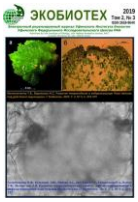
ЭКОБИОТЕХ
ISSN 2618-964X http://ecobiotech-journal.ru



ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОЙ ВЛАЖНОСТИ

Дубровская Е.В., Позднякова Н.Н., Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Бондаренкова А.Д., Турковская О.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов
E-mail: turkovskaya_o@ibppm.ru

Исследовано воздействие нефтяного загрязнения на растения *Sorghum bicolor* L. Moench и *Medicago falcata* L. в вегетационном опыте (70 сут) в условиях моделируемой засухи (40 сут) по ряду морфометрических и физиолого-биохимических показателей. Установлено, что нефть в концентрации 15 г/кг явилась чрезвычайно агрессивным фактором: она тормозила рост растений, снижала биомассу корней и побегов, содержание фотосинтетических пигментов, активность пероксидаз (за исключением листьев люцерны, где наблюдалось существенное повышение), увеличивала содержание белка (за исключением листьев люцерны, где наблюдалось существенное понижение). Ограничение влажности ухудшало условия существования растений, которые, однако, реагировали по-разному: у сорго снижалась биомасса, в большей степени побегов. В случае люцерны масса побегов снизилась несущественно, но значительно повысилась масса корней – почти в 2 раза. Среди физиолого-биохимических показателей заметно понижалось количество пигментов, увеличивалось содержание белка, особенно в листьях люцерны, изменялась активность пероксидаз. В условиях засухи элиминация нефти в почве без растений снизилась на 10%. Под растениями понижение влажности сказалась только на сорго, снизив это показатель на 4% – 33 и 29% соответственно в условиях оптимальной и пониженной влажности. В случае люцерны получены результаты, практически не отличающиеся от оптимальных – 21,5%. Таким образом, смоделированная в условиях вегетационного эксперимента засуха существенно и в разной степени изменила отдельные показатели физиолого-биохимического статуса исследованных растений и понизила фиторемедиационный потенциал сорго, не оказав влияния на этот показатель для люцерны.

Ключевые слова: нефть, деградация, фиторемедиация, засуха, *Sorghum bicolor, Medicago falcata*

EFFECT OF OIL POLLUTION ON PLANTS UNDER DROUGHT CONDITIONS

Dubrovskaya E.V., Pozdnyakova N.N., Muratova A.Y., Golubev S.N., Bondarenkova A.D., Turkovskaya O.V.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov
E-mail: turkovskaya_o@ibppm.ru

The effect of oil pollution on *Sorghum bicolor* L. Moench and *Medicago falcata* L. plants was studied in pot experiment (70 days) under simulated drought conditions (40 days) by assessment of a number of morphometric, physiological, and biochemical parameters. It was found that oil at a concentration of 15 g/kg was an extremely aggressive factor which inhibited the plant growth, reduced the accumulation of root and shoot biomass, decreased the content of photosynthetic pigments and the activity of peroxidases (with the exception of alfalfa leaves, where a significant increase was observed), and increased the protein content (with the exception of alfalfa leaves, where a significant decrease was observed). The limitation of humidity resulted in worsening conditions for the existence of plants, which reacted differently. In sorghum, the shoot biomass reduced to a greater extent than the root biomass. In the case of alfalfa, the shoot biomass decreased insignificantly, but the root biomass increased significantly (almost twofold). Among physiological and biochemical parameters, the content of photosynthetic pigments markedly decreased, the protein content increased (especially in alfalfa leaves), and peroxidase activity varied. Under drought conditions, the elimination of oil from soil without plants decreased by 10%. In planted soil, the humidity limitation had an impact only on sorghum, by reducing the oil elimination rate by 4% (from 33 to 29% under optimal and low humidity conditions, respectively). The oil elimination rate obtained for alfalfa did not differ essentially from the unplanted control – 21.5%. Thus, the drought simulated under the pot experiment conditions did not have a significant effect on the elimination of oil from planted soil, but it significantly and to varying degrees changed some individual indicators of the physiological and biochemical status of crops.

Keywords: oil, degradation, phytoremediation, drought, *Sorghum bicolor*, *Medicago falcata*

Поступила в редакцию: 4.09.2019

DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-3-391-401

ВВЕДЕНИЕ

Растения являются центром формирования микробных сообществ, в связи с чем рассматриваются как главные участники биоремедиационных технологий. Растения, адаптированные к конкретным почвенно-климатическим условиям, обладающие ризосферными и внутриклеточными механизмами детоксикации поллютантов, представляют наибольший интерес как в научном, так и прикладном плане.

Засуха – продолжительный период устойчивой погоды с высокими для данной местности температурами воздуха и малым количеством осадков, является одним из наиболее серьезных стрессоров окружающей среды и представляется наиболее значимым фактором, ограничивающим рост и урожайность растений. Влияние засухи на развитие растений активно изучается, описано ее влияние на рост и накопление фотосинтетических пигментов [Jaleel et al., 2009; Abedi and Pakniyat, 2010], индукцию активных форм кислорода и активность ферментов окислительного стресса [Mattos and Moretti, 2015; Mittler, 2002]. Негативное влияние нефтяного загрязнения также распространяется на все характеристики растений [Olubodun and Eriyamremu, 2013; Topa Sorana et al., 2018; Emengini et al., 2013]. Воздействие обоих указанных факторов еще более усугубляет состояние растений, изменяя их физиолого-биохимический статус и фиторемедиационный потенциал.

