

УДК 551.464.4:551.464.7

СОДЕРЖАНИЕ АЗОТА, ФОСФОРА В ЛИСТЬЯХ ЗЛАКОВ И ДВУДОЛЬНЫХ ТРАВ И ОСОБЕННОСТИ ИХ РИЗОСФЕРНОЙ МИКРОФЛОРЫ НА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ ЗОЛООТВАЛАХ

© 2025 г. А. А. Бетехтина[®], О. А. Некрасова, А. В. Малахеева, О. В. Воропаева, М. Г. Малева

ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, ул. Мира, 19, Екатеринбург, 620002 Россия

[®]E-mail: a.a.betekhtina@urfu.ru

Поступила в редакцию 26.04.2024 г.

После доработки 13.02.2025 г.

Принята к публикации 13.02.2025 г.

Исследовано содержание азота (N) и фосфора (P) в листьях 6 видов злаков и 18 видов небобовых двудольных трав, а также непосредственно в субстратах нерекультивированных участков двух разновозрастных золоотвалов. Проанализировано общее количество микроорганизмов и азотфиксаторов, способных к фосфатсолюбилизации и синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в ризосфере двух пионерных (*Alopecurus aequalis*, *Ranunculus sceleratus*) и двух позднесукцессионных (*Poa pratensis*, *R. auricomus*) видов растений. Обнаружено более высокое содержание N и P и более низкое соотношение N/P в листьях двудольных трав по сравнению со злаками. Численность азотфиксаторов в ризосфере двудольных была выше, что совпадало с более высоким содержанием в ней общего азота. Доля азотфиксаторов, обладающих повышенной способностью к солюбилизации фосфатов и продукции ИУК, была существенно больше на ранних этапах зарастания золоотвала.

Ключевые слова: однодольные растения, небобовые двудольные растения, зола уноса, макроэлементы, молодые почвы, ростстимулирующие ризобактерии

DOI: 10.31857/S1026347025040086

На современном этапе развития для рекультивации земель, нарушенных в результате деятельности по добыче и переработке полезных ископаемых, необходимо накопление данных о сложных взаимодействиях растение–почва, растения–микроорганизмы и микроорганизмы–почва (Lambers *et al.*, 2008; van Schöll *et al.*, 2008; Shanmugam, Kingery, 2018; Cross, Aronson, 2023). Понимание процессов и механизмов формирования растительности в связи с функциональными особенностями ризосферного микробиома помогут выявить ведущие факторы формирования фитоценозов на техногенных субстратах.

Примером такого техногенного субстрата является образующаяся при сжигании угля электростанциями зола, складированная в золоотвалы, которые занимают большие площади в мире (Maiti, Pandey, 2020). Вновь образованный зольный субстрат характеризуется совокупностью неблагоприятных для роста и развития растений факторов: супесчаным гранулометрическим

составом со слабой влагоудерживающей способностью, как правило, сильнощелочной реакцией среды, низким содержанием азота и повышенными концентрациями некоторых тяжелых металлов (Пасынкова, 1974; Kostic *et al.*, 2018; Gajic *et al.*, 2018; Uzarowicz *et al.*, 2018; Nekrasova *et al.*, 2020, 2022; Dergacheva *et al.*, 2021). Тем не менее на подсыхающих участках золоотвалов (представляющих собой гидроотвалы) начинают спонтанно поселяться первые растения, представленные толерантными злаками и некоторыми видами бобовых и небобовых двудольных растений. Логично предположить, что в условиях золоотвалов поступление азота, необходимого растениям-пионерам, должно осуществляться главным образом за счет деятельности свободноживущих и симбиотических азотфиксаторов, заселяющих ризосферу этих растений (Unkovich, Baldock, 2008; Hsu, Buckley, 2009; Zhan, Sun, 2012). Некоторые из таких азотфиксирующих ризобактерий обладают способностью стимулировать рост растений (“Plant Growth

Promoting”, PGP) путем синтеза и/или высвобождения антибиотиков и гормонов роста, таких как индолил-3-уксусная кислота (ИУК) (Aquilanti *et al.*, 2004; Beneduzi *et al.*, 2008). Кроме того, процесс азотфиксации зависит от доступности фосфора в субстрате (Darcy *et al.*, 2018) и, в условиях дефицита доступных форм фосфора, может быть связан с численностью в ризосфере фосфатсольюбилизирующих бактерий.

Растения с разной потребностью в азоте (N) и фосфоре (P) по-разному влияют не только на микробный состав ризосферы, но и на саму прикорневую почву, изменяя ее pH, содержание органического вещества и элементов минерального питания, и, таким образом, воздействуют на ключевые факторы роста ризосферной микрофлоры, в том числе и на обратное поступление питательных веществ из почвы к растениям (Munoz *et al.*, 2021).

Кроме таксономического положения растения (Ling *et al.*, 2022), на состав и функциональную активность ризосферных микроорганизмов может влиять этап почвообразования (Mapelli *et al.*, 2018).

Изменение характеристик почвы – накопление органического углерода, повышение доступности N и изменение доступности P в ходе первичного почвообразования сопряжены со сменой доминирующих видов растений, которые, в свою очередь, могут быть ассоциированы с другим корневым ризобиомом (Mapelli *et al.*, 2018).

S.N. Gusewell (2004) было показано, что небобовые двудольные растения отличаются повышенным содержанием азота в листьях по сравнению со злаками, что позволяет высказать гипотезу о том, что потребность в этом элементе они могут компенсировать либо за счет увеличения численности азотфиксаторов, либо за счет повышения эффективности азотфиксации в ризосфере. Относительно низкое содержание фосфора у злаков (Gusewell, 2004), вероятно, связано с их меньшей потребностью в этом макроэлементе, а не с активностью фосфат-сольюбилизирующих бактерий.

Наши предыдущие исследования показали, что в ходе первичного почвообразования на золоотвалах содержание N в субстрате увеличивается, а P – уменьшается (Beteckina *et al.*, 2023); кроме того, возрастает доля злаков в составе растительности, что свидетельствует в пользу предположения о разной роли азотфиксирующих и фосфатсольюбилизирующих ризобактерий в сукцессионном процессе у однодольных и двудольных трав.

Целью работы было (1) оценить содержание азота и фосфора в листьях злаков и двудольных небобовых трав, а также в субстратах разновозрастных золоотвалов; (2) выявить общее количество микроорганизмов, в том числе азотфиксаторов, способных к сольюбилизации фосфатов и продукции ИУК в ризосфере модельных видов однодольных и двудольных растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Район исследования. Работы проведены на Среднем Урале (Россия), в Свердловской области, в окрестностях г. Верхний Тагил. Мезорельеф района холмисто-увалистый с преобладанием высот 300–350 м над ур. м. Климат умеренно континентальный с продолжительной (5–6 мес.) холодной зимой и коротким (около 3 мес.) теплым летом. Среднегодовая температура воздуха составляет +1.9 °C, среднегодовое количество осадков – 660 мм. Территория исследования находится в пределах Белоярского южно-таежного ботанико-географического округа Свердловской области с сосновыми с лиственницей и сосново-еловыми коренными лесами и вторичными березовыми и смешанными лесами.

Местообитания и пробные площади. Работы были проведены на двух разновозрастных золоотвалах золы уноса Верхнетагильской государственной районной электростанции (ВТГРЭС). Молодой золоотвал (57°40' с.ш., 59°90' в.д.) сложен золой бурых углей Экибастузского месторождения (Казахстан) и занимает площадь 358 га. Выбранный на этом золоотвале участок, используемый для исследования раннесукцессионных видов растений, был расположен на расстоянии от 0.5 до 5 м от уреза воды технологического пруда в центре золоотвала. Продолжительность его самопроизвольного зарастания на момент проведения полевого этапа работы (2020–2021 гг.) составила 5–8 лет.

Старый золоотвал (57°20' с.ш., 59°56' в.д.) сложен золой бурых углей Челябинского и Богословского месторождений (Урал, Россия) и занимает площадь 125 га. Нерекультивированный участок, выбранный на старом золоотвале для исследования поздне-сукцессионных видов растений, заселялся спонтанно живыми организмами в течение 55–60 лет. На каждом участке было заложено по две-три пробные площади размером 10 × 10 м.

На исследуемом участке молодого золоотвала сформировалась простая растительная группировка однолетних и многолетних растений с преобладанием *Oxybasis glauca*, *Rorippa* sp., *Artemisia vulgaris*, *Artemisia absinthium*, *Epilobium* