком цвітіння одягали двошарові марлеві ізолятори, які підв'язували до металевих прутів – опор. Самозапилення ліній (з метою отримання наступного покоління інбридингу) і F₁ (для одержання F₂) проводили шляхом стискання анатомічним пінцетом пружних колонок (маточка і трубочка із тичинками, що зрослися) ізольованих квіток, які розпустилися, але ще не розкрилися. Пружиниста колонка з силою викидалася з човника на прапорець. В момент удару (трипінг) колонки об прапорець у приймочки пошкоджувалася плівка, пилок висипався на приймочку і проростав, викликаючи самозапилення. Штучне схрещування ліній (для одержання F₁) проводили без кастрації. Для цього квітки батьківських рослин, які розпустилися, але не розкрилися (колонки не викинуті на прапорець) легким натисканням одною стороною пінцету на основу човника викликали викидання колонки з таким розрахунком, щоб вона вдарилася об пінцет і залишила на ньому свій пилок. Потім пінцетом з пилком таким же прийомом відкривали три-п'ять квіток на суцвітті материнської рослини. При викиданні колонка материнської квітки вдарялася

приймочкою об купку пилку на пінцеті. Отримані плоди знімали при повному їх досяганні разом з ізоляторами.

Вегетаційні дослід. Варіанти дослідів склалися з 3–16 рослин, кожна з яких правила за повторність. Посудини – пластикові ємкості висотою 10 см; об'ємом 440 мл. Субстрат – промитий річковий пісок (0,620 кг). Поживна суміш – розчин Прянішнікова з повною нормою азоту. Скарифіковане насіння рослин стерилізували 2,5 хв 3,3 %-им розчином перекису водню, промивали проточною водопровідною водою та інокулювали. Бактеризацію проводили суспензією *Rhizobium meliloti* штамів 425а, 34 і М4 об'ємом 3 мл (концентрація 10^8 клітин/мл). Інокуляцію проводили в пробірках. У посудини висаджували по 5 рослин. Вегетація рослин проходила в умовах теплиці. Строк вегетації – 43 доби. Для аналізу азотфіксувальної і бульбочкоутворювальної активностей, маси і висоти рослини корені відмивали від піску, кореневу систему відділяли від пагонів на рівні кореневої шийки. Для аналізу нітрогеназної активності корені (по одному) розміщували у пеніцилінові флакони, об'ємом 15 мл і герметично закривали металевими стоперами. У флакони вводили 1,5 мл ацетилену (10 % від об'єму флакону). Після інкубації коренів з ацетиленом аналізували кількість бульбочок, вимірювали масу і висоту рослин. Для вирощування рослин на ґрунті використовували посудини Вагнера на 11 кг ґрунту (опідзолений чорнозем), в який додавали поживний розчин Прянішнікова з повною нормою азоту. Нескарифіковане насіння ліній і гібридів F₁ бактеризували штамом М4. Залишали по 8 рослин на посудину. Перед початком цвітіння з метою уникнення неконтрольованого запилення на китиці люцерни одягали двошарові марлеві ізолятори. Проводили штучне примусове самозапилення ліній і F₂. Плоди з насінням знімали при повному їх досяганні разом з ізоляторами.

Статистичні методи. Отримані експериментальні дані оброблялись методами біометрії, статистичної та біометричної генетики (Рокицкий П.Ф., 1978, Доспехов Б.А., 1985, Лакин Г.Ф., 1973, 1990, Мазер К., Джинкс Дж., 1985, Мармоза А.Т., 1990, Плохинский Н.А., 1964, Боме Н.А., 1987, Голодрыга П.Я., Трошин Л.П., 1978, Гужов Ю.Л., Фукс А., Валичек П., 1991, Мартынов С.П., Добротворская Т.В., 1996). У загальних статистичних і біометрико-генетичних аналізах використовувалися власні і широкорозповсюджені біометричні програми для EOM (Diana, Reanal, Tstat, Nsr, Korrel, Quattro 4.00, SPSS 9.0).