Целью представленной работы явилось выяснение воздействия нефтяного загрязнения на растения в условиях ограниченного водного режима.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили с двумя видами растений: злак сорго веничное (*Sorghum bicolor* L. Moench) и бобовое люцерна серповидная (*Medicago falcata* L.) в течение 70 суток с использованием каштановой почвы (отобранной в Энгельсском районе Саратовской области) – типичной для восточных засушливо-степных районов Саратовского Заволжья. По нашим данным в почве содержалось 14,4 и 10,7 мг/кг аммонийного и нитратного азота соответственно, 253,3 мг/кг P_2O_5, полная влагоемкость составляла 39%, pH – 7,2.

Пластмассовые вегетационные сосуды объемом 1 л заполняли почвой, в которую предварительно была внесена сырая нефть 15 г/кг. Выбор дозы нефти обусловлен тем, что почва с таким уровнем загрязнения по выявленным реакциям ее микробной системы находится в «зоне стресса» (0,7 - 50 мл/кг почвы) и характеризуется возникновением первых нарушений в микробном сообществе [Звягинцев, 1989], то есть, она достаточно высока, чтобы оказывать воздействие на исследуемые нами параметры, и в то же время, растения могут расти при таком уровне загрязнения.

Посев семян сорго и люцерны производили через 5 дней после внесения нефти. Полив осуществляли ежедневно отстоянной водопроводной водой до 50% от полной влагоемкости. Вегетационные опыты проводили в фитокомнате с контролируемыми условиями: температура 23-25^{o}C, освещенность 8000 люкс, продолжительность светового периода 14, темнового – 10 ч. Через 3 и 6 недель после посева вносили аммиачную селитру в концентрации 0,4 г/кг. Моделирование засухи осуществляли через 30 сут эксперимента снижением полива до 30% от полной влагоемкости в течение 40 сут.

Растения анализировали по следующим показателям: всхожесть семян, выживаемость и накопление биомассы растений, содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллы *a,*

б и каротиноиды) [Гавриленко и др., 1975], продукция белка [Bradford, 1976], активность внутриклеточных пероксидаз [Criquet et al., 2000]. Активность ферментов определяли по отношению к 2,7-диаминофлуорену при длине волны λ = 600 нм в 50 мМ K-Na-фосфатном буфере при pH 6,0, выражали в мкмоль окисленного субстрата в мин на мг белка (мкмоль/мин/мг белка).

Определение содержания нефти проводили методом колоночной хроматографии на оксиде алюминия с последующим гравиметрическим определением остаточной нефти, экстрагировали хлороформом [Другов, Родин, 2007].

Все полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке, вычисляя средние значения, для сравнения которых использовали показатели стандартного отклонения и доверительного интервала при $P \leq 0,05$. Вычисления проводили в программе MicrosoftExcel2007 (Microsoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всхожесть семян сорго веничного и люцерны серповидной исследовали только в условиях оптимальной влажности. Установлено, что присутствие нефти в концентрации 15 г/кг влияло лишь на сорго – всхожесть его семян снижалась на 10-11%, в то время как для люцерны этот показатель не менялся. Некоторыми авторами отмечается значительное (до 50%) снижение всхожести злаковых трав при содержании нефти 32 мг/г почвы [Topa Sorana et al., 2018], что указывает на нецелесообразность использования растений в таких условиях. В целом, можно отметить, что при выбранной нами концентрации нефти 15 г/кг всхожесть обоих растений сохранялась на довольно высоком уровне, приемлемом для их использования в целях фиторемедиации. В то же время, высокая всхожесть семян не является гарантией хорошего результата очистки. Важно установить, способны ли растения выживать и нормально развиваться в стрессовых условиях. В этой связи в конце эксперимента (через 70 сут) определяли выживаемость растений. Было установлено, что этот параметр для сорго составил 100% при всех условиях выращивания, о чем свидетельствовало сохранение практически всех растений. Показатели люцерны были такими же за исключением загрязненного варианта на фоне засухи – число сохранившихся растений снижалось на 25% от контроля.

В отличие от вышеназванных показателей, развитие биомассы растений существенно зависело от условий их выращивания. Растения сорго в чистой почве при оптимальной влажности были хорошо развиты и обладали высоким тургором (рис. 1а), в условиях пониженной влажности тургор был значительно слабее, нижние листья высыхали (рис. 1б). Нефтяное загрязнение существенно тормозило развитие растений практически вне зависимости от водного режима (рис. 1в и 1г).

На люцерну (рис. 2) пониженная влажность влияла незначительно: в чистой почве растения имели одинаково нормальный тургор и окраску, хорошо ветвились (рис. 2а и 2б). Нефтяное загрязнение оказывало крайне неблагоприятное воздействие: растения были очень мелкими, слабо развивались, не наблюдалось ветвления (рис. 2в и 2г), условия влажности практически не проявлялись.

