

УДК 615.076.7+574.24

ПРИМЕНЕНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАГРЯЗНЕНИЮ СУБСТРАТА ЗЕЛЕННЫХ КРОВЕЛЬ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

© **К.В. Осина^{1,2*}, А.А. Гунина²**

¹ *Тульский государственный университет, пр. Ленина, 92, Тула, 300012, Россия, kristina-syundyukova@yandex.ru*

² *Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, 117198, Россия*

Зеленые кровли обладают рядом экосистемных услуг, однако из-за перехвата атмосферной пыли могут быть загрязнены тяжелыми металлами, что может снижать рост растений и загрязнять водный сток. В данной работе тестировали исходные гуминовые кислоты (ГК_{исх}), выделенные из черноольхового низинного торфа и модифицированные (ГК_{мод}) восстановлением боргидридом натрия. Направленная химическая модификация увеличила содержание фенольных групп ГК_{мод} на 20% по сравнению с ГК_{исх}, увеличивая способность ГК_{мод} снижать токсическое действие ионов тяжелых металлов, связывая их в нетоксичные комплексы. Тестирование с системой «Эколюм» показало, что ГК_{исх} и ГК_{мод} в концентрациях 50 и 100 мг л⁻¹ не оказывают токсического воздействия на микроорганизмы и могут быть использованы для детоксикации ионов тяжелых металлов. Добавление ГК_{мод} в концентрации 50 мг л⁻¹ снижало токсичность Cd²⁺ до допустимой степени, а для ионов Zn²⁺ индекс токсичности уменьшился в 2 раза. Уменьшение содержания фенольных соединений в тест-объекте (кресс-салате), выращенном на серой лесной почве, загрязненной ионами кадмия (10 мг кг⁻¹) и цинка (100 мг кг⁻¹) после внесения ГК_{мод}, указывает на снижение стресса у растений. Добавление ГК_{мод} стимулировало корневую систему кресс-салата по сравнению с контролем, общий прирост биомассы увеличился на 90–120% по сравнению с субстратом загрязненным Cd²⁺ и Zn²⁺ без внесения ГК_{мод}. Таким образом, ГК_{мод} могут быть использованы для детоксикации ионов тяжелых металлов в субстратах зеленых крыш.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, ионы тяжелых металлов, токсичность, адаптация растений, зеленые крыши, субстраты, микроорганизмы.

Для цитирования: Осина К.В., Гунина А.А. Применение гуминовых кислот для повышения устойчивости растений к загрязнению субстрата зеленых кровель тяжелыми металлами // Химия растительного сырья. 2025. №4. С. 416–424. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416183>.

Введение

Гуминовые вещества и их фракции, такие как гуминовые кислоты (ГК), являются важными биологически активными соединениями, которые оказывают положительное влияние на растения, особенно в условиях стресса. В контексте зеленых кровель, где растения подвержены экстремальным факторам окружающей среды, таким как ограниченный доступ к воде, температурные перепады и низкое содержание питательных веществ, гуминовые кислоты играют значительную роль в адаптации и повышении устойчивости сообщества [1, 2]. Дизайн зеленой кровли и, в частности, выбор растительного сообщества, потребует корректировки с учетом климатических условий и влияния антропогенных факторов, поскольку в условиях городской среды растения в искусственно созданных экосистемах могут подвергаться воздействию загрязнителей, таких как тяжелые металлы, которые могут исходно содержаться в субстратах или аккумулироваться пылью. Сам субстрат зеленой кровли может быть источником тяжелых металлов (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn), поскольку коммерческие субстраты на основе либо смесей глины и торфа, либо неорганического вулканического материала и компоста могут содержать тяжелые металлы [3, 4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Гуминовые кислоты обладают способностью связывать тяжелые металлы в нетоксичные комплексы, уменьшая их токсичное воздействие на растения. Помимо этого, ГК способствуют улучшению физических свойств субстрата, включая влагоемкость, аэрацию и сорбционную способность, что важно для поддержания оптимальных условий для роста растений в ограниченных субстратных системах [5, 6]. Гуминовые вещества активируют корневую систему растений, способствуя лучшему усвоению микро- и макроэлементов из субстрата, что существенно для зеленых кровель, где питательная среда может быть ограниченной [7]. Развитие и укрепление корневой системы помогает растениям лучше адаптироваться к стрессам, вызванным засухой или сильными ветрами [8]. Факторами, определяющими воздействие ГК на растения и почву, являются нормы внесения ГК и источники выделения, поскольку они напрямую влияют на содержание карбоксильных (-COOH) и фенольных (-OH) групп в составе ГК [9]. Содержание данных групп в значительной степени влияет на биологическую активность и детоксицирующую способность ГК [1]. Таким образом, изучение детоксицирующих свойств и биологической активности ГК, обладающих разным содержанием -COOH и -OH групп, с целью повышения устойчивости растений в условиях стресса имеет большую значимость, особенно для таких экосистем, как «зеленые кровли».

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлись ГК, выделенные щелочной экстракцией из черноольхового низинного торфа. Выбор источника ГК обусловлен его ботаническим составом, торф залегает на глубине более 2 м и состоит из остатков коры и древесины черной ольхи в смеси с остатками других видов деревьев и травянистых растений, характерных для низинных болот; степень разложения торфа составляет 35–40%. Таким образом, ароматические фрагменты, входящие в состав ГК торфа, образующихся из лигнина и других органических остатков торфа, могут обладать антиоксидантной активностью и связывать различные классы токсикантов, включая тяжелые металлы, полиароматические углеводороды и красители.