Результати досліджень

Мінливість симбіотичних ознак. Виявлена значна мінливість за кількістю бульбочок і нітрогеназною активністю, масою і висотою рослин, яка залежить від генотипів симбіонтів (табл. 1). Найбільша мінливість рослин спостерігається за азотфіксацією. Значна мінливість ліній

викликається інцухт-депресією і екологічною нестабільністю інбредних рослин. На покоління F_1 , що не розщеплюється, як і лінійні рослини, сильніше впливають модифікаційні чинники. Максимальна внутрішньогрупова мінливість спостерігалася у рослин F_2 за кількістю бульбочок і азотфіксацією. Внаслідок значної варіабельності внутрішньогрупова модифікаційна мінливість за дослідженими ознаками наближалася до міжгрупової – фенотипічної. Тому групи з відмінними середніми показниками часто достовірно не відрізнялися між собою. Основна маса ліній за кількістю бульбочок і азотфіксацією, масою і висотою рослин не перевищує контроль. Гібриди F_1 і F_2 в основному перевищують середні показники вихідних ліній і контролю.

Найменший рівень мінливості кількості бульбочок і азотфіксації, маси й висоти рослин виявлено при інокуляції рослин штамом М4. Достовірно відмінні генотипи ліній і гібридів за дослідженими ознаками виявлялися у випадку, якщо вони були інокульовані штамом М4. Найбільшим розмахом мінливості й помилками одержаних показників характеризувалися вибірки штаму 425а. Штам М4 забезпечував максимальну масу й висоту рослин, а за кількістю утворених бульбочок і азотфіксацією не відрізнявся від штамів 34 і 425а.

Таблиця 1. Мінливість і характер розподілу рослин за кількістю бульбочок і азотфіксацією, масою й висотою ліній і гібридів *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti*

Ознака	$\bar{x} \pm s_x$	Cv, %	s_x^2	As	Ex
Кількість бульбочок на рослину	4,2±0,1	92,5	15,0	+1,5	+3,2
Азотфіксація, нмоль C_2H_4 /рослину/24 г	911,4±60,8	182,0	2750556,0	+1,7	+3,6
Маса рослин, мг	133,3±4,5	92,0	15033,7	+1,2	+1,6
Висота рослин, см	7,2±0,2	66,8	23,0	+0,7	-0,4

Поліморфізм люцерни за дослідженими ознаками дозволяє відібрати необхідний матеріал для генетичних досліджень симбіотичної азотфіксації і селекційних цілей. Аналіз показників варіації свідчить про відносну незалежність між ознаками кількості бульбочок і азотфіксації, з одного боку, та масою й висотою рослин, з іншого. Найкращі лінії за однією ознакою не проявляють себе кращими за іншими ознаками. Це свідчить про різний генетичний контроль досліджених ознак. Штами 34 і 425а, які мають генетичну спорідненість через спільне походження, проявляють найбільшу позитивну кореляцію за показниками всіх

досліджених ознак. Між показниками мікровегетатійного й вегетатійного дослідів існує сильна позитивна кореляція [2, 4, 5, 8, 9].

Відносний внесок генотипів симбіонтів у визначенні симбіотичних ознак. Генотипи *Medicago sativa* L. і *Rhizobium meliloti* впливають на показники кількості утворюваних бульбочок і азотфіксувальної активності, маси й висоти рослин ліній і гібридів. За однофакторним дисперсійним аналізом найбільший внесок у формуванні симбіотичних ознак належить генотипу рослин, за двофакторним аналізом – комплементарній взаємодії обох симбіонтів (табл. 2).

Таблиця 2. Відносні внески генотипів симбіонтів у визначенні кількості бульбочок і азотфіксації, маси й висоти рослин ліній і гібридів *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti* за одно- і двофакторним дисперсійним аналізом, %

Ознака	Однофакторний аналіз		Двофакторний аналіз		
	бактерії	рослини	бактерії	рослини	взаємодія симбіонтів
Кількість бульбочок	14,2–28,9	13,3–97,0	3,3–6,4	5,1–16,1	5,7–50,7
Азотфіксація	–	23,7–97,4	3,0	4,9–18,5	21,5–33,1
Маса рослин	13,4–15,5	16,8–75,8	6,4	17,2–24,8	5,7–51,1
Висота рослин	8,7–26,4	14,0–88,4	2,5–15,5	3,7–26,4	17,6–61,7

Максимальні внески рослин проявляються на утворенні бульбочок та їх азотфіксації. Незначна сила впливу штамів на формування ознак може бути пояснена подібністю досліджених штамів за симбіотичними властивостями. Неконтрольовані чинники часто перевищували 50,0 %, що є наслідком значного варіювання симбіонтів за дослідженими ознаками і сильного впливу на симбіотичні ознаки модифікаційних факторів середовища. Внески лінійних рослин у формування досліджених ознак перевищують внески гібридів на лініях сильніше, ніж на гібридах, проявляється дія штаму, що виявляє їх більшу залежність від симбіотрофного азоту. Інбридинг збільшує величину внеску рослин і ризобій у формуванні симбіотичних ознак.