Таким образом, как указывалось выше, используемое содержание нефти создавало условия стресса для растения, замедляя их развитие.

а б в г

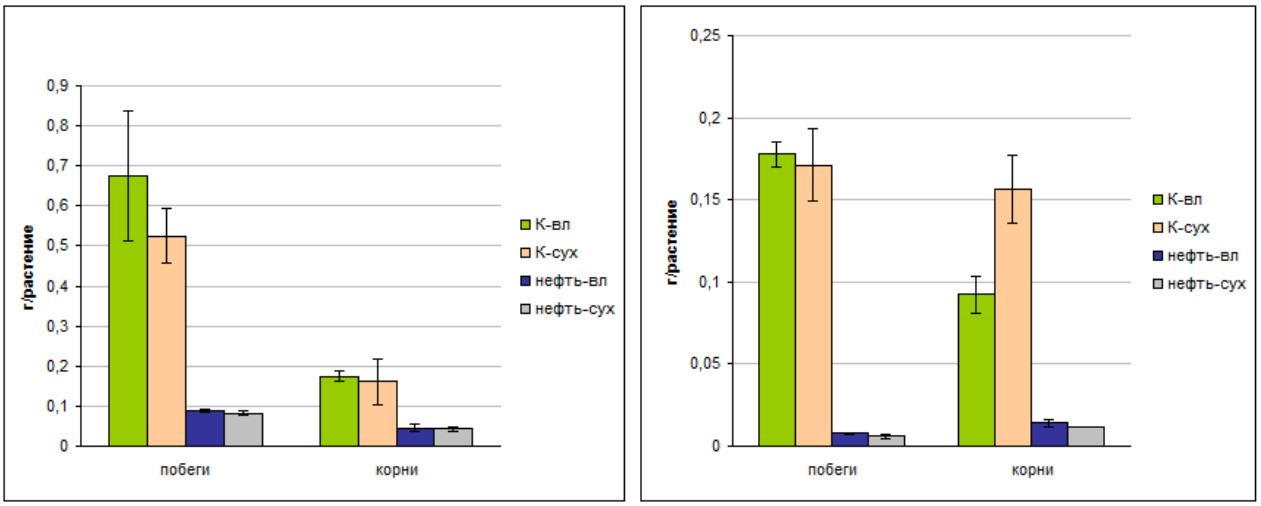
Рис. 1. Растения сорго, выращенные в чистой почве при оптимальной (а) и пониженной (б) влажности, и в загрязненной нефтью почве при оптимальной (в) и пониженной (г) влажности.

Рис. 2. Растения люцерны, выращенные в чистой почве при оптимальной (а) и пониженной (б) влажности, и в загрязненной почве при оптимальной (в) и пониженной (г) влажности

В конце эксперимента определялось накопление наземной и подземной биомассы растений. Пониженная влажность почвы не существенно влияла на сорго (рис. 3а), в чистой почве вес побегов снизился на 22, а корней всего на 7,5%. Негативный эффект нефтяного загрязнения был выраженным при обоих уровнях влажности: вес наземной части растений снижался почти на 80, а корней на 75%. Можно сказать, что токсическое действие нефти столь велико, что на его фоне недостаток влаги не заметен. Снижение накопления биомассы растений под влиянием нефтяного загрязнения отмечалось и другими исследователями, причем больший негативный эффект загрязнение оказывало на надземную часть [Tora Sorana et al., 2018, Baruah et al., 2014].

Как было указано выше, по визуальной оценке растения люцерны мало чувствительны к условиям засухи, количественные показатели выявили не просто отсутствие негативного влияния низкой влажности, но существенное увеличение биомассы корней (на 70% относительно оптимальной влажности) (рис. 3б). Вероятно, за счет роста корневой

массы растение улучшало свое обеспечение водой. В литературе подобный эффект обнаруживали при пониженной влажности у проростков сливы [Guo et al., 2015], отмечалось увеличение соотношения биомассы корней и побегов, что можно интерпретировать как стратегию максимизации поглощающей поверхности корней и увеличения скорости поглощения воды и питательных веществ. В наших опытах установлено, что подобная стратегия нарушается нефтяным загрязнением, во всяком случае в течение 70 суток: почти в 7 раз снижался вес корневой системы и более чем в 20 раз вес побегов не зависимо от влажности (рис. 3б).



а б

Рис. 3. Накопление биомассы растениями сорго (а) и люцерны (б).

Содержание фотосинтетических пигментов в хлоропластах растений зависит от стадии развития растения и внешних условий. Токсическое действие нефти на растения на физиологическом и биохимическом уровнях характеризуется разрушением хлорофиллов и каротиноидов [Baruah et al., 2014]. Засуха также ингибирует фотосинтез растений, вызывая изменения и повреждения фотосинтетического аппарата [Jaleel et al., 2009], приводя к нарушению соотношения хлорофиллов *а* и *б* в пользу последнего. Следует отметить, что исследуемые нами растения относятся к разным типам фотосинтеза: сорго – С4, люцерна – С3. В связи с этим была особенно интересна реакция их фотосинтетического аппарата на стрессовые условия.