С целью увеличения содержания фенольных групп проводили направленную химическую модификацию ГК восстановлением NaBH_4 , для чего к 0.2% щелочному раствору NaBH_4 прибавляли 100 мл раствора гуминовых кислот с концентрацией 40 г л^{-1} , растворенных в 0.01 М растворе гидроксида натрия. По окончании восстановления к раствору приливали раствор 1 М HCl до $\text{pH}=2$. Осадок ГК отмывали до нейтрального значения pH и очищали диализом в мембранных мешках с размером пор 12–14 кДа. Модифицированные ГК сушили при 60°C . В процессе модификации хиноидные группы восстанавливаются до фенольных, кетонные группы – до спиртовых гидроксидов (рис. 1).

Электронные спектры щелочных экстрактов, исходных и модифицированных ГК, снимали в диапазоне 200–1000 нм (СФ-104 (фирма «Аквилон»). Коэффициент цветности (спектроскопическая характеристика ГК), который позволяет оценить степень ароматичности, определяли как отношение оптических плотностей при длинах волн 465 и 665 нм (E_{465}/E_{665}). ИК-спектры получали в диапазоне $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$ относительно воздуха с разрешением 4 см^{-1} (ИК Фурье-спектрометре ФСМ 1201) в таблетках KBr (1.5 : 300). Определение количества хиноидных групп (ммоль г^{-1}) проводили обратным потенциометрическим титрованием, для этого к навеске гуминовых кислот приливали раствор ($1/2 \text{ SnCl}_2$) с концентрацией 0.1 М, перемешивали в течение 30 мин и оставляли на 1 ч. Далее проводили потенциометрическое титрование с платиновым и хлорсеребряным электродами, в качестве титранта использовали раствор $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ с концентрацией ($1/6 \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0.05 М.

В качестве тест-объекта брали серую лесную почву, отобранную с глубины 0–10 см (географические координаты: 54.0641, 37.5281). Свойства почвы: $\text{pH}=6.5\pm 0.3$, содержание гумуса = $3.0\pm 0.5\%$, среднесуглинистого грансостава. Эксперимент включал i) тестирование токсичности ионов тяжелых металлов на лиофилизированные люминесцентные бактерии в присутствии ГК или без нее, и последующий выбор оптимальной концентрации ГК, не обладающей токсичностью на тест-объект. ii) Тестирование способности ГК снижать токсичность модельных ионов тяжелых металлов для растений. Таким образом, эксперимент (i) включал три фактора: тип ГК (исходные или модифицированные), тип тяжелого металла (Cd^{2+} 10 мг кг^{-1} или Zn^{2+} 100 мг кг^{-1} (что соответствует 5 ПДК для почв)) и концентрацию ГК (50, 100, 500 и 1000 мг л^{-1}). Эксперимент (ii) включал два фактора – наличие ГК и тип тяжелого металла (Cd^{2+} или Zn^{2+}).

Влияние ГК на бактерии определяли по изменению интенсивности люминесцентного свечения культуры на приборе «Биотокс-10» в соответствии с ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 и рассчитывался Индекс токсичности (Т, %) по формуле (1):

$$T = 100 \cdot \frac{I_{\text{контр}} - I_{\text{опыт}}}{I_{\text{контр}}}, \quad (1)$$

где $I_{\text{контр}}$ и $I_{\text{опыт}}$ – интенсивности биолюминесценции бактерий в контрольной и опытной пробе. Оценки индекса токсичности ранжируются по трем группам: «допустимая степень токсичности» ($T < 20$), «токсичный образец» ($T = 20-49.99$), «высокая степень токсичности» ($T \geq 50$). Расчет производился по контрольному образцу «Эколюм».

Снижение токсичности тяжелых металлов для растений в присутствии ГК оценивали с помощью тест-объекта – кресс-салат (*Lepidium sativum*). В данном эксперименте соли Cd^{2+} ($10 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) или Zn^{2+} ($100 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) добавляли в почву в единичной концентрации в присутствии ГК, тест-растение развивалось в течение 20 дней, эксперимент проводили в 10-кратной повторности. После этого оценивали биомассу тест-растения; содержание фенольных соединений в листьях (стресс-индикатор) спектрофотометрическим методом с реактивом Фолина-Дениса при длине волны 700 нм. Расчет содержания фенольных соединений произвели с использованием калибровочного коэффициента:

$$C = (A \times V_1) \div (a \times V_2 \times m), \quad (2)$$

где C – содержание фенольных соединений ($\text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}$); A – оптическая плотность раствора; a – калибровочного коэффициента (по галловой кислоте); V_1 – объем экстракта (мл); V_2 – общий объем пробы (мл); m – навеска биологического материала для анализа (г).