Зі збільшенням рівня мінливості за рахунок варіювання трьох штамів внески рослин у досліджених ознаках зменшувалися в 1,5–2 рази. Внутрішньогрупова мінливість у F_2 дорівнює міжгруповій мінливості ліній і F_1 , що є наслідком розщеплення, яке зменшує внески симбіопартнерів. Найбільші й достовірні внески у формуванні всіх ознак отримано для “плюс” ліній за кількістю утворюваних бульбочок та їх азотфіксацією – 152–7, 154–8, 198–4, 212–7, 229–4, 298–2. На формування кількості бульбочок і ацетиленредуктазної активності, маси й висоти рослин найсильніше впливає штам М4. Величини відносних внесків симбіонтів у

формуванні симбіотичних ознак указують на можливість контролю рівня симбіотичної активності й ефективності шляхом добору генотипів рослин-господарів і бульбочкових бактерій [7, 11].

Коефіцієнт успадковуваності симбіотичних ознак. Значення коефіцієнта успадковуваності (у широкому значенні) залежить від генотипу вихідних ліній і штаму бактерій. За однофакторним дисперсійним аналізом внески материнських і батьківських вихідних ліній на формуванні симбіотичних ознак достовірно не відрізнялися (табл. 3).

Таблиця 3. Коефіцієнти успадковуваності кількості бульбочок і азотфіксації, маси й висоти рослин ліній і гібридів *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti* за одно- і двофакторним дисперсійним аналізом, %

Ознака	Однофакторний аналіз		Двофакторний аналіз		
	Батьківська форма	Материнська форма	Рослини	Бактерії	Взаємодія симбіонтів
Бульбочкоутворення	25,3–99,9	2,7–99,6	86,8	43,7–58,4	87,3
Азотфіксація	22,1–99,7	50,3–97,3	49,5–71,6	22,0–27,9	35,7–68,6
Маса рослин	31,2–83,9	21,6–81,9	71,0–75,1	14,9	30,6–52,5
Висота рослин	18,4–85,1	25,1–75,8	71,0–78,0	14,0–40,5	33,6–52,9

Максимальні коефіцієнти успадковуваності належали кількості бульбочок та нітрогеназній активності. За двофакторним аналізом найсильніше на успадковуваність симбіотичних ознак впливав генотип рослини-господаря. Внесок лінійних рослин в успадковуваність ознак гібридами залежав від покоління інбридингу вихідних ліній і достовірно проявлявся як фактор взаємодії лінійного генотипу з поколінням інбридингу. Фактор неадитивної комплементарної взаємодії симбіопартнерів достовірно проявляє свою дію в успадковуваності досліджених ознак навіть при недостовірності окремих, адитивних внесків рослин і бактерій. Зі збільшенням фенотипічної мінливості за рахунок варіювання генотипів рослин і бактерій успадковуваність усіх досліджених ознак зменшувалася в 1,5–2 рази. На значення коефіцієнтів успадковуваності суттєво впливають модифікаційні чинники середовища.

Найбільші й достовірні значення коефіцієнтів успадковуваності для всіх ознак було отримано для “плюс” ліній з кількості бульбочок і азотфіксації. “Плюс” лінії проявили свою дію у формуванні маси й висоти рослин значно слабкіше, ніж у формуванні кількості бульбочок і активності нітрогенази, що свідчить про відносну незалежність даних ознак. Найбільші величини успадковуваності отримано в симбіозі із штамми 425a і M4. Отримані коефіцієнти успадковуваності свідчать про

генетичну мінливість серед досліджених ліній за ознаками симбіозу і вказують на можливість добору з метою підвищення симбіотичної активності й ефективності [6, 10].

Вплив інбридинга на симбіотичні ознаки. Поглиблення інбридингу негативно й суттєво впливає на утворювану кількість бульбочок і азотфіксацію, масу й висоту рослин (табл. 4).