В целом, в листьях люцерны содержание пигментов было значительно выше, чем у сорго, что характерно для растений с С3 типом фотосинтеза. Засуха не оказывала достоверного влияния на содержание пигментов в листьях сорго, однако отмечена тенденция снижения количества всех изученных пигментов. Негативное влияние нефти было более выраженным (рис. 4а). Следует отметить, что влияние нефти как на хлорофилл *а*, так и *б* компенсировалось условиями пониженной влажности. Содержание каротиноидов в листьях сорго менялось незначительно.

На фотосинтетический аппарат люцерны условия засухи не влияли (рис. 4б). Выраженное негативное воздействие оказывало нефтяное загрязнение как при оптимальной, так и при пониженной влажности, снижая уровень хлорофиллов и каротиноидов почти вдвое.

При определении соотношения содержания хлорофиллов *а/б* в листьях сорго и люцерны было установлено, что этот показатель снижался: у сорго лишь при одновременном

воздействии обоих стрессовых факторов (засухи и загрязнения) с 2,76 до 2,38 (рис. 4в), а у люцерны только при нефтяном загрязнении не зависимо от уровня влажности – с 2,38 до 2,16 и 2,19 (рис. 4в).

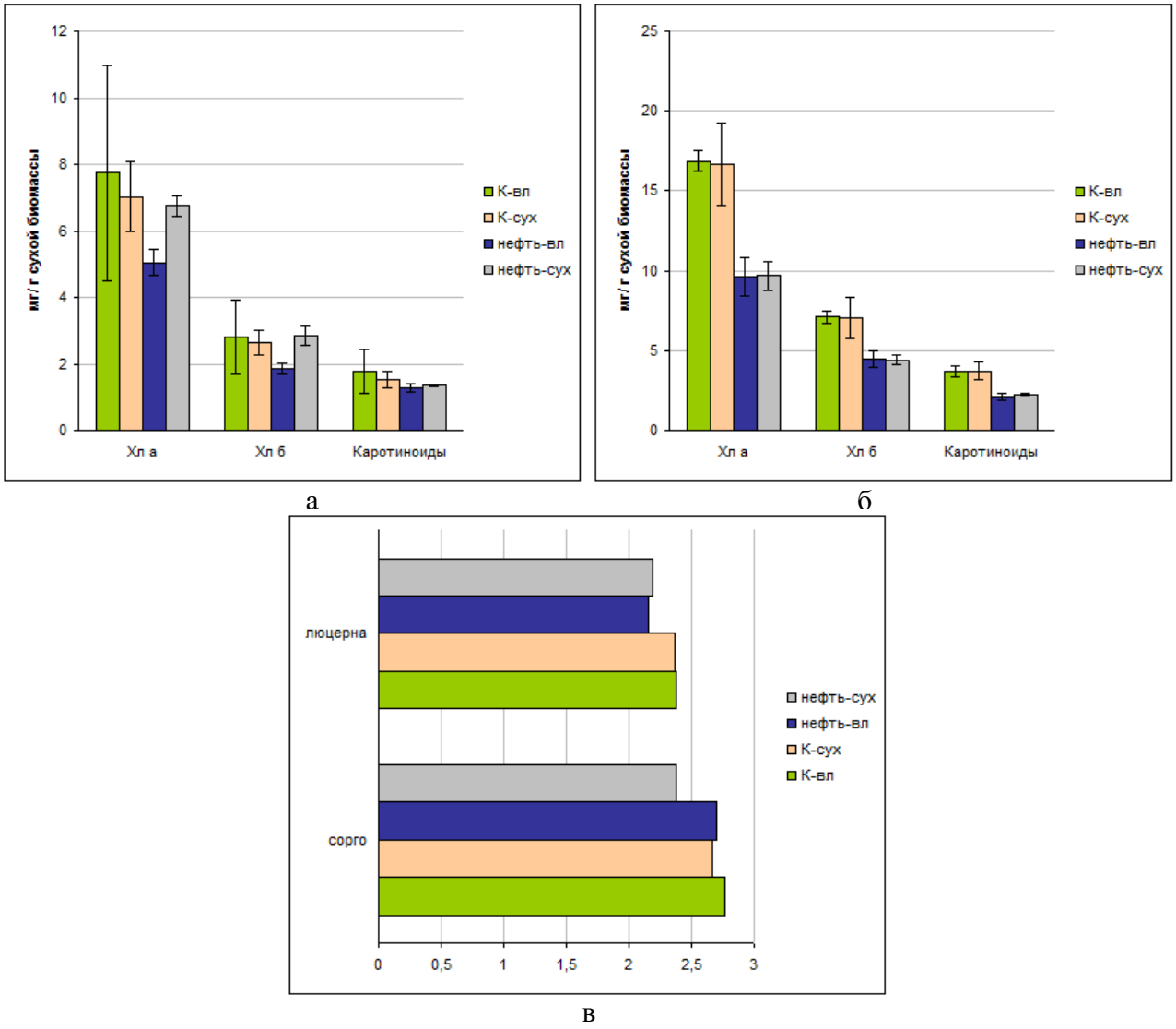


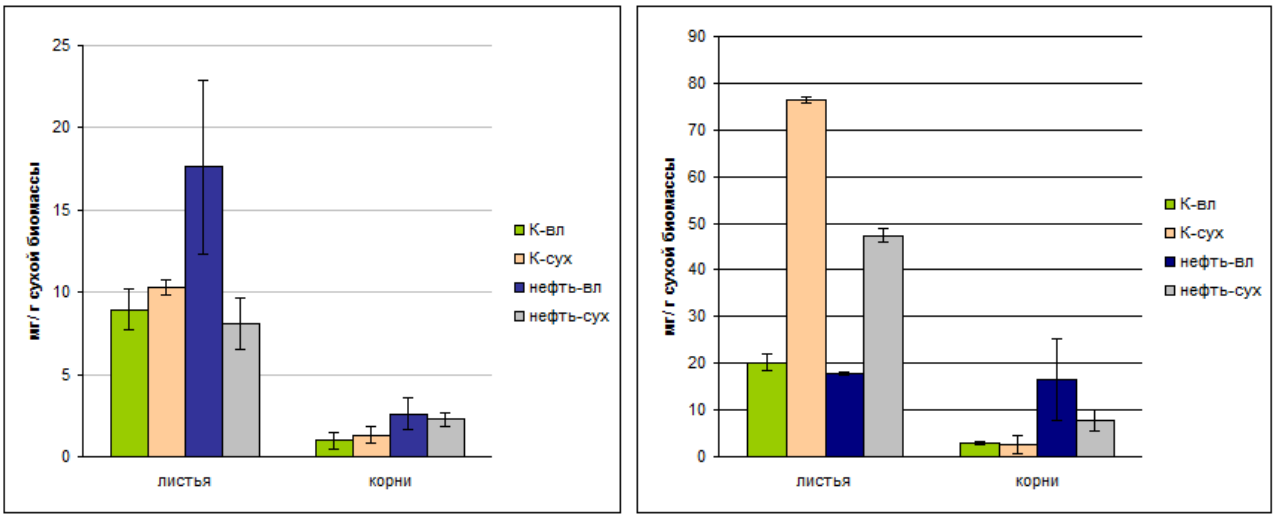
Рис. 4. Содержание хлорофиллов и каратиноидов в листьях сорго (а), люцерны (б) и соотношение хлорофиллов *а* и *б*