Для количественной оценки детоксицирующей способности ГК в присутствии ионов ТМ рассчитывали коэффициенты детоксикации D в опыте с кресс-салатом по формуле (3):

$$D = 1 - \frac{R_0(R_{\text{ГК}} - R_{\text{Ме+ГК}})}{R_{\text{ГК}}(R_0 - R_{\text{Ме}})}, \quad (2)$$

где R_0 – тест-отклик в контроле (без добавления ионов ТМ и ГК); $R_{\text{Ме}}$ – тест-отклик в присутствии ионов ТМ; $R_{\text{ГК}}$ – тест-отклик в присутствии ГК; $R_{\text{Ме+ГК}}$ – тест-отклик при совместном присутствии ионов ТМ и ГК.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010, SigmaPlot version 12.5 и R. Для определения основных эффектов проводили дисперсионный анализ.

Обсуждение результатов

Природа электронных спектров поглощения и окраска гиматомелановых кислот, как и гуминовых кислот, связана с присутствием функциональных групп и с системой сопряженных двойных связей в циклических системах и в алифатических цепочках (рис. 2).

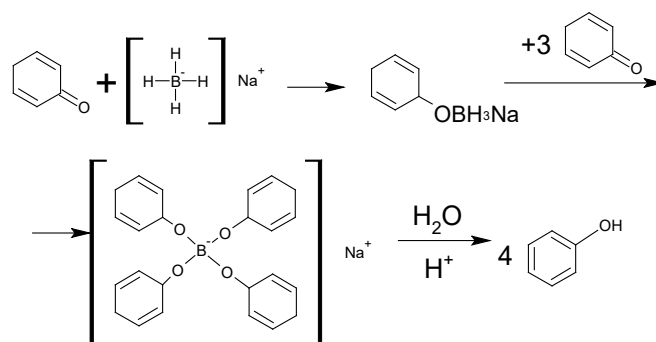


Рис. 1. Механизм реакции восстановления хиноидных групп до фенольных при модификации гуминовых кислот

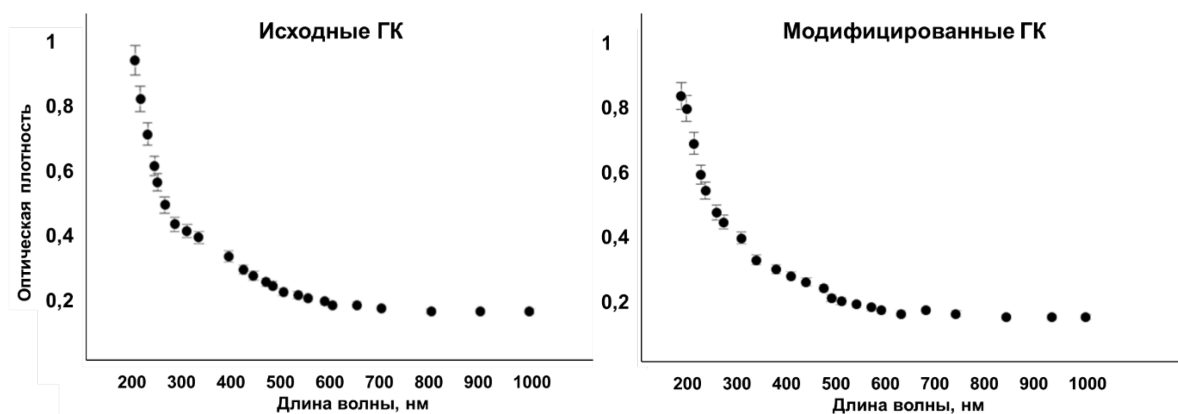


Рис. 2. Электронные спектры исходных и модифицированных гуминовых кислот (ГК)

Все электронные спектры исследуемых веществ демонстрировали интенсивное поглощение в диапазоне 200–300 нм, что обусловлено присутствием ароматических фрагментов, представляющих собой конденсированные системы [8–10]. Полоса в области 280 нм обусловлена наличием в ароматических фрагментах в составе ГК, входящих в состав лигнина растительных тканей. Поглощение в видимой области спектра обусловлено наличием конъюгированных систем в структуре ГК.

Ароматичность ГК играет важную роль в биологической активности и сорбционных свойствах. В связи с этим важно учитывать, чтобы в процессе модификации не уменьшалась доля ароматических фрагментов в составе ГК. Коэффициенты цветности ГК ($Q = 1.5 \pm 0.2$) и продуктов модификации ($Q = 1.7 \pm 0.2$) были практически одинаковыми, следовательно, ароматичность модифицированных ГК не изменялась. Низкие значения коэффициента цветности ($Q < 5$) указывали на высокую степень ароматичности ГК.

Полученные ИК-спектры исходных ГК имели характерный вид для гуминовых веществ и их фракций (рис. 3). Полосы поглощения в области $1700\text{--}1720\text{ см}^{-1}$ соответствовали валентным колебаниям карбонильных групп, интенсивность этой полосы напрямую связана с содержанием также карбоксильных групп в ГК. Наличие интенсивной полосы поглощения при $3450\text{--}3400\text{ см}^{-1}$ указывало на присутствие фенольных, спиртовых и -ОН в -COOH. Слабые полосы поглощения в области 1610 и 1620 см^{-1} соответствовали деформационным колебаниям связи $C=C$ в ароматических соединениях и указывали на присутствие сопряженных двойных связей. Наличие конъюгированных двойных связей и ароматических систем типично для гуминовых веществ и их фракций. На наличие разветвленной алифатической периферии ГК указывали полосы поглощения при 2830 и 2930 см^{-1} в ИК-спектре, которые соответствовали валентным колебаниям $C-H$ связей в метильных ($-CH_3$) и метиленовых ($-CH_2-$) группах.

С целью установления эффективности восстановления хиноидных групп до фенольных проводили нормирование полосы поглощения при 3400 см^{-1} к полосе поглощения 1610 см^{-1} , которая сохранялась неизменной при модификации ГК. При сравнении нормированных интенсивностей полос поглощения для исходных и модифицированных ГК установлено, что содержание фенольных групп для модифицированных ГК увеличилось на 20%, значения интенсивностей полосы при 1720 и 2920 см^{-1} , отнесенных к полосе поглощения 1610 см^{-1} , для исходных и модифицированных ГК не изменились. По результатам потенциометрического титрования в результате химической модификации происходило уменьшение количества хиноидных групп ГК более чем в 3 раза (для модифицированных ГК $0.8 \pm 0.2\text{ ммоль} \cdot \text{г}^{-1}$) по сравнению с исходным содержанием, которое составило $2.7 \pm 0.2\text{ ммоль} \cdot \text{г}^{-1}$.

Определение интегральной токсичности. Ключевым фактором, влияющим на токсичность гуминовых кислот, является их содержание. При низких концентрациях ГК положительно влияют на экосистему, так как способствуют питанию растений, связывают ионы тяжелых металлов и улучшают структуру почвы. В высоких концентрациях гуминовые кислоты могут оказывать негативный эффект и вызывать ингибирование роста растений. С целью выбора рабочих концентраций гуминовых кислот, не проявляющих токсичный эффект, определяли интегральную токсичность в присутствии ГК в разных содержаниях (50, 100, 500 и $1000\text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$).

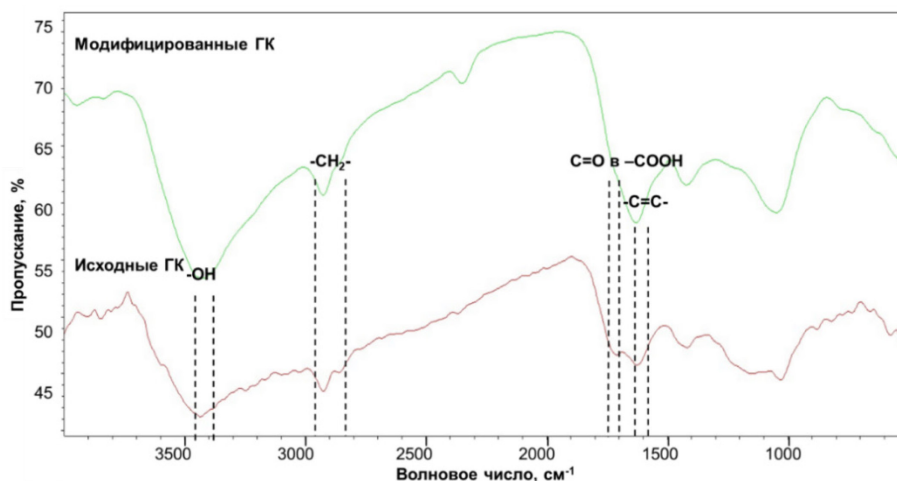


Рис. 3. Инфракрасные спектры исходных и модифицированных гуминовых кислот (ГК)

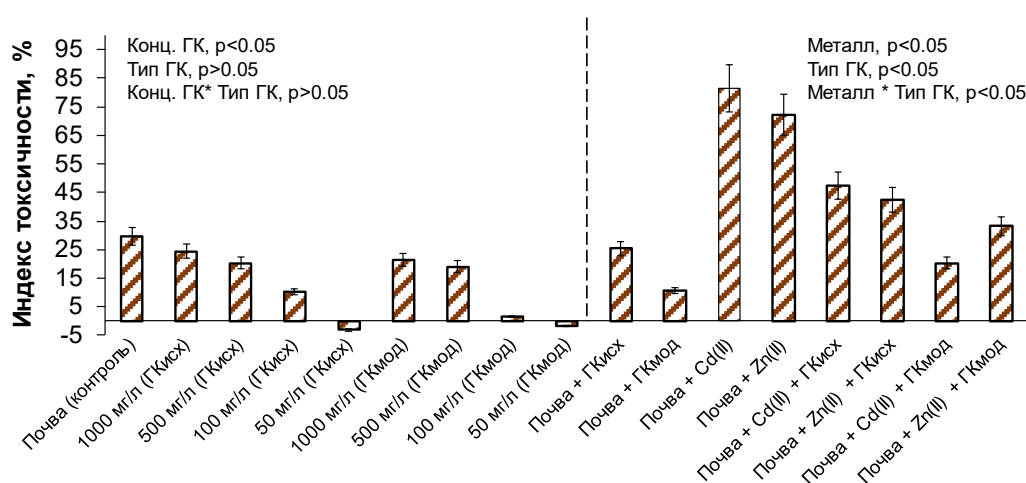


Рис. 4. Индекс токсичности исследуемых объектов в присутствии исходных (ГК_{исх}) и модифицированных (ГК_{мод}) гуминовых кислот и солей Cd^{2+} (10 мг кг^{-1}) и Zn^{2+} (100 мг кг^{-1})