*Таблиця 4. Вплив інбридингу на кількість бульбочок і азотфіксацію, масу й висоту рослин ліній *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti* за кореляційно-регресійними та одно- і двофакторними дисперсійними аналізами*

Ознака	r за кореляційним аналізом	h ² за однофакторним аналізом, %	h ² за двофакторним аналізом, %
Кількість бульбочок	-0,4...-0,9	57,2-62,7	19,1-61,4
Азотфіксація	-0,8...-0,9	26,4-29,7	-
Маса рослин	-0,5...-0,7	27,7-30,1	53,7
Висота рослин	-0,6...-0,9	-	14,1-59,3

Генотип фіто- і ризобіосимбіонта впливає на величину кореляційно-регресійної залежності між дослідженими ознаками й поколінням інбридингу. Інбредні рослини мають менші симбіотичні показники, ніж гібриди. Від'ємний вплив інбридингу за кореляційно-регресійними й дисперсійними аналізами сильніше позначився на утворенні бульбочок та інтенсивності ацетиленредукції. Найбільший негативний вплив інбридингу зазнали лінійні рослини, інокульовані штамом 34 [2-5, 7, 8].

Вплив гетерозису на симбіотичні ознаки. Середній ефект гетерозису гібридів залежав від генотипів вихідних ліній і штаму ризобій. Середні показники гібридів за всіма ознаками звичайно перевищували лінійні значення. Найбільший ефект гетерозису був за кількістю бульбочок і активністю нітрогенази у гібридів, інокульованих штамом 425а, за ефективністю симбіозу (маса й висота рослин) у F₁, бактеризованих штамом М4 (табл. 5). Максимальні ефекти гетерозису серед досліджених груп рослин характерні для штаму-еталону 425а. Найбільший додаток кількості бульбочок і азотфіксації, маси й висоти рослин відмічено у гібридів, які походили від "плюс" ліній за нодуляційною й нітрогеназною активністю [6, 9, 10].

Кореляційно-регресійний зв'язок між симбіотичними ознаками. Між кількістю утворених бульбочок та їх азотфіксувальною активністю, масою і висотою рослин ліній і гібридів існує достовірний позитивний зв'язок середньої і вище середньої сили (табл. 6).

Таблиця 5. Ефект гетерозису кількості бульбочок і азотфіксації, маси й висоти рослин гібридів F₁ *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti* (прибавка до середнього вихідних ліній, %)

Ознака	Штам 34	Штам 425a	Штам М4
Кількість бульбочок	118,6	148,5	87,0
Азотфіксація	144,2	171,6	96,1
Маса рослин	106,6	105,9	119,8
Висота рослин	105,6	106,5	120,4

Таблиця 6. Коефіцієнти кореляції між кількістю бульбочок і азотфіксувальною активністю, масою і висотою рослин ліній і гібридів *Medicago sativa* L. в симбіозі з *Rhizobium meliloti* (n=744)

Ознака	Кількість бульбочок	Азотфіксація	Маса рослин	Висота рослин
Кількість бульбочок	–	+0,4...+0,8	+0,4...+0,5	+0,3...+0,6
Азотфіксація	+0,4...+0,8	–	+0,4...+0,5	+0,2...+0,5
Маса рослин	+0,4...+0,5	+0,4...+0,5	–	+0,3...+0,9
Висота рослин	+0,3...+0,6	+0,2...+0,5	+0,3...+0,9	–

На величину кореляції між симбіотичними ознаками специфічно впливає генотип штаму.

Величина кореляції змінювалася в залежності від пар ознак, ступеня інбридингу ліній і покоління гібридів. Середня кореляція між кількістю бульбочок і азотфіксацією у всіх досліджених рослин +0,4; між кількістю бульбочок і азотфіксацією з одного боку та масою і висотою рослин з іншого боку +0,3...+0,4; між масою і висотою рослин +0,9.

Максимальні показники кореляції у вибірках проявили таку ж саму закономірність. Зв'язок між азотфіксацією та масою і висотою зелених рослин був найсильнішим у лініях, що виявляли залежність депресованих рослин від симбіотичного азоту. Кореляційно-регресійні показники мікровегетаційного і вегетаційного дослідів добре збігалися [2, 4, 5, 8].

Отже: 1. Існує високий рівень між- і внутрішньогрупової мінливості і позитивна асиметрія розподілу рослин ліній і гібридів *Medicago sativa* L. за кількістю бульбочок і азотфіксувальною активністю, масою і висотою рослин. Найсильніше варіює азотфіксація. Найбільша мінливість викликається штамом 425a.