Стрессовые условия могут влиять на скорость и характер синтеза белка в тканях растений. Известно, что белки в растительных клетках выполняют структурные, биокаталитические, регуляторные, защитные функции. По мнению некоторых авторов для детоксикации нефтяного загрязнения растениям требуется повышенная продукция аминокислот и белков [Peretieno-Clarke and Achuba, 2007]. Однако есть и противоположные данные. Так, в тканях люцерны в засушливых условиях наблюдалось снижение продукции белка [Liu et al., 2018]. В нашем эксперименте получены результаты, различающиеся для исследуемых растений (рис. 5). В листьях сорго в чистом контроле засуха незначительно повышала содержание белка, нефтяное загрязнение в условиях нормальной влажности приводило почти к его двукратному увеличению, которое практически полностью нивелировалось пониженной влажностью (рис. 5а). В корнях наблюдалась сходная тенденция при менее выраженном отклике на присутствие нефти.

В случае люцерны отмечались иные реакции: в листьях существенный рост концентрации белка обнаруживался под влиянием засушливых условий – почти в 4 раза в

чистых и в 2,4 раза в присутствии загрязнения (рис. 5б). Влияние нефти проявлялось только при дефиците воды. В корнях содержание белка увеличивалось в 5,7 раз в условиях загрязнения при оптимальной влажности, засуха несколько снижала этот показатель до 2,7 раз, однако сохраняла его выше в сравнении с чистым сухим контролем.

Таким образом, общая тенденция такова, что нефтяное загрязнение повышает содержание белка в тканях растений, которое в разной степени нивелируется недостатком воды. Исключением являются листья люцерны с обратной реакцией, что указывает на особенности развития этого растения.



а б

Рис. 5. Продукция белка в корнях и листьях сорго (а) и люцерны (б).