В низких концентрациях (50 и 100 мг л^{-1}) ГК не оказывали токсичного эффекта, при высоких концентрациях (500 и 1000 мг л^{-1}) ГК индекс токсичности составлял $20\text{--}25$, что может быть связано с воздействием полифункциональных высокомолекулярных веществ на клеточные мембраны организмов, что нарушает обмен веществ и процессы дыхания [5, 11]. В связи с этим концентрации 50 мг л^{-1} исходных и модифицированных ГК были выбраны для изучения токсичности в присутствии ионов тяжелых металлов. Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов, он поступает в почву в результате антропогенных факторов, легко усваивается корнями растений и накапливается в различных их частях, впоследствии ингибируя фотосинтез и активность ферментов и нарушая водный баланс [12]. Цинк является важным микроэлементом для растений и животных, но при высоких концентрациях он становится токсичным, нарушая рост корней и всасывание воды, что приводит к задержке роста и хлорозу [12–15]. Токсичность ионов Cd^{2+} и Zn^{2+} в субстрате зеленых кровель – важный экологический вопрос, так как оба этих металла могут накапливаться в субстрате в результате аккумуляции атмосферной пыли и негативно влиять на рост и развитие растений, приводить к хлорозу, нарушению фотосинтеза и к другим физиологическим эффектам. В присутствии ионов Cd^{2+} и Zn^{2+} наблюдалась высокая степень токсичности ($T = 70\text{--}80\%$). Ионы тяжелых металлов снижают биологическую активность почвы, способствуют угнетению процессов разложения органического вещества и фиксации азота. При добавлении ГК в концентрациях 50 мг л^{-1} наблюдалось снижение индекса токсичности; в присутствии ионов Cd^{2+} и модифицированных ГК наблюдалась допустимая степень токсичности ($T < 20$), для ионов цинка индекс токсичности уменьшился в 2 раза ($T = 33\%$). Таким образом, добавление ГК способствует уменьшению токсичности ионов тяжелых металлов.

Снижение влияния тяжелых металлов на стресс и влияния на рост тест-объекта в присутствии гуминовых кислот. Гуминовые кислоты стимулируют рост растений, способствуют более эффективному усвоению питательных веществ растениями и являются источником углерода и азота [5, 16–19]. Биологическая активность ГК зависит от условий формирования, способов выделения из природного сырья, от размеров и конфигурации макромолекул. В связи с тем, что модифицированные ГК при концентрации 50 мг л⁻¹ не обладали токсичным эффектом и были способны оказывать детоксицирующий эффект в присутствии ионов тяжелых металлов, определяли их биологическую активность на тест-растение (рис. 5).

В присутствии модифицированных ГК наблюдалось более интенсивное развитие корневой системы по сравнению с контролем, что могло увеличивать доступность воды и питательных веществ для растения. В результате усиления роста корней и улучшения поглощения питательных веществ общий прирост биомассы тест-объекта в присутствии модифицированных ГК был на 20% больше по сравнению с контрольным образцом и на 90–120% больше в присутствии Zn²⁺ и Cd²⁺ соответственно (рис. 5). Увеличение общей биомассы кресс-салата наблюдалось за счет корневой и надземной массы. Гуминовые кислоты могут повышать устойчивость растений к различным абиотическим стрессам (засуха, засоленность почвы, недостаток питательных веществ и влияние токсикантов различной природы) [1, 20–22]. Это снижает потери биомассы, связанные со стрессовыми условиями, что является ключевым моментом при организации специальных условий для растений зеленых кровель.

Фенольные соединения являются важными биологически активными веществами, играющими значительную роль в защите растений от стресса, включая воздействие токсикантов (таких как тяжелые металлы и пестициды). Под воздействием токсикантов часто наблюдается изменение синтеза и накопления фенольных соединений, в связи с этим установлено влияние ГК (50 мг л⁻¹) и ионов тяжелых металлов на содержание фенольных соединений в листьях тест-объекта (рис. 6).

Повышение синтеза фенольных соединений является результатом активации ферментов, таких как фенилаланин-аммиак-лиаза, которая участвует в биосинтезе фенольных соединений и флавоноидов [14]. Регуляция генов, связанных с биосинтезом ФС, активируется в ответ на стресс, что приводит к усиленному синтезу данных соединений. Повышение содержания фенольных соединений также является механизмом адаптации растений к ионам тяжелых металлов. При добавлении ГК в загрязненный субстрат Cd²⁺ и Zn²⁺ наблюдается снижение ФС на 28–45%. В присутствии гуминовых кислот ионы тяжелых металлов связываются в устойчивые комплексы, что снижает их доступность для растений и приводит к уменьшению необходимости в усиленном синтезе фенольных соединений для детоксикации тяжелых металлов.

Для количественной оценки детоксицирующей способности модифицированных ГК по отношению к ионам тяжелых металлов (Cd²⁺ и Zn²⁺) рассчитывали коэффициенты детоксикации, которые составили 0.63 по отношению к ионам Zn и 0.48 для ионов Cd. Гуминовые кислоты способны связывать ионы цинка в более устойчивые комплексы, что определяет их детоксикационные свойства. Гуминовые кислоты связывают ионы металлов за счет наличия в своей структуре карбоксильных (-COOH) и фенольных (-OH) групп, эти функциональные группы взаимодействуют с ионами металлов, образуя устойчивые комплексы (хелаты) [1]. Направленная химическая модификация ГК способствует увеличению содержания этих функциональных групп. Таким образом, ионы металлов становятся менее доступны для биологических систем, что снижает их токсическое воздействие.

