

## Генно-инженерный подход в решении «неразрешимых» задач ремедиации почв

© 2018. А. А. Гулевич<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с., Е. Н. Баранова<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с.,  
И. Г. Широких<sup>2, 3, 4</sup>, д. б. н., профессор, в. н. с.,  
А. А. Широких<sup>2, 3</sup>, д. б. н., профессор, в. н. с.,

<sup>1</sup> ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии,  
127550, Россия, г. Москва, Тимирязевская, 42,

<sup>2</sup> Федеральный научный аграрный центр Северо-Востока,  
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166 а,

<sup>3</sup> Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36

<sup>4</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,  
e-mail: greenpro2007@rambler.ru, irgenal@mail.ru

Сельскохозяйственное разведение растений на протяжении многих веков позволило человеческой цивилизации значительно увеличить численность населения планеты. Однако в результате хозяйственной деятельности многие её районы превратились в безводные пустыни, соляные пустоши, отвалы и терриконы, остающиеся после добычи полезных ископаемых. Практикуемые многие десятилетия классические технологии рекультивации так и не привели к эффективному решению возникших проблем, а гуманистические ценности не позволяют пойти по пути ограничения роста численности населения. В настоящем обзоре рассматриваются новые подходы, которые способны значительно повысить эффективность очистки и восстановления свойств почв, благодаря комбинативному применению нескольких биотехнологий: генетической инженерии растений и микроорганизмов; нанотехнологий рекультивации и создания искусственных аналогов почвы, использованию новых геопластических материалов для создания искусственного ландшафта. Обсуждается принципиальная возможность создания искусственных коллабораций растений и микроорганизмов на основе потенциально устойчивых к загрязнению, способных к эффективному взаимодействию организмов.

С применением новых подходов открываются и новые возможности для восстановления экологического состояния территорий, подвергшихся деградации за тысячелетия существования человечества.

**Ключевые слова:** деградация почв, загрязнение отходами, экобиотехнология, фиторемедиация, ризосферные микроорганизмы, генная инженерия, реконструкция ландшафта.

## Genetic engineering in solving “unsolvable” problems of soil remediation

© 2018. А. А. Gulevich<sup>1</sup>, E. N. Baranova<sup>1</sup>,  
I. G. Shirokikh<sup>2, 3, 4</sup>, A. A. Shirokikh<sup>2, 3</sup>,

<sup>1</sup> All-Russia research institute of agricultural biotechnology,  
42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,

<sup>2</sup> Federal scientific agricultural center of the North-East,  
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

<sup>3</sup> Vyatka State University,  
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>4</sup> Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,  
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Republic of Komi, Russia, 167982,  
e-mail: greenpro2007@rambler.ru, irgenal@mail.ru

Many centuries of cultivation of plants allowed human civilization to significantly increase the population of the planet. However, as a result of economic activity, many areas have turned into waterless deserts, salt heaths, dumps and waste pits that remain after mining. Classical technology has been developed for many decades, but this has not led to an effective solution of the problems that have arisen, and humanistic values do not allow for the reduction of the population.

In this review, new approaches are considered that can significantly improve the efficiency of remediation. The solution involves combining biotechnologies: genetic engineering of plants, fungi and microorganisms; in the compartment with the application of nanotechnology recultivation and creation of artificial analogues of soil and new materials of geoplastics for the creation of an artificial landscape. The principal possibility of creation of plant complexes and microbes-rescuers on the basis of potentially resistant organisms capable of effective interaction is considered. The review deals with the genetic modification of plant and bacterial organisms that allow to accelerate in principle the formation of biogenic matter on disturbed and remediated soils, including man-made soils. This can restore the ecology of the abandoned lands destroyed by mankind over the centuries of its existence.

**Keywords:** soil degradation, waste pollution, ecobiotechnology, phytoremediation, rhizosphere microorganisms, genetic engineering, landscape reconstruction.

### Хозяйственная деятельность человека и деградация земель

Хозяйственная деятельность человека с древнейших времён была сосредоточена в районах с высоким уровнем доступности воды, с благоприятными для земледелия климатическими условиями, обеспечивающими высокую и стабильную продуктивность сельскохозяйственных угодий. Плодородные земли – обязательное условие расцвета человеческих цивилизаций Древнего мира. Их экономическое процветание обеспечивалось устойчивым спросом на продовольствие и другие продукты сельскохозяйственного производства, которые позволяли получать необходимое как бы ниоткуда, бесплатно. Поэтому почвенный ресурс высоко ценился, был и остаётся предметом множества войн, а также объектом колонизации, приводящей к хищническому истреблению растительности, в частности, лесов [1–4]. Формирование хорошо гумусированных плодородных почв происходило в бассейнах крупных рек, особенно в их дельтах, в результате сноса ила с территорий, расположенных выше по течению [5, 6]. Геоморфологические данные свидетельствуют, что уже в Древнем мире почвы большинства сельскохозяйственных угодий подвергались эрозии, этот процесс продолжается и в настоящее время [7]. В связи с интенсивной деятельностью человека огромные площади земель не только выведены из хозяйственного оборота, но и являются, на сегодняшний день, практически бесплодными [8]. Ежегодно мировое сельское хозяйство недополучает 75 млрд тонн растениеводческой продукции в результате ветровой и водной эрозии; убытки оцениваются суммой около 400 млрд долл. США в год [9]. Места, традиционно считающиеся колыбелью человечества, ныне представляют собой пустынные и безжизненные пространства [10].

Развитие человеческой цивилизации создало и ещё несколько прецедентов ан-

тропогенной деградации почв. Бурное развитие сельского хозяйства и использование ирригации, как одного из видов мелиорации, привело к росту вторичного засоления, делая прежде плодородные почвы всё менее плодородными, а часто – даже безжизненными. Добыча полезных ископаемых открытым способом, зачастую, ведёт к появлению «лунных ландшафтов» вокруг шахт и перерабатывающих комбинатов. Огромные площади, занятые карьерами, отвалами после добычи полезных ископаемых, представляют серьёзную опасность и восстановление растительности на территориях, примыкающих к шахтам и предприятиям по переработке горнорудного сырья, составляет отдельную экологическую проблему. Постоянной заботой экологов остаётся уровень загрязнения почв тяжёлыми металлами (ТМ) [11].

К полной или частичной потере почвенного плодородия ведёт процесс, известной под термином «дегумификация». Учитывая, что в природных условиях слой гумуса в 1 см формируется в течение ста лет, неудивительно, что именно эта составляющая почвенного плодородия наиболее уязвима, и утрата гумуса приводит к существенной деградации почвы.

Деградация почв, в т. ч. пригодных для земледелия, является многоплановым процессом, затрагивающим все аспекты существования ландшафтных систем [10]. Принято различать физическую и химическую деградацию почвы. К первой относят изменение почвенного профиля, приводящее к значительному изменению макро- и микро-рельефа, ухудшению физических свойств грунта и потере естественной способности почвы к восстановлению своих свойств (супрессивности). К таким последствиям ведут ветровая и водная эрозия, а также различного рода антропогенные воздействия, приводящие к образованию оврагов, пустошей, участков с высоким уплотнением поверхностного слоя, мест внутренней эрозии, например,

в результате неправильного дренирования. Вторая – химическая деградация – связана с изменением свойств почвенного раствора, что выражается в сокращении содержания гумусовых веществ, изменении кислотно-щелочного баланса, а также минерального и солевого состава. В результате этого происходят процессы выщелачивания, засоления, осолонцевания, приводящие к изменению водоудерживающей способности, механических свойств почвы и, в целом, утрате почвой своего главного атрибута – плодородия.

На сегодняшний день примерно 33% мировых почвенных ресурсов деградировано вследствие физической и химической эрозии, засоления, закисления, загрязнения солями ТМ, экотоксикантами, остаточными пестицидами, вымывания органических и минеральных веществ и других процессов, связанных с нерациональной практикой управления земельными ресурсами [12]. Согласно прогнозам, общая площадь пахотных и плодородных земель на душу населения к 2050 г. составит только четверть от уровня 1960 г., и это в то время, когда в мире ежедневно более 805 млн человек сталкиваются с голодом или недоеданием [8, 13]. Рост численности населения в последующие 35 лет потребует увеличения производства продуктов питания примерно на 70% [14]. Кроме того, в связи с радикальными изменениями климата в настоящее время, приоритетом становится восстановление растительного покрова на территориях, где были утрачены леса, травянистый покров, а затем и почва. По-прежнему актуальной остаётся задача укрепления склонов оврагов и осыпей от разрушения. Эти и другие, порождаемые деградацией почв, проблемы, несмотря на усилия различных исследовательских групп, на практике остаются так же далеки от своего решения, как и ранее [13]. Только внедрение новых технологий и поиск нетрадиционных решений может остановить процесс утраты почвой плодородия, а при разумном подходе – повернуть его вспять [14].

#### **Роль микробно-растительных коллабораций в восстановлении утраченного плодородия почв**

Для непригодных к использованию земель характерны нарушения, связанные с изменением уровня обводнённости, газового состава почвы, наличия и доступности минеральных элементов питания и гумуса, реакции среды (рН) и определяемых этими факторами общего количества и соотноше-

ния отдельных групп почвенной микробиоты, включая как полезные, симбиотические микроорганизмы, так и фитопатогены.

Микроорганизмы могут оказывать как прямое, так и опосредованное положительное влияние на рост растений и их способность сопротивляться негативным факторам окружающей среды. Одни из них за счёт азотфиксации способствуют улучшению азотного питания растений, другие повышают для него доступность фосфора или толерантность к абиотическим и биотическим стрессам, благодаря присутствию эндофитных микробов. Бактерии могут также препятствовать поражению растений патогенами, продуцируя защитные биоплёнки или антибиотики, действующие как биоконтролирующие агенты, или разлагать продуцируемые растениями или микробами соединения в почве, которые в противном случае оказывали бы аллелопатическое действие или даже были автотоксичными [15].

Для привлечения полезных микроорганизмов служат выделяемые корнями различные вещества – экссудаты. Корневая экссудация обуславливает существенно более высокую численность микроорганизмов в прикорневой зоне по сравнению с почвой, свободной от корней. При симбиотических взаимодействиях растения и микроорганизмы могут оказывать существенную поддержку друг другу и использовать системы биосинтеза партнёров в целях регуляции своего онтогенеза и метаболизма [16]. Многие метаболиты (такие, как 1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота – дезаминаза, индолил-3-уксусная кислота, пиовердин, органические кислоты – лимонная, яблочная и щавелевая и др.), производимые ризосферными микроорганизмами (например, способствующими росту растений бактериями – PGPR), участвуют в протекающих в ризосфере биогеохимических процессах, включая транслокацию, трансформацию, хелатирование, иммобилизацию ТМ [17], снижают токсичность и способствуют удалению через устьица органических поллютантов [18], обеспечивая, в конечном счёте, деградацию загрязнителей и фиторемедиацию почвы [19].

Действительно, способность осуществлять процессы деградации большинства загрязнителей была изучена, в первую очередь, у бактерий и микроскопических грибов [20]. Однако и у высших растений существуют сходные метаболические пути, обеспечивающие разложение и трансформацию эко-

токсикантов [21]. Это подтверждено давней практикой использования водных растений для очистки загрязнённых почв и водоёмов, составившей основу их применения в современных технологиях очистки коммунальных и промышленных стоков. Растения называют «зелёной печенью», что отражает их детоксикационные возможности [22]. Вопреки имеющимся практическим результатам, фиторемедиация до сих пор считается зарождающейся технологией, коммерческое применение которой по масштабу ещё не сопоставимо с аналогичными технологиями, основанными на микробных процессах. Только недавно для повышения эффективности фиторемедиации загрязнённых почв было предложено совместное использование растений и бактерий [23–25].

Разработка подходов, основанных на управлении взаимодействием между почвенным субстратом, растениями и почвенной микробиотой, по-видимому, – единственно реальная возможность восстановления земель, утраченных человечеством в результате длительного периода нерационального и неразумного землепользования.

**Методологические подходы к биореконструкции утраченных и изменённых ландшафтов**

Разработка моделей биореконструкции почв, формирование которых занимало миллионы лет, представляет собой воссоздание наиболее эффективных естественных стратегий. В ряде случаев восстановительный процесс приходится начинать не с почвы, частично утратившей свои свойства, а с субстрата, зачастую обладающего высокой токсичностью, низкой или, наоборот, чрезмерно высокой влаго- и газодерживающей способностью, неблагоприятным механическим составом и практически не способного к естественному формированию почвы. Поэтому подходы к биореконструкции утраченных растительных сообществ принципиально отличаются от ремедиации территорий, подверженных лишь частичной деградации или эрозии, на которых, тем не менее, сохранилась почва, пусть и утратившая плодородие и загрязнённая токсикантами.

При создании *de novo* некоего аналога почвы, прежде всего, необходимо предусмотреть создание или модификацию самого субстрата, а также эффективную систему для сохранения его целостности и свойств. Для коррекции механических качеств субстратов предлагается использовать новые

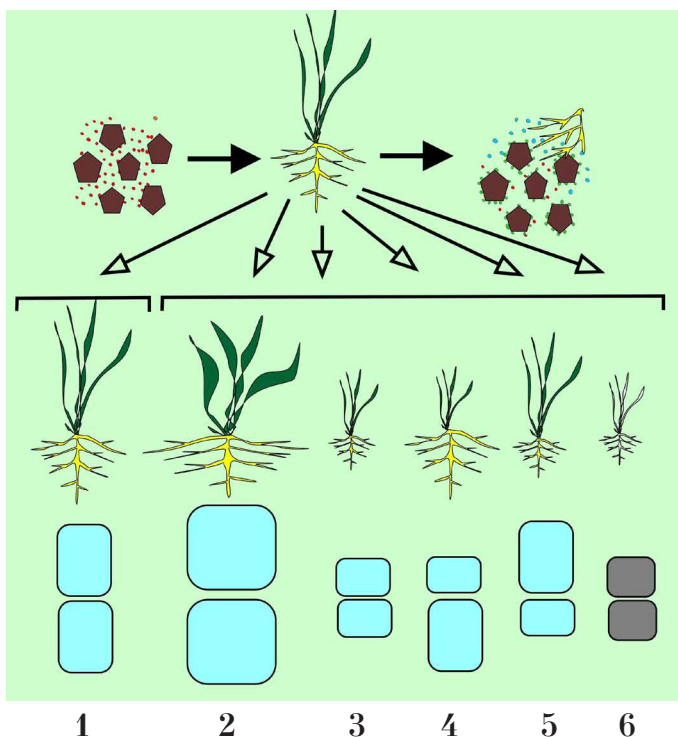
технологии регулируемого увлажнения, нанотехнологические приёмы корректировки поверхности, и даже создание новых форм рельефа посредством почвенной геопластики. Особое внимание уделяется созданию эффективных искусственных субстратов на основе природных и синтетических материалов: перлит, минвата, торфо-песчаные смеси, кокосовая стружка, продукты переработки целлюлозы (опилок, солома, переработанная бумага) [26].

Для увеличения почвенного плодородия огромная индустрия производит сегодня различные природные и синтетические удобрения, биологические добавки и регуляторы роста растений и микроорганизмов, предлагается ряд штаммов микроорганизмов, потенциально полезных для культивирования растений [27]. В качестве защиты почвы от дегумификации не утратили своего значения различные виды перегноя, сапропеля, искусственных субстратов, подобных «терра прета» – антропогенному грунту, получаемому, на основе активированного древесного угля [28].

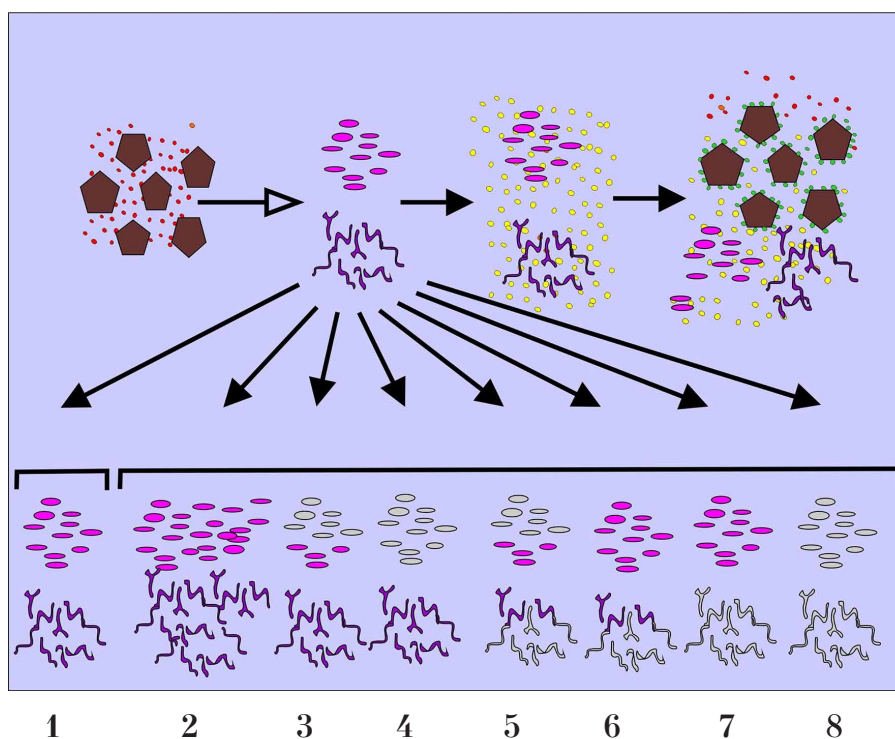
Кроме того, для реконструкции или для восстановления лесного, степного или смешанного биотопа необходимо осуществить подбор растений, обеспечивающих максимальное поступление в почву биомассы, за счёт листового и корневого опада и выделения корневых экссудатов. При культивировании в условиях естественного или искусственного субстрата растение взаимодействует с лабильной системой, включающей стабильные конгломераты и мобильные элементы (рис. 1). Выделяя разнообразные экссудаты, корневая система обладает способностью модифицировать эту систему, воздействовать на ту и другую её составляющие. Мобильные элементы, при взаимодействии с растением, могут не оказывать влияния на его надземную и подземную часть (1), вызывать стимуляцию роста (2) или, наоборот, угнетение растения в целом (3) или его отдельных органов и тканей (4, 5), вызывая изменение размеров клеток, купируя их деление и рост растяжением, или, при отсутствии механизмов адаптации, приводить к гибели растения (6).

Особое внимание, даже при восстановлении древесных и кустарниковых биотопов, нужно уделять однолетним и многолетним травянистым растениям, корневой опад которых вносит наибольший вклад в баланс органического вещества почвы. При выборе