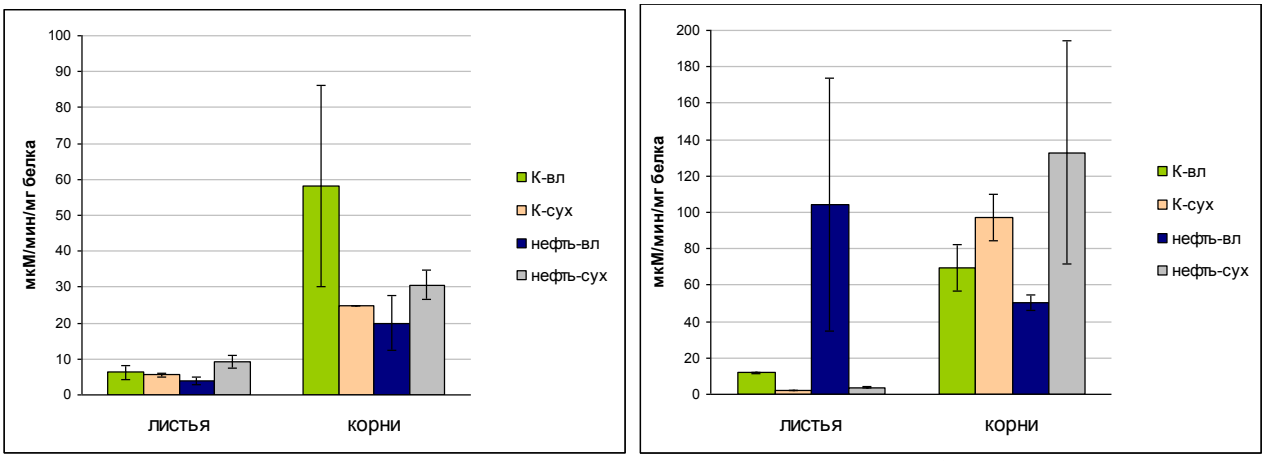
Неблагоприятные условия увеличивают образование активных форм кислорода (АФК), таких как перекись водорода, супероксид- и гидроксилрадикалы. АФК могут выступать в качестве вторичных мессенджеров, участвующих в пути передачи сигнала стресса, но их чрезмерная продукция может вызывать окислительный стресс, который повреждает растения, окисляя фотосинтетические пигменты, мембранные липиды, белки и нуклеиновые кислоты. Чтобы контролировать уровни АФК, растения имеют неферментативные и ферментативные антиоксидантные системы для защиты клеток от окислительного повреждения [Mittler, 2002; Mattos and Moretti, 2015]. Способность поглощать АФК и уменьшать их повреждающее действие может коррелировать с устойчивостью растений к засухе [Abedi and Pakniyat, 2010]. Известно, что растения способны осуществлять ферментативную деградацию органических токсикантов путем характерных для растительных клеток метаболических превращений [Schaffner et al., 2002; Schroder, 2008]. Существует точка зрения, согласно которой основная часть ксенобиотиков окисляется именно пероксидазой [Kvesitadze et al., 2009]. В пользу этой гипотезы свидетельствует широкое распространение пероксидаз в компонентах растительной клетки и за ее пределами, их низкая субстратная специфичность, сродство к ксенобиотикам разной химической структуры и другие [Kvesitadze et al., 2009]. Таким образом, пероксидазы в условиях загрязнения защищают растения от окислительного стресса и могут участвовать в деградации органических поллютантов, попадающих внутрь растения. В связи с этим нами детектировалась активность внутриклеточных пероксидаз в листьях и корнях сорго и люцерны.

Прежде всего, следует отметить, что у исследованных нами растений активность пероксидаз в корнях была существенно выше, чем в листьях, что связано с выполняемыми этими ферментами функциями.

В листьях сорго при уменьшении влажности незначительно (10%) снижалась активность пероксидаз (рис. 6а), негативное влияние загрязнения было более выраженным (около 40%), при комбинированном воздействии стрессовых факторов пероксидазная активность увеличивалась почти на 50%. Изменения этого показателя в корнях были несколько иными: снижение под влиянием засухи (на 57%) и, в большей степени, загрязнения (66%), при их одновременном воздействии негативный эффект был менее выраженным (47%).

Активность пероксидаз листьев люцерны резко снижалась в условиях пониженной влажности – в 5,7 раз. Присутствие нефти при нормальной влажности, напротив, повышало этот показатель на порядок. Однако в условиях засухи загрязнение не оказывало такого влияния – пероксидазная активность снижалась в 3,1 раза (рис. 6б). В корнях засушливые условия, напротив, способствовали повышению активности фермента как в чистых, так и загрязненных вариантах (на 40 и 90% соответственно). Нефтяное загрязнение при оптимальной влажности, в отличие от листьев, приводило к снижению пероксидазной активности на 28%.

Следует отметить, что влияние засухи на пероксидазную активность зависит от фазы роста растения. Так, для растений нута было выявлено уменьшение активности ферментов при снижении влажности в вегетативной фазе роста, и увеличение во время цветения [Mafakheri et al., 2011], при этом пероксидазам отводится роль основного антиоксидантного фермента в условиях оксилительного стресса, вызванного засухой. В условиях загрязнения пероксидазы наряду с антиоксидантными функциями могут метаболизировать продукты частичного окисления поллютантов, поглощенные растениями [Kvesitadze et al., 2009]. Изменения активности пероксидаз в листьях и корнях изученных нами растений в условиях загрязнения могли быть связаны с поглощением и перемещением по растению компонентов нефти, подвергшихся трансформации в ризосфере.



а б

Рис. 6. Активность пероксидаз в листьях и корнях сорго (а) и люцерны (б).

Выбор исследованных нами растений обоснован тем, что и сорго, и люцерна обладают высоким фиторемедиационным потенциалом [Panchenko et al., 2017; Banks et al., 2003]. Также оба растения отличаются высокой устойчивостью к засушливым условиям

окружающей среды [Hanson et al., 2015; Adiyasuren et al., 2016]. В этой связи было интересно сравнить их эффективность для очистки почвы в режиме пониженной влажности.