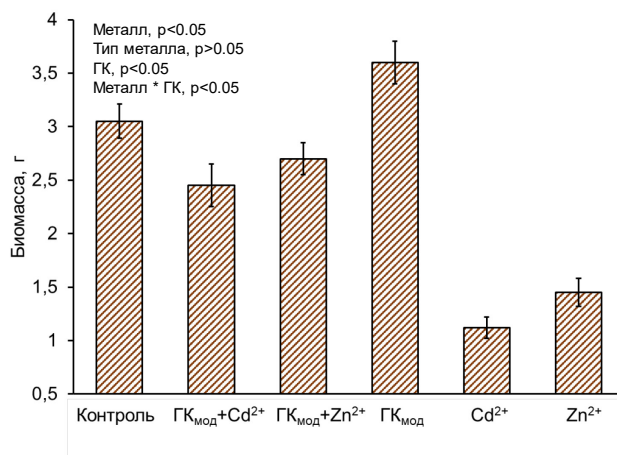


Рис. 5. Биомасса кресс-салата при внесении модифицированных гуминовых кислот (ГК_{мод}) и солей Cd²⁺ (10 мг кг⁻¹) и Zn²⁺ (100 мг кг⁻¹). Поскольку не было обнаружено различий между биомассой кресс-салата после внесения исходных и ГК_{мод}, представлены данные только для ГК_{мод}

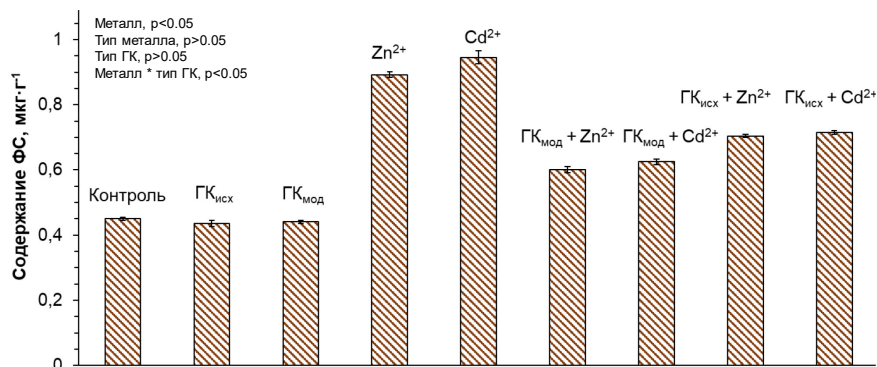


Рис. 6. Содержание фенольных соединений в листьях тест-объекта при внесении исходных (ГК_{исх}) и модифицированных (ГК_{мод}) гуминовых кислот и солей Cd²⁺ (10 мг кг⁻¹) и Zn²⁺ (100 мг кг⁻¹) (n=10, p=0.95)

Заключение

Потенциометрическое титрование показало, что количество хиноидных групп модифицированных ГК снизилось более чем в три раза по сравнению с исходными. В результате направленной химической модификации увеличилось содержание фенольных соединений на 20%, что способствует повышению антиоксидантных свойств и детоксицирующей способности исследуемых ГК. Влияние ГК на микроорганизмы определяли по изменению интенсивности люминесцентного свечения генномодифицированной культуры, наличие ионов тяжелых металлов в субстрате повысило индекс токсичности для микроорганизмов в 2–3 раза, тогда как введение гуминовых кислот в почву, загрязненную ионами Cd²⁺ и Zn²⁺, снизило этот показатель вдвое, что указывает на детоксицирующие свойства ГК по отношению к ионам тяжёлых металлов в почве. Применение модифицированных ГК способствовало увеличению прироста биомассы кресс-салата на 20% по сравнению с контрольной группой и на 90–120% при наличии ионов Zn²⁺ и Cd²⁺.

Установлено, что после внесения ионов тяжелых металлов увеличивается содержание фенольных соединений в листьях кресс-салата, что свидетельствует о стрессе растений. При добавлении ГК в загрязненный субстрат Cd²⁺ и Zn²⁺ наблюдалось снижение содержания фенольных соединений на 28–45% и максимальный эффект наблюдался при использовании модифицированных ГК. Это свидетельствует о том, что увеличение содержания функциональных групп в результате направленной химической модификации ГК способствует повышению связывания ионов тяжелых металлов, что делает их менее доступными для микроорганизмов и растений и может быть использовано как основа технологии ремедиации зеленых кровель, загрязненных тяжелыми металлами.

Финансирование

Работа проведена при финансировании Российским научным фондом, проект № 24-17-00134.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Kazemi F., Mohorko R. Review on the roles and effects of growing media on plant performance in green roofs in world climates // *Urban Forestry & Urban Greening*. 2017. Vol. 23. Pp. 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.02.006>.
2. Vanuytrecht E., Van Mechelen C., Van Meerbeek K., Willems P., Hermy M., Raes D. Runoff and vegetation stress of green roofs under different climate change scenarios // *Landscape and Urban Planning*. 2014. Vol. 122. Pp. 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2013.11.001>
3. Berndtsson J.C., Emilsson T., Bengtsson L. The influence of extensive vegetated roofs on runoff water quality // *Science of the Total Environment*. 2006. Vol. 355 (1-3). Pp. 48–63. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.02.035>
4. Speak A.F., Rothwell J.J., Lindley S.J., Smith C.L. Urban particulate pollution reduction by four species of green roof vegetation in a UK city // *Atmospheric Environment*. 2012. Vol. 61. Pp. 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.07.043>.