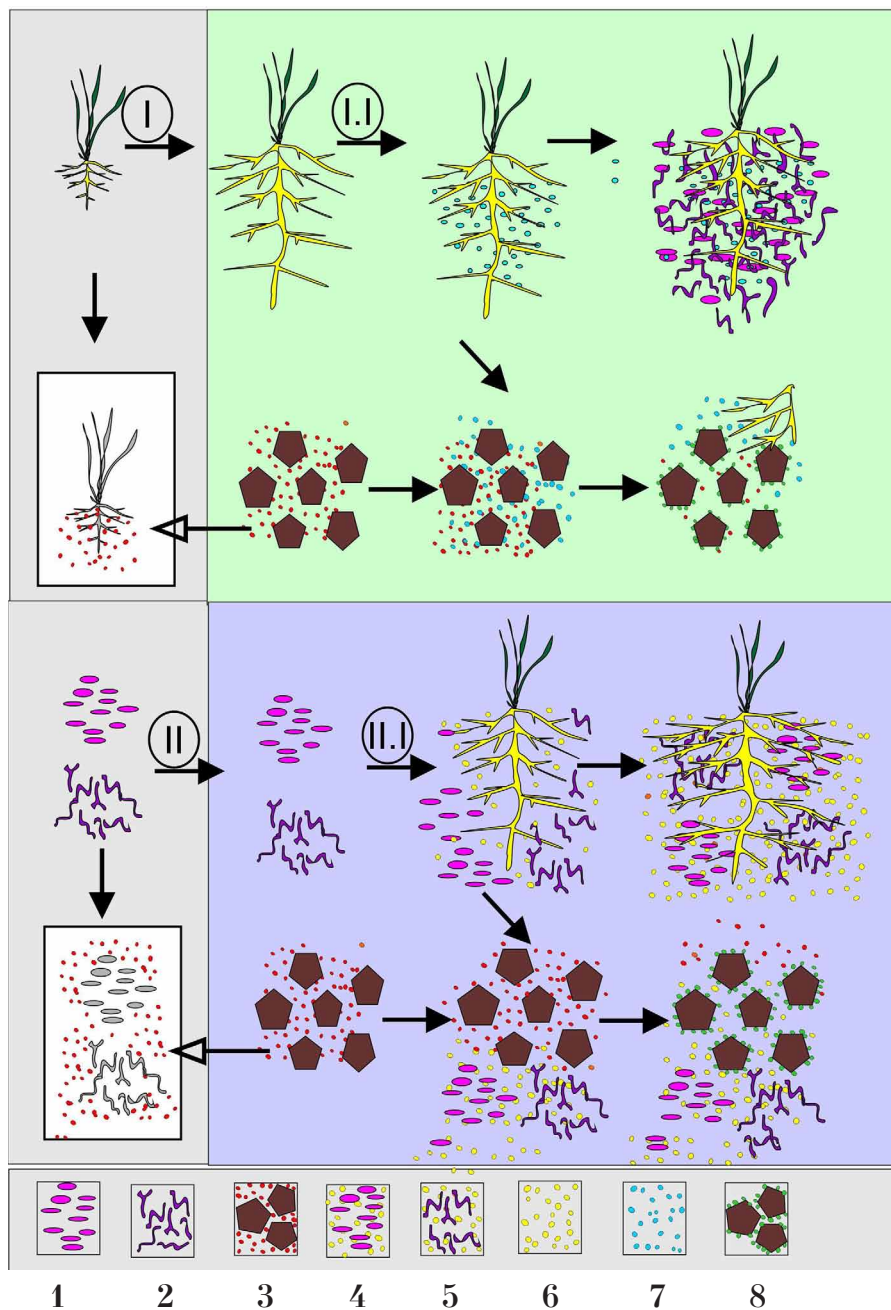
**А. А. ГУЛЕВИЧ, Е. Н. БАРАНОВА, И. Г. ШИРОКИХ, А. А. ШИРОКИХ**  
**«ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЙ ПОДХОД В РЕШЕНИИ**  
**“НЕРАЗРЕШИМЫХ” ЗАДАЧ РЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ»**



**Рис. 1. / Fig. 1.** Схема взаимодействия при культивировании растений в условиях естественного или искусственного субстрата. Пояснения см. в тексте / Scheme of interaction during cultivating plants in conditions of natural or artificial substrate. For explanations, see the text



**Рис. 2. / Fig. 2.** Схема взаимодействия микроорганизмов в условиях естественного или искусственного субстрата. Пояснения см. в тексте / Scheme of interaction of microorganisms in conditions of natural or artificial substrate. For explanations, see the text.



**Рис. 3. / Fig. 3.** Подбор и создание устойчивых растений (I) и микроорганизмов (II) к ожидаемым условиям на территории, предполагаемой для ремедиации. Модификация растений с целью ремедиации почвенного субстрата и привлечения микроорганизмов-коллабораторов (I.I). Модификация представителей микробного сообщества с целью ремедиации почвенного субстрата и улучшения развития корневой системы растений-коллабораторов (II.I). В порядке расположения: бактерии (1), мицелиальные микроорганизмы (2), почвенные элементы (3), бактериальные метаболиты (4), метаболиты мицелиальных микроорганизмов (5), почвенные ферменты (6), экссудаты растений (7), модифицированные почвенные элементы (8) / Selection and creation of plants (I) and microorganisms (II) resistant to the expected conditions in the territory intended for remediation. Modification of plants for the purpose of remediation soil substratum and attraction of microorganisms-collaborators (I.I). Modification representatives of the microbial community to remediate the soil substrate and improve development of the root system of plant collaborators (II.I). In order of location: bacteria (1), mycelial microorganisms (2), soil elements (3), bacterial metabolites (4), metabolites of mycelial microorganisms (5), soil enzymes (6), plant exudates (7), modified soil elements (8).

конкретных видов рекомендуется обращать внимание на сельскохозяйственные культуры, так как их налаженное семеноводство позволит избежать многих проблем. К потенциальным растениям-ремедиантам относят ряд видов с высоким адаптивным потенциалом: представителей семейств злаковых, бобовых, сложноцветных, в ряде случаев могут оказаться полезными виды осоковых и крестоцветные.

Не менее важным является воссоздание микробных компонентов почвенной системы, обеспечивающих её нормальное функционирование и устойчивое состояние, переработку и трансформацию органического вещества и формирование гумуса. Очевидно, что микроорганизмы, в связи с разницей функций, тоже должны быть отобраны с учётом их устойчивости к неблагоприятным условиям и могут принадлежать к различным группам одноклеточных (бактерии, дрожжи) и мицелиальных (микромикеты, актиномицеты) организмов. В упрощённом виде схема взаимодействия микроорганизмов при культивировании в условиях естественного или искусственного субстрата представлена на рисунке 2. Продуцируя разнообразные метаболиты, микробное сообщество обладает способностью модифицировать почвенную систему, воздействуя как на её относительно мобильные, так и на стабильные компоненты. При взаимодействии с субстратом микроорганизмы могут не оказывать влияния на соотношение отдельных микробных популяций (1), вызывать стимуляцию роста (2) или угнетение (3) всего микробного сообщества или отдельных популяций микроорганизмов (4–7) или, при отсутствии механизмов адаптации, приводить их к гибели (8).

Способность растений к взаимодействию с микроорганизмами является одной из определяющих в «создании плодородия» *de novo*. Среди культурных растений наиболее перспективными для направленной генетической модификации способности селективировать на корнях микроорганизмов-коллекторов представляются такие виды, как ячмень и люцерна, в силу их относительно простого цитологического статуса и лучшей по сравнению с другими полевыми культурами изученности их геномов. Однако в условиях сильного засоления или заболачивания, очень низких или высоких значений pH, особенно при наличии в почве солей ТМ, при высоких температурах и низкой влажности интерес представляют растения-

экстремофилы, обладающие специальными системами адаптации. Ряд таких растений также являются культурными растениями, выращиваемыми в условиях аридных зон, районах заболачивания, засоления или неблагоприятной кислотности и давно с успехом используется при ремедиации. В том и другом случае для придания устойчивости и пролонгации эффекта необходимо подбирать и/или модифицировать для растений-ремедиантов и комплекс почвенной микробиоты. Микроорганизмы способны, к примеру, повышать приживаемость растений, высаженных на склонах для предотвращения их разрушения; повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам и усиливать их рост [6].