При исходном уровне загрязнения 15 г/кг почвы уровень извлечения нефти при экстракции составил 13 г/кг. Установлено, что в почве без растений режим влажности на элиминацию нефти влиял не существенно: во влажной почве в конце эксперимента ее остаточная концентрация составила около 11, а в засушливых условиях – почти 12 г/кг, что составляло 81,5 и 91% от исходной, однако разница между этими вариантами не была достоверной (рис. 7). В условиях оптимальной влажности наиболее эффективно разложение нефти осуществлялось в ризосфере сорго, убыль загрязнителя составляла 33,1%. Ограничение влажности снизило этот показатель на 4%. В случае люцерны в засушливых условиях были получены результаты, практически не отличающиеся от оптимальных условий – 21,5%.

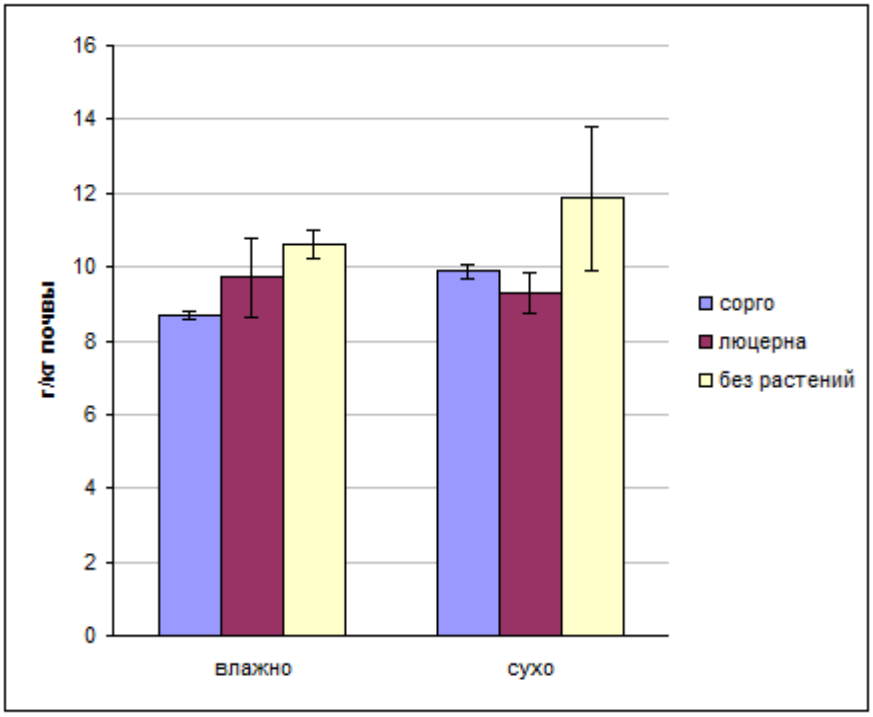


Рис. 7. Влияние условий культивирования на остаточное содержание нефти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам анализа влияния на растения двух стрессовых факторов – нефтяного загрязнения и условий ограниченной влажности можно заключить, что на ростовые показатели *Sorghum bicolor* и *Medicago falcata* основное влияние оказывало нефтяное загрязнение, снижая накопление и подземной и, в большей степени, наземной биомассы. К условиям засухи более чувствительным было сорго: вес побегов в чистой почве снижался на 22, а корней на 7,5%, нефтяное загрязнение нивелировало негативный эффект засухи. На развитие побегов люцерны пониженная влажность не влияла, масса корней увеличивалась на 70%, на основании чего можно предположить, что за счет роста корневой биомассы растение улучшало свое обеспечение водой.

На содержание фотосинтетических пигментов в листьях обоих растений негативное влияние оказывало нефтяное загрязнение. Оно повышало содержание белка в тканях растений, которое в разной степени нивелировалось недостатком влаги. Исключением

являлись листья люцерны, где концентрация белка почти не отличалась от контрольных значений при загрязнении, но в разы увеличивалась в сухих условиях, что указывает на особенности развития этого растения.

Уменьшение влажности и нефтяное загрязнение неоднозначно влияли на активность пероксидаз в корнях и листьях, что может быть связано с комбинированной функцией пероксидаз: защиты от окислительного стресса, вызванного неблагоприятными условиями, а также ферментативной деградации токсикантов в тканях растений.

Степень элиминации загрязнителя в почве различалась в зависимости от влажности и используемого растения. В условиях засухи элиминация нефти в почве без растений снизилась на 10%. Под растениями понижение влажности сказалась только в случае сорго, снизив это показатель на 4% – 33 и 29% соответственно в условиях оптимальной и пониженной влажности. В случае люцерны в засушливых условиях были получены результаты, практически не отличающиеся от оптимальных – 21,5%.