5. de Melo B.A.G., Motta F.L., Santana M.H.A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments // *Materials Science and Engineering*. 2016. Vol. 62. Pp. 967–974. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.001>.
6. Ampong K., Thilakaranthna M.S., Gorim L.Y. Understanding the role of humic acids on crop performance and soil health // *Frontiers in Agronomy*. 2022. Vol. 4. 848621. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.848621>.
7. Mackowiak C.L., Grossl P.R., Bugbee B.G. Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat // *Soil Science Society of America Journal*. 2001. Vol. 65, no. 6. Pp. 1744–1750. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.1744>.
8. Norman Q., Arancon N.O., Edwards C.A., Lee S., Byrne R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth // *European journal of soil biology*. 2006. Vol. 42. Pp. 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.06.004>.
9. Nardi S., Schiavon M., Francioso O. Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 8. 2256. <https://doi.org/10.3390/molecules26082256>.
10. Gurova O.A., Somikova T.Y., Novikov A.A. et al. Spectral characteristics of humic and hyalomelanin acids in lake peat s of the right bank of the Ob River (Western Siberia) // *Plant Archives*. 2020. Vol. 20, no. 1. Pp. 2847–2850.
11. Yakimenko O.S., Terekhova V.A. Humic preparations and the assessment of their biological activity for certification purposes // *Eurasian Soil Science*. 2011. Vol. 44, no. 11. Pp. 1222–1230. <https://doi.org/10.1134/S1064229311090183>.
12. Baryl A., Carrier P., Franck F. et al. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth // *Planta*. 2001. Vol. 212. Pp. 696–709. <https://doi.org/10.1007/s004250000439>.
13. Ebbs S., Uchil S. Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern] involves preferential loss of chlorophyll b // *Photosynthetica*. 2008. Vol. 46. Pp. 49–55. <https://doi.org/10.1007/s11099-008-0010-3>.
14. Shaari N.E.M. et al. Cadmium toxicity symptoms and uptake mechanism in plants: a review // *Brazilian Journal of Biology*. 2022. Vol. 84. e252143. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.252143>.
15. Marschner H., Cakmak I. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc, potassium, and magnesium deficient bean (*Phaseolus vulgaris*) plants // *Journal of Plant physiology*. 1989. Vol. 134, no. 3. Pp. 308–315. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(89\)80248-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80248-2).
16. Kováčik J. et al. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes // *Plant Science*. 2007. vol. 172, no. 2. Pp. 393–399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.001>.
17. Дмитриева Е.Д., Сюндюкова К.В., Акатова Е.В., Леонтьева М.М., Волкова Е.М., Музафаров Е.Н. Биологическая активность гуминовых веществ сапропеля реки Упы Тульской области // *Химия растительного сырья*. 2017. №1. С. 137–144. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011418>.
18. Акатова Е.В., Дмитриева Е.Д., Сюндюкова К.В., Леонтьева М.М., Музафаров Е.Н. Детоксицирующая способность гуминовых веществ торфов различного происхождения по отношению к ионам тяжелых металлов // *Химия растительного сырья*. 2017. №1. С. 119–127. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011382>.
19. Trevisan S., Francioso O., Quaggiotti S., Nardi S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors // *Plant signaling & behavior*. 2010. Vol. 5, no. 6. Pp. 635–643. <https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211>.
20. Canellas L.P., da Silva R.M., Busato J.G., Olivares F.L. Humic substances and plant abiotic stress adaptation // *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2024. Vol. 11, no. 1. 66. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00575-z>.
21. Atero-Calvo S., Navarro-León E., Rios J.J., Blasco B., Ruiz J.M. Humic substances-based products for plants growth and abiotic stress tolerance // *Biostimulants in Plant Protection and Performance*. Elsevier, 2024. Pp. 89–106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15884-1.00025-7>.
22. de Moura O.V.T. et al. Humic foliar application as sustainable technology for improving the growth, yield, and abiotic stress protection of agricultural crops. A review // *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2023. Vol. 22, no. 8. Pp. 493–513. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.05.001>.

Поступила в редакцию 15 ноября 2024 г.

Принята к публикации 9 февраля 2025 г.

Osina K.V.^{1,2}, Gunina A.A.²* APPLICATION OF HUMIC ACIDS TO INCREASE RESISTANCE OF GREEN ROOF PLANT COMMUNITY TO HEAVY METAL CONTAMINATION

¹ Tula State University, ave. Lenina, 92, Tula, 300012, Russia, kristina-syundyukova@yandex.ru

² Peoples' Friendship University of Russia, st. Miklukho-Maklaya, 8, Moscow, 117198, Russia

Green roofs provide several ecosystem services, but due to the accumulation of atmospheric dust, they can be contaminated with heavy metals, which can reduce plant growth and pollute water runoff. In this study, we tested the original humic acids (HA₀) isolated from black alder lowland peat and modified (HA_{mod}) by reduction with sodium borohydride. The targeted chemical modification increased the phenolic group content in HA_{mod} by 20% compared to HA₀, increasing the ability of HA_{mod} to reduce the toxic effect of heavy metal ions by binding them into non-toxic complexes. Testing with the “Ecolum” system showed that HA₀ and HA_{mod} at concentrations of 50 and 100 mg L⁻¹ did not have a toxic effect on microorganisms and can be used to reduce the toxicity