2. Найсильнішим у формуванні симбіотичних ознак був фактор комплементарної неадитивної взаємодії рослин і ризобій, внесок рослин перевищував вплив генетично подібних штамів *Rhizobium meliloti*. Найбільший вплив на формування симбіозу чинять “плюс” лінії за

кількістю бульбочок і азотфіксацією, інокульовані штамом М4. Внески батьківських і материнських форм в успадковуваність досліджених ознак достовірно не відрізняються. На коефіцієнт успадкованості симбіотичних ознак найсильніше впливав генотип рослини та фактор взаємодії симбіонтів. Успадковуваність кількості бульбочок і азотфіксації перевищує успадковуваність маси і висоти рослин. Найбільші коефіцієнти успадкованості ознак симбіозу належать “плюс” лініям за кількістю бульбочок та нітрогеназною активністю, які інокульовані штамми 425а і М4.

3. Інбридинг зменшує симбіотичні показники, особливо кількості бульбочок і азотфіксації. Максимальна інбредна депресія спостерігалася у вибірках штаму 34. У гібридів F_1 спостерігався ефект гетерозису за ознаками симбіозу, особливо за кількістю бульбочок і ацетиленредукцією у рослин, інокульованих штамом 425а.

4. Між симбіотичними ознаками існує позитивний зв'язок. Кореляція між симбіотичною активністю і ефективністю – нижче середньої сили, між кількістю бульбочок і азотфіксацією – середньої сили, між масою і висотою рослин – вище середньої сили.

Таким чином приведені методи дослідження і параметри симбіотичної азотфіксації дають змогу вивчати генетику симбіозу та відбирати вихідний матеріал для створення високоефективних сортів бобових рослин та бульбочкових бактерій.

Література

1. Тихонович І.А., Проворов Н.А. Пути использования адаптивного потенциала систем “растение – микроорганизм” для конструирования высокопродуктивных агрофитоценозов // С. – х. биология. – 1993. – № 5. – С. 36–46.
2. Пазюк О.А., Нічик М.М., Бобер А.Ф. Вивчення мінливості азотфіксуючої активності і нодуляції в люцерни посівної // Актуальні питання фізіології рослин в аспекті екологічних проблем України: Тези доп. Міжнародної наради. – Чернівці, 1995. – С. 42.
3. Пазюк О.А., Нічик М.М. Вплив симбіозу і інбредної депресії на ріст люцерни // Тези доп. VI конфер. молодих вчених “Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики”. – Київ. – 1996. – С. 29–31.
4. Пазюк О.А. Изменчивость симбиотических признаков внутри вида *Medicago sativa* L. // Тези доп. VI конфер. молодих вчених “Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики”. – Київ. – 1996. – С. 88–89.
5. Пазюк О.А., Нічик М.М. Мінливість ліній люцерни посівної за активністю азотфіксації і бульбочкоутворення в симбіозі з *Rhizobium meliloti* // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 2. – С. 66–73.
6. Пазюк О.А. Наследуемость признака «высота растений» и его зависимость от генотипов симбионтов при взаимодействии линий и гибридов

люцерны со штаммами *Rhizobium meliloti* // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 4. – С. 37–42.

7. *Пазюк О.А.* Влияние симбиоза линий и гибридов люцерны с разными штаммами *Rhizobium meliloti* на высоту растений // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 5. – С. 47–53.

8. *Пазюк О.А.* Изменчивость высоты растений линий и гибридов люцерны в симбиозе с разными штаммами *Rhizobium meliloti* // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33, № 3. – С. 65–72.

9. *Нічик М.М., Пазюк О.А., Бобер А.Ф., Башкірова Н.В.* Ефективність симбіозу люцерни з новими штаммами бульбочкових бактерій, отриманих методом транспозонового мутагенезу // Физиология и биохимия культурных растений. – 2000. – Т. 32, № 3. – С. 219–222.

10. *Пазюк О.А.* Успадковуваність азотфіксувальної активності люцерни посівної в симбіозі із *Rhizobium meliloti* // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, № 1. – С. 58–63.

11. *Пазюк О.А.* Відносний внесок генотипів *Medicago sativa* і *Rhizobium meliloti* у визначенні маси і висоти рослин // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, № 5 – С. 428–431.

12. *Пазюк О.А.* Роль люцерни посівної і *Rhizobium meliloti* у визначенні активності і успадкованості азотфіксації і бульбочкоутворення // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. Київ: Логос, 2001. – Т. 3. – С. 260–263.

13. *Allen O.N., Allen E.K.* The leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. Madison: Univ. Wisconsin Pres. – 1981. – 800 p.

14. *Nap.B., Bisseling T.* Development biology of plant-prokaryote symbiosis: The legume root nodule // Science. – 1990. – 250, № 4993. – P. 943–954.

15. *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.