Таким образом, смоделированная в условиях вегетационного эксперимента засуха существенно и в разной степени изменила отдельные показатели физиолого-биохимического статуса исследованных растений и понизила фиторемедиационный потенциал сорго, не оказав влияния на этот показатель для люцерны.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-05062.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина М.М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. М.: Высш.шк., 1975. 392 с.
2. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов. Практическое руководство: 2-е изд., перераб. и доп. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 270 с.
3. Звягинцев Д.Г. Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. 203 с.
4. Чекалов В.П. Способ определения численности углеводородокисляющих бактерий // А.С. СССР № 1629318. 1991. Бюл. № 7. С. 63
5. Abedi T, Pakniyat H. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oil seed rape (*Brassica napus* L.) // Czech J. Genet. Plant Breed. 2010. V. 46 (1). P. 27–34. DOI: 10.17221/67/2009-cjgpb
6. Adiyasuren M., Altantsetseg K., Uuganzaya M., Enkhchimeg V. Comparative analysis of drought tolerance of *Medicago* L. plants under stressed conditions // Mongolian Journal of Agricultural Sciences. 2017. V.19 (03). P. 32-40. DOI: 10.5564/mjas.v19i3.733
7. Banks M.K., Kulakow P., Schwab A.P., Chen Z., Rathbone K. Degradation of Crude Oil in the Rhizosphere of *Sorghum bicolor* // International Journal of Phytoremediation. 2003. V. 5(3). P. 225–234. DOI: 10.1080/713779222
8. Baruah P., Saikia R.R., Baruah P.P., Deka S. Effect of crude oil contamination on the chlorophyll content and morpho-anatomy of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk // Environ Sci Pollut Res. 2014. V. 21. P. 12530–12538. DOI: 10.1007/s11356-014-3195-y
9. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. V. 72. V. 1-2. P. 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

10. Criquet S., Joner E., Leglize P., Leyval C. Anthracene and mycorrhiza affect the activity of oxidoreductases in the roots and the rhizosphere of lucerne (*Medicago sativa* L.) // Biotechnol. Lett. 2000. V. 22. P. 1733-1737. DOI: 10.1023/A:1005604719909
11. Emengini E.J., Blackburn G.A., Theobald J.C. Discrimination of plant stress caused by oil pollution and waterlogging using hyperspectral and thermal remote sensing // Journal of Applied Remote Sensing. 2013. V. 7. P. 073476. DOI: 10.1117/1.JRS.7.073476
12. Guo Y., Yu H., Kong D., Yan F., Liu D., Zhang Y. Effects of gradual soil drought stress on the growth, biomass partitioning, and chlorophyll fluorescence of *Prunus mongolica* seedlings // Turkish Journal of Biology. 2015. V. 39. P. 532-539. DOI: 10.3906/biy-1412-20
13. Hanson A., Xu L., Boe A., Johnson P.S., Gates R.N., Wu Y. Identification and characterization of drought-tolerant alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *falcata*) germplasm // Proceedings of the South Dakota Academy of Science. 2015. V. 94. P. 263-272. URL: https://sdaos.org/wp-content/uploads/pdfs/2015/2015%20proceedings%20full.pdf
14. Ionescu (Ţopa) S., Mihăilescu S., Strat D., Gheorghe I.F. Effects of oil pollution on seed germination and seedling emergence toxicity // Romanian Biotechnological Letters, 2018 DOI: 10.26327/RBL2018.242
15. Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Al-Juburi H., Somasundaram R., Panneerselvam R. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition // Int. J. Agric. Biol. 2009. V. 11(1). P. 100-105.
16. Kvesitadze E., Sadunishvili T., Kvesitadze G. Mechanisms of organic contaminants uptake and degradation in plants // World Academy of science, Engineering and Technology. 2009. V. 55. P.458-468.
17. Liu Y., Wu Q., Ge G., Han G., Jia Y. Influence of drought stress on alfalfa yields and nutritional composition // BMC Plant Biology. 2018. V. 18. P.13. DOI: 10.1186/s12870-017-1226-9
18. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P.C., Sohrabi Y. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars // Australian Journal of Crop Science. 2011. V. 5(10). P. 1255-1260.
19. Mattos L.M., Moretti C.L. Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes // Enz Eng. 2015. V. 5(I). 1. P. 136. DOI: 10.4172/2329-6674.1000136
20. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends in Plant Science. 2002. V. 7. P. 405–410. DOI: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9
21. Niku-Paavola, M.-L., Karhunen, E., Salola, P., Raunio, V. Ligninolytic enzymes of white-rot fungus *Phlebia radiate* // Biochem. J. 1988. V. 254. P. 877-884. DOI: 10.1042/bj2540877
22. Olubodun O.S., Eriyamremu E.G. Effect of different crude oil fractions on growth and oxidative stress parameters of maize radicle // International Journal of Plant & Soil Science. 2013. V. 2(1). P. 144-154.
23. Panchenko L., Muratova A., Turkovskaya O. Comparison of the phytoremediation potentials of *Medicago falcata* L. and *Medicago sativa* L. in aged oil-sludge-contaminated soil // Environ Sci Pollut Res Int. 2017, V. 24(3). P. 3117-3130. DOI: 10.1007/s11356-016-8025-y
24. Peretieno-Clarke B., Achuba F. Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings // Plant Pathology Journal. 2007. V. 6 (2). P. 179-182.
25. Schaffner A., Massner B., Langebartels C., Sandermann H. Genes and enzymes for in-planta phytoremediation of air, water and soil // Acta Biotechnol. 2002. V. 22(1-2). P. 141-152.
26. Schroder P. Exploiting plant metabolism for the phytoremediation of organic xenobiotics // Methods in biotechnology, vol.23: Phytoremediation: methods and reviews / Ed. N. Willey. - Humana Press, Totowa, NJ, 2008. P. 251-263. DOI: 10.1007/978-1-59745-098-0_20