* Corresponding author.

of heavy metal ions. The addition of 50 mg L⁻¹ HA_{mod} reduced the toxicity of Cd²⁺ to an acceptable level, and the toxicity index for Zn²⁺ decreased by 2 times. The content of phenolic compounds in the test object (garden cress (*Lepidium sativum*)) grown on gray forest soil contaminated with cadmium (10 mg·kg⁻¹) and zinc (100 mg·kg⁻¹) ions decreased after the application of HA_{mod}, indicating a reduction of plant stress. HA_{mod} stimulated the root system of garden cress compared to the control; the total biomass increased by 90–120% compared to the substrate contaminated with Cd²⁺ and Zn²⁺ without the addition of HA_{mod}. Thus, HA_{mod} can be used to reduce the toxicity of heavy metal ions in substrates of green roofs.

Keywords: humic acids, heavy metal ions, toxicity, plant adaptation, green roofs, substrates, microorganisms.

For citing: Osina K.V., Gunina A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 4, pp. 416–424. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416183>.

References

1. Kazemi F., Mohorko R. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2017, vol. 23, pp. 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.02.006>.
2. Vanuytrecht E., Van Mechelen C., Van Meerbeek K., Willems P., Hermy M., Raes D. *Landscape and Urban Planning*, 2014, vol. 122, pp. 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2013.11.001>.
3. Berndtsson J.C., Emilsson T., Bengtsson L. *Science of the Total Environment*, 2006, vol. 355 (1-3), pp. 48–63. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.02.035>.
4. Speak A.F., Rothwell J.J., Lindley S.J., Smith C.L. *Atmospheric Environment*, 2012, vol. 61, pp. 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.07.043>.
5. de Melo B.A.G., Motta F.L., Santana M.H.A. *Materials Science and Engineering*, 2016, vol. 62, pp. 967–974. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.001>.
6. Ampomg K., Thilakaranthna M.S., Gorim L.Y. *Frontiers in Agronomy*, 2022, vol. 4, 848621. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.848621>.
7. Mackowiak C.L., Grossl P.R., Bugbee B.G. *Soil Science Society of America Journal*, 2001, vol. 65, no. 6, pp. 1744–1750. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.1744>.
8. Norman Q., Arancon N.O., Edwards C.A., Lee S., Byrne R. *European journal of soil biology*, 2006, vol. 42, pp. 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.06.004>.
9. Nardi S., Schiavon M., Francioso O. *Molecules*, 2021, vol. 26, no. 8, 2256. <https://doi.org/10.3390/molecules26082256>.
10. Gurova O.A., Somikova T.Y., Novikov A.A. et al. *Plant Archives*, 2020, vol. 20, no. 1, pp. 2847–2850.
11. Yakimenko O.S., Terekhova V.A. *Eurasian Soil Science*, 2011, vol. 44, no. 11, pp. 1222–1230. <https://doi.org/10.1134/S1064229311090183>.
12. Baryl A., Carrier P., Franck F. et al. *Planta*, 2001, vol. 212, pp. 696–709. <https://doi.org/10.1007/s004250000439>.
13. Ebbs S., Uchil S. *Photosynthetica*, 2008, vol. 46, pp. 49–55. <https://doi.org/10.1007/s11099-008-0010-3>.
14. Shaari N.E.M. et al. *Brazilian Journal of Biology*, 2022, vol. 84, e252143. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.252143>.
15. Marschner H., Cakmak I. *Journal of Plant physiology*, 1989, vol. 134, no. 3, pp. 308–315. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(89\)80248-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80248-2).
16. Kováčik J. et al. *Plant Science*, 2007, vol. 172, no. 2, pp. 393–399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.001>.
17. Dmitriyeva Ye.D., Syundyukova K.V., Akatova Ye.V., Leont'yeva M.M., Volkova Ye.M., Muzafarov E.H. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 137–144. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011418>. (in Russ.).
18. Akatova Ye.V., Dmitriyeva Ye.D., Syundyukova K.V., Leont'yeva M.M., Muzafarov E.H. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 119–127. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011382>. (in Russ.).
19. Trevisan S., Francioso O., Quaggiotti S., Nardi S. *Plant signaling & behavior*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. 635–643. <https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211>.
20. Canellas L.P., da Silva R.M., Busato J.G., Olivares F.L. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2024, vol. 11, no. 1, 66. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00575-z>.
21. Atero-Calvo S., Navarro-León E., Rios J.J., Blasco B., Ruiz J.M. *Biostimulants in Plant Protection and Performance*. Elsevier, 2024, pp. 89–106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15884-1.00025-7>.
22. de Moura O.V.T. et al. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 2023, vol. 22, no. 8, pp. 493–513. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.05.001>.

Received November 15, 2024

Accepted February 9, 2025

Сведения об авторах

Осина Кристина Викторовна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии, kristina-syundyukova@yandex.ru

Гунина Анна Андреевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, gunina_aa@pfur.ru

Information about authors

Osina Kristina Viktorovna – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of Chemistry, kristina-syundyukova@yandex.ru

Gunina Anna Andreevna – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, gunina_aa@pfur.ru