Как среди растений, так и среди микроорганизмов существуют настоящие рекордсмены по скорости роста, устойчивости к засолению, ТМ, засухе и др. неблагоприятным факторам. Их гены кодируют ферменты, открывающие фантастические возможности и перспективы для экофизиологического применения в генетической инженерии. При этом часто вопрос идёт не об изменении генома, а о новых вариантах его регуляции или дополнительном использовании заложенных в нём возможностей. При конструировании эффективного генома ремедианта (растения или микроорганизма) может применяться как внедрение гена организма, который выработал способность выдерживать негативные воздействия, за счёт характерных для него систем регуляции (промоторов, интронов, сигнальных последовательностей и терминаторных районов) [29], так и технологии адресного редактирования генома, в частности CRISPR/Cas9 для растений [30] и бактерий [31]. Технологии редактирования позволяют нейтрализовать негативное действие гена, препятствующего выживанию организма в стрессовых условиях или его более эффективному развитию.

Полагают, что комбинированное применение всех перечисленных приёмов с новыми биотехнологиями, которые позволят управлять возможностями отдельных организмов (как растений, так почвенных грибов и бактерий), на уровне регуляции их геномов, может обеспечить возможность для воссоздания ландшафтов, утраченных в результате предыдущей хозяйственной деятельности.

Современные успехи в генетической инженерии растений и микроорганизмов

предоставляют реальную перспективу для реконструкции в будущем ландшафтов и почв, деградированных в результате хозяйственной деятельности человека. В зависимости от вида повреждения, нарушенные ландшафты значительно различаются по свойствам и могут характеризоваться отсутствием элементов, обеспечивающих удержание воды и растворимых субстратов, экстремальными значениями рН, высокой солёностью, подвижностью токсичных ионов ТМ, неблагоприятным газовым составом и т. д. [32]. В связи с этим попытки создать универсальный вид растения-ремедианта можно считать бесперспективными. Более того, подобный подход чреват получением весьма агрессивного растения – суперсорняка, единственным способом сдерживания которого может быть заранее предусмотренная чувствительность к какому-либо антибиотику или гербициду. Но и в этом случае данный подход был бы крайне рискованным, учитывая, что выращивание ремедианта будет происходить в неконтролируемых условиях. Поэтому при разработке технологических подходов необходимо ориентироваться на адресную контролируемую модификацию всей системы и растений, и микробного сообщества, так как именно их совокупное воздействие может ускорить процессы, которые, в противном случае, займут не одно столетие. Схема, иллюстрирующая подобную стратегию адресной модификации растений и микроорганизмов – коллабораторов, приведена на рисунке 3.

**Применение генной инженерии для модификации корневой системы растений**

Глубоко распространённая в почвенных горизонтах корневая система зерновых злаков является важным условием для получения стабильных урожаев, особенно при их выращивании в засушливых местообитаниях. Благодаря последним достижениям в выяснении функций многих генов, связанных с ростом, дифференцировкой и развитием отдельных элементов корневой системы, удалось с помощью методов генетической трансформации получить растения с измененной архитектурой корневых систем. Наибольшие успехи были достигнуты в работах по генетической модификации риса: при сверхэкспрессии транскрипционных факторов *OsNAC5/9* и *OsMYB2*, рецепторной киназы *PSTOL1*, G-белка, кодируемого геном, ассоциированным с корневой архитектурой (*OsRAA1*), гена разрастания клеточной стенки *OsEXPA8*. В ряде случаев,

которые изменяют архитектуру корня, могут одновременно повышать эффективность поглощения растением фосфора, азота и воды, что приводит к увеличению биомассы и повышению урожая зерна. Так, *PSTOL1* кодирует рецептор-подобную киназу, которая связана с толерантностью к недостатку фосфора у риса [33] и увеличивает корневую биомассу. Интеграция гена *DRO1* в сорт риса с поверхностной корневой системой привела к формированию у трансформанта более глубоко проникающей в почву корневой системы, что обеспечило ему в засушливых условиях повышенную урожайность по сравнению с оригинальным сортом [34].

Другим примером успешного молекулярно-генетического вмешательства является суперэкспрессия цитокининдегидрогеназы *AtCKX3*, которая катализирует необратимую деградацию цитокининов. Когда *AtCKX3* экспрессировался под корнеспецифичным промотором в *Arabidopsis*, то у трансгенных растений возрастала корневая биомасса [35]. Конститутивная экспрессия этого же гена под контролем 35S промотора тоже приводила к повышенному росту корня, но ингибировала рост побега.

Аналогично результатам, продемонстрированным на *Arabidopsis*, конститутивная сверхэкспрессия *HvCKX1* или *HvCKX9* в ячмене сопровождалась замедленным ростом побегов, но усиленным развитием корневой системы. Гетерологичная экспрессия СКХ способствовала повышению у трансформантов толерантности к засухе и увеличению поглощающей способности корней, благодаря чему в условиях засухи все трансгенные линии имели, в сравнении с исходным сортом, более высокую степень обводнённости листьев и характеризовались более высокими показателями урожайности [36, 37].

Сверхэкспрессия транскрипционного фактора NAC пшеницы (*TaRNAC1*) под контролем корнеспецифического промотора, имела результатом увеличенную длину корней и возросшую биомассу, наблюдаемые у растений в начале онтогенеза, и заметное увеличение (на 70% больше, чем у контрольных растений) корневой массы на стадии зрелости. Трансгенные по *TaRNAC1* растения, демонстрировали в условиях недостатка воды большую толерантность к обезвоживанию при обработке полиэтиленгликолем и обеспечивали большую надземную биомассу и зерновую продуктивность, чем растения дикого типа. Эти данные свидетельствуют



о том, что ген *TaRNAC1* может быть использован в качестве молекулярного инструмента для потенциального увеличения корневой системы у пшеницы [38].

Весьма многообещающие результаты по изменению архитектоники корня с помощью трансгеноза были получены на люцерне (*Medicago sativa*) [39]. Трансформированные геном транскрипционного фактора *Alfin1* растения люцерны имели существенно большую длину (в 2–3 раза) и массу (в 2–5 раз), чем у контрольных растений. И самое интересное, что у лучшего трансформанта люцерны по гену *Alfin1* отношение массы корня к массе надземной части составило 4,2, тогда как у контрольных растений этот показатель не превышал 2,3. Таким образом, у растений, полученных с помощью данного гена, поток фотоассимилятов перераспределяется таким образом, что гораздо большая его доля поступает в подземную часть растения, чем в надземную, что позволит насыщать подповерхностную толщу грунта биогенным углеродом.

Давно известен феномен «бородатых корней», индуцируемых бактерией *Agrobacterium rhizogenes*. Основной вклад в появление фенотипа «бородатых корней» вносят три гена: *rolA*, *rolB*, *rolC*. Их экспрессия в растительных клетках вызывает усиленную индукцию корней в инфицированном участке. Так, трансформация растений солодки (*Glycyrrhiza glabra* L.) геном *rolB* позволила увеличить сухую биомассу корней трансгенных растений почти в 8 раз [40]. Изучение феномена «бородатых корней» на бобовых растениях, показало, что усиленный рост корней и их обильное боковое ветвление являются важным фактором привлечения симбиотических бактерий и повышения фиксации азота [41].

#### **Применение генетически модифицированных растений и микроорганизмов для ремедиации загрязнённых почв**

Хотя развитие биотехнологии растений в последнее время было направлено в основном на повышение их урожайности и качества продукции, имеются примеры создания растений и ризосферных микроорганизмов, несущих гетерологичные гены ферментов деградации веществ-загрязнителей. Например, гены эстераз и цитохромов P450 – ферментов детоксикации устойчивых к инсектицидам насекомых, были использованы для получения бактерии и растений с потенциалом деградации пестицидов [42]. Ген

цитохрома P450 млекопитающих экспрессирован в растении табака. Цитохромы, как известно, окисляют широкий спектр галогенированных углеводов, в связи с чем трансгенные растения повысили скорость ТСЕ-метаболизма до 640 раз, с увеличением поглощения и дебромирования этилена дибромидом [43].

Экспрессия цитохрома P 450 монооксигеназы сои, которая участвует в метаболизме фенилмочевины, содержащейся в гербицидах, была достигнута в растениях табака [44]. Трансгенные растения были не только более устойчивыми, но и легко метаболизировали все четыре испытанных гербицида на основе фенилмочевины (флуометурон, линурон, хлортолурон, диурон). Аналогичным образом, трансгенные растения тополя, экспрессирующие ген синтетазы глутамилцистеина, были значительно более толерантны к хлорацетанилидовым гербицидам [45].

Примером использования трансгенных растений для очистки окружающей среды от техногенного загрязнения могут служить генетически модифицированные растения табака, рапса, тополя, арабидопсиса, экспрессирующие плазмидный бактериальный ген *Mer-A*, кодирующий фермент меркурилредуктазу, который участвует в детоксикации ртути [46, 47]. Такие растения, без угнетения роста и метаболизма, могут интенсивно расти на среде, содержащей ионы ртути в токсичных концентрациях, и поглощать их в десять раз более эффективно, чем обычные контрольные растения.

Известен генетически модифицированный (ГМ) сорт тополя, способный поглощать хлороформ (побочный продукт дезинфекции воды), четыреххлористый углерод (растворитель) и хлористый винил (основа некоторых пластмасс). ГМ тополя, выращиваемые в закрытых контейнерах, при тестировании способности растений очищать воздух показали повышенную способность абсорбировать газообразный трихлорэтилен и бензол, перерабатывая их в воду, CO<sub>2</sub> и нетоксичные для человека соли. ГМ тополя в лабораторных испытаниях удаляли из почвы трихлорэтилен в 100 раз эффективнее, чем естественные. Кроме того, ГМ деревья вытягивали токсины из воздуха и перерабатывали их внутри листьев в неопасные метаболиты [48, 49].

Имеется только несколько сообщений по инженерии PGPR бактерий, направленной на повышение их эффективности в формировании коллабораций с растениями.

Ранние попытки модификации включают внедрение гетерологичного гена, кодирующего рецептор сидерофора в штамм *Pseudomonas fluorescens*, чтобы сделать его более конкурентоспособным в почве [50], а также экспрессию генов, кодирующих пролин-дегидрогеназу (окисление пролина до глутамата [51]), или 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдеаминазу [52] в *Sinorhizobium meliloti*, для повышения его нодулирующей способности.

Сверхэкспрессия гена трегалозо-6-фосфатсинтазы повышала способность *Rhizobium etli* к образованию клубеньков и эффективность азотфиксации у фасоли (*Phaseolus vulgaris*) [53]. В недавних работах ген хитиназы из *Bacillus subtilis*, интродуцированный в PGPR штамм *Burkholderia vietnamiensis* P418, привёл к значительной супрессии возбудителей таких грибковых заболеваний, как корневая гниль пшеницы, вилт хлопчатника и серая гниль томата [54]. Штамм *Ensifer medicae*, генетически модифицированный для повышения толерантности к высоким концентрациям меди, улучшил образование клубеньков и рост растений люцерны усечённой (*Medicago truncatula*) на загрязнённых медью почвах [55].

Эндобитный штамм бактерии *Burkholderia* был трансформирован плазмидой, несущей гены деградации толуола (толуена), после чего данным штаммом были инокулированы растения люпина жёлтого (*Lupinus luteus* L.). Инокулированные растения поддерживали рост при высокой концентрации (1000 мг/л) толуола, в противоположность контрольным растениям, которые проявляли признаки фитотоксичности на уровне, свыше 100 мг/л. Созданная микробно-растительная коллаборация привела также к 50–70% снижению испарения толуола через листья [56]. Сходный эксперимент был выполнен, с использованием другой бактерии *Bacillus ceracia* и другой плазмиды, обеспечивающей деградацию толуола. Инокуляция гибридов тополей (*P. trichocarpa* – *P. deltoides*) штаммом *B. ceracia*, несущим плазмиду деградации толуола, оказала положительное влияние на рост растений в присутствии толуола и снизила количество токсиканта, высвобождаемого при транспирации растений. Необходимо отметить, что ГМ штамм *B. ceracia* не поддерживал сам себя в растении на детектируемом уровне. Толерантность к толуолу обеспечивалась в результате горизонтального переноса плазмидного гена в

другие бактерии-эндофиты, живущие внутри тканей тополя [57].

Примером ГМ микроорганизмов для ремедиации может служить ризосферный штамм псевдомонады с геном деградации полихлорированных бифенилов [58]. Интеграция в плазмиду *Pseudomonas* sp. гена *tfdA* (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота / 2-оксоглутарат диоксигеназа) значительно увеличила способность псевдомонады разлагать феноксиуксусную кислоту в модельных условиях стерильной и нестерильной почвы [59].

В азотфиксирующую бактерию *Rhizobium meliloti* – симбионта люцерны – был встроены ряд генов, осуществляющих разложение бензола, толуола и ксилола. Благодаря экспрессии гетерологичных генов, глубоко проникающая корневая система люцерны позволяет очищать почву на глубину 2,0–2,5 м. ГМ ризобияльные бактерии используют и для очистки почвы от ТМ [60–62].

Фермент фитохелатинсинтаза (PCS) участвует в синтезе фитохелатинов – полипептидов, связывающих ТМ. Гены, кодирующие эти ферменты, были выделены и перенесены в растения табака. Вследствие повышенной экспрессии перенесённых генов *AtPCS1* и *CePCS*, ГМ растения табака приобрели повышенную устойчивость к кадмию и его накоплению в своих тканях.

## Заключение

Для биоремедиации нарушенных в результате хозяйственной деятельности человека и природной эрозии почв территорий необходимы инновационные технологические подходы, направленные на генерацию значительного количества биомассы в техногенных субстратах и грунтах повреждённых ландшафтов. Наличие и объём биомассы определяют количество органического вещества, которое является основным показателем плодородия и служит характеристикой процесса преобразования бесплодного субстрата в собственно почву.

Современные генно-инженерные технологии позволяют создать искусственно модифицированные организмы (растения и микробы), которые способны целенаправленно увеличивать биогенную массу под поверхностью почвы за счёт гипертрофированного разрастания корневой системы и увеличения объёма корневой экссудации. Это, в свою очередь, обеспечивает привле-

чение в ризосфере разнообразной почвенной микробиоты, способной эффективно сосуществовать с растением и поддерживать стабильное функционирование вновь сформировавшейся почвенной экосистемы, включая детоксикационные функции в отношении ТМ, алифатических углеводов, пестицидов и прочих ксенобиотиков. Таким образом, разработка подходов, основанных на управлении взаимодействием между почвенным субстратом, растениями и почвенной микробиотой – реальная возможность восстановления земель, утраченных человечеством в результате длительного периода нерационального землепользования.

### References

1. Shiva V. Water wars: Privatization, pollution, and profit. North Atlantic Books, 2016. 156 p.
2. Bradshaw C.J.A. Little left to lose: deforestation and forest degradation in Australia since European colonization // *Journal of Plant Ecology*. 2012. V. 5. No. 1. P. 109–120.
3. Lohmann L. Land, power and forest colonization in Thailand // *Global Ecology and Biogeography Letters*. 1993. P. 180–191.
4. Huang J., Wang X., Zhi H., Huang Zh., Rozelle S. Subsidies and distortions in China's agriculture: evidence from producer-level data // *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*. 2011. V. 55 (4). P. 53–71.
5. Morozova G.S. A review of Holocene avulsions of the Tigris and Euphrates rivers and possible effects on the evolution of civilizations in lower Mesopotamia // *Geoarchaeology*. 2005. V. 20. No. 4. P. 401–423.
6. Coleman D.C., Callahan M.A., Crossley Jr.D.A. Fundamentals of soil ecology. Academic press, 2017. 386 p.
7. Dotterweich M. The history of human-induced soil erosion: Geomorphic legacies, early descriptions and research, and the development of soil conservation – A global synopsis // *Geomorphology*. 2013. V. 201. P. 1–34.
8. Solav consolidated report. State of the world's land and water resources for food and agriculture. Managing systems at risk. 58 p. [Internet resource] <http://www.fao.org/nr/solav/> (Accessed: 31.05.2018) (in Russian).
9. Montanarella L. Agricultural policy: govern our soils // *Nature News*. 2015. V. 528. No. 7580. P. 32–33. doi:10.1038/528032a
10. Lal R., Mohtar R.H., Assi A.T., Ray R., Baybil H., Jahn M. Soil as a basic nexus tool: Soils at the center of the Food–Energy–Water nexus // *Current Sustainable / Renewable Energy Report*. 2017. V. 4 (3). P. 117–129.
11. Wong M.H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils // *Chemosphere*. 2003. V. 50. No. 6. P. 775–780.
12. Montgomery David R. SOIL. Erosion of civilizations. Ankara: FAO Sub-regional office for Central Asia, 2015. 434 p. (in Russian).
13. Davies J. The business case for soil // *Nature*. 2017. V. 543. No. 7645. P. 309–311.
14. FAO M. VPP. 2015 // The state of Affairs in connection with the lack of food security in the world – 2015. On the way to achieving the intended results. 2015. [Internet resource] (Accessed: 31.05.2018)
15. Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture // *Applied microbiology and biotechnology*. 2009. V. 84. No. 1. P. 11–18.
16. Compant S., Clément C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization // *Soil Biol. Biochem.* 2010. V. 42. P. 669.
17. Khan A.G. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2005. V. 18. No. 4. P. 355–364.
18. Arslan M., Imran A., Khan Q.M., Afzal M. Plant–bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants // *Environmental Science and Pollution Research*. 2017. V. 24 (5). P. 4322–4336.
19. Wenzel W.W. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils // *Plant and Soil*. 2009. V. 321 (1–2). P. 385–408.
20. Urbance J.W., Cole J., Saxman P., Tiedje J.M. BSD: The Biodegradative Strain Database // *Nucl. Acids. Res.* 2003. V. 31. P. 152–155.
21. Kvesitadze G., Gordeziani M., Khatisashvili G., Sadunishvili T., Ramsden J.J. Some aspects of the enzymatic basis of phytoremediation // *J. Biol. Phys. Chem.* 2001. V. 1. P. 49–57.
22. Sandermann H.Jr. Higher plant metabolism of xenobiotics: the “green liver” concept // *Pharmacogenetics*. 1994. V. 4. P. 225–241.
23. Glick B.R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation // *Biotechnol. Adv.* 2010. V. 28. P. 367–374.
24. Haslmayr H.P., Meißner S., Langella F., Baumgarten A., Geletneky J. Establishing best practice for microbially aided phytoremediation // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2014. V. 21. P. 6765–6774.
25. Sarwar N., Imran M., Shaheen M.R., Ishaque W., Kamran M.A., Matloob A., Hussain S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives // *Chemosphere*. 2017. V. 171. P. 710–721.
26. Ahmed E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review // *Journal of advanced research*. 2015. V. 6. No. 2. P. 105–121.
27. Litterick A.M., Harrier L., Wallace P., Watson C.A., Wood M. The role of uncomposted materials, composts,

manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production – A review // *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2004. V. 23 (6). P. 453–479.

28. De Gisi S., Petta L., Wendland C. History and technology of Terra Preta sanitation // *Sustainability*. 2014. V. 6. No. 3. P. 1328–1345.

29. Baltes N.J., Voytas D.F. Enabling plant synthetic biology through genome engineering // *Trends in biotechnology*. 2015. V. 33. No. 2. P. 120–131.

30. Belhaj K., Chaparro-Garcia A., Kamoun S., Patro N. J., Nekrasov V. Editing plant genomes with CRISPR/Cas9 // *Current opinion in biotechnology*. 2015. V. 32. P. 76–84.

31. Horvath P., Barrangou R. CRISPR/Cas9, the immune system of bacteria and archaea // *Science*. 2010. V. 327. No. 5962. P. 167–170.

32. Smith S.R. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge // *Environment international*. 2009. V. 35. No. 1. P. 142–156.

33. Gamuyao R., Chin J. H., Pariasca-Tanaka J., Pesaresi P., Catausan S., Dalid C., Heuer S. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency // *Nature*. 2012. V. 488. P. 535–539.

34. Uga Y., Sugimoto K., Ogawa S., Rane J., Ishitani M., Hara N., Inoue H. Control of root system architecture by Deeper Rooting 1 increases rice yield under drought conditions // *Nat. Genet.* 2013. V. 45. P. 1097–1102.

35. Vercruyssen L., Gonzalez N., Werner T., Schmüling T., Inzé D. Combining enhanced root and shoot growth reveals cross talk between pathways that control plant organ size in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2011. V. 155. P. 1339–1352.

36. Mrízová K., Jiskrová E., Vyroubalová Š., Novák O., Ohnoutková L., Pospíšilová H., Galuszka P. Overexpression of cytokinin dehydrogenase genes in barley (*Hordeum vulgare* cv. Golden Promise) fundamentally affects morphology and fertility // *PLoS ONE*. 2013. V. 8. No. 11. P. e79029.

27. Pospíšilová H., Jiskrová E., Vojta P., Mrízová K., Kokáš F., Čudejková M.M., Bergougnoux V., Plíhal O., Klimešová J., Novák O., Dzurova L., Frébort I., Galuszka P. Transgenic barley overexpressing a cytokinin dehydrogenase gene shows greater tolerance to drought stress // *New biotechnology*. 2016. V. 33. No. 5. P. 692–705.

38. Chen D., Chai S., McIntyre C.L., Xue G.-P. Overexpression of a predominantly root-expressed NAC transcription factor in wheat roots enhances root length, biomass and drought tolerance // *Plant Cell Report*. 2018. V. 37. P. 225–237.

39. Winikov I. Alfin1 transcription factor overexpression enhances plant root growth under normal and saline conditions and improves salt tolerance in alfalfa // *Planta*. 2000. V. 210. P. 416–422.

40. Tenea G.N., Calin A., Gavrilă L., Cucu N. Manipulation of root biomass and biosynthetic potential of *Glycyrrhiza glabra* L. plants by *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation // *Roumanian Biotechnological Letters*. 2008. V. 13. P. 3922–3932.

41. Cheng M., His D.C.H., Philips G.C. In vitro regeneration of Valencia type peanut (*Arachis hypogaea* L.) from cultured petioles, epicotyl, sections and other seedling explants // *Peanut. Sci.* 1992. V. 19. P. 82–87.

42. Roe R.M., Hodgson E., Rose R.L., Thompson D.M., Devorshak C., Anspaugh D.D., Linderman R.J., Harris S.V., Tomalski M.D. Basic principles and rationale for the use of insect genes in bioremediation: esterase, phosphotriesterase, cytochrome P450 and epoxide hydrolase // *Pesticides and the future: minimizing chronic exposure of humans and the environment* / Eds. R.J. Kuhr, N. Motoyama. Amsterdam: IOS Press, 1998. P. 169–178.

43. Doty S.L., Shang T.Q., Wilson A.M., Tangen J., Westergreen A.D., Newman L.A., Strand S.E., Gordon M.P. Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1 // *Proc Natl Acad Sci (USA)*. 2000. V. 97. P. 6287–6291.

44. Siminszky B., Corbin F.T., Ward E.R., Fleischmann T.J., Dewey R.E. Expression of a soybean cytochrome P450 monooxygenase cDNA in yeast and tobacco enhances the metabolism of phenylurea herbicides // *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 1999. V. 96. P. 1750–1755.

45. Gullner G., Komives T., Rennenberg H. Enhanced tolerance of transgenic poplar plants overexpressing gamma-glutamylcysteine synthetase towards chloroacetanilide herbicides // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52. P. 971–979.

46. He Y.K., Sun J.G., Feng X.Z., Czako M., Marton L. Differential mercury volatilization by tobacco organs expressing a modified bacterial merA gene // *Cell Res*. 2001. V. 11. P. 231–236.

47. Rugh C.L., Senecoff J.F., Meagher R.B., Merkle S.A. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation // *Nature Biotechnol.* 1998. V. 16. P. 925–928.

48. James C.A., Xin G., Doty S.L., Muiznieks I., Newman L., Strand S.E. A mass balance study of the phytoremediation of perchloroethylenecontaminated groundwater // *Environ. Pollut.* 2009. V. 157. P. 2564–2569.

49. Kang J.W., Wilkerson H.W., Farin F.M., Bammler T.K., Beyer R.P., Strand S.E., Doty S.L. Mammalian cytochrome CYP2E1 triggered differential gene regulation in response to trichloroethylene (TCE) in a transgenic poplar // *Funct. Integr. Genomics*. 2010. V. 10. P. 417–424.

50. Raaijmakers J.M., Sluis L.V.D., Bakker P.A., Schippers B., Koster M., Weisbeek P.J. Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. // *Can. J. Microbiol.* 1995. V. 41. P. 126–135.

51. Van Dillewijn P., Soto M.J., Villadas P.J., Toro N. Construction and environmental release of a *Sinorhizobium meliloti* strain genetically modified to be more competitive for alfalfa nodulation // Applied and environmental microbiology. 2001. V. 67 (9). P. 3860–3865.
52. Ma W., Charles T.C., Glick B.R. Expression of an exogenous 1-aminocyclo-propane-1-carboxylate deaminase gene in *Sinorhizobium meliloti* increases its ability to nodulate alfalfa // Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70. P. 5891–5897.
53. Suárez R., Wong A., Ramírez M., Barraza A., Orozco M.D.C., Cevallos M.A., Iturriaga G. Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by over-expressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia // Mol. Plant-MicrobeInteract. 2008. V. 21. P. 958–966.
54. Zhang X., Huang Y., Harvey P.R., Ren Y., Zhang G., Zhou H., Yang H. Enhancing plant disease suppression by *Burkholderia vietnamiensis* through chromosomal integration of *Bacillus subtilis* chitinase gene chi113 // Biotechnol. Lett. 2012. V. 34. P. 287–293.
55. Delgadillo J., Lafuente A., Doukkali B., Redondo-Gómez S., Mateos-Naranjo E., Caviedes M.A., Rodríguez-Llorente I.D. Improving legume nodulation and Cu rhizostabilization using a genetically modified rhizobia // Environ. Technol. 2015. V. 36. P. 1237–1245.
56. Barac T., Taghavi S., Borremans B., Provoost A., Oeyen L., Colpaert J. V., Van Der Lelie D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants // Nat. Biotechnol. 2004. V. 22. P. 583–588.
57. Taghavi S., Barac T., Greenberg B., Borremans B., Vangronsveld J., van der Lelie D. Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene// Appl. Environ. Microbiol. 2005. V. 71. P. 8500–8505.
58. Brazil G.M., Kenefick L., Callanan M., Haro A., Lorenzo V.D., Dowling D.N., O’Gara F. Construction of a rhizosphere pseudomonad with potential to degrade polychlorinated biphenyls and detection of *bph* gene expression in the rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. P. 1946–1952.
59. Liphay J.R., Barkay T., Sorensen S.J. Enhanced degradation of phenoxyacetic acid in soil by horizontal transfer of the *tfdA* gene encoding a 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dioxygenase // FEMS Microbiol Ecol. 2001.V. 35. P. 75–84.
60. Jing Y., He Z., Yang X. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils // J. Zhejiang Univ. Sci. B. 2007. V. 8 (3). P. 192–207.
61. McGuinness M., Dowling D. Plant-associated bacterial degradation of toxic organic compounds in soil // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2009. V. 6. P. 2226–2247.
62. Nie M., Wang Y., Yu J., Xiao M., Jiang L., Yang J., Fang C., Chen J., Li B. Understanding plant-microbe interactions for phytoremediation of petroleum-polluted soil // PLoS ONE. 2011. V. 6. P. e17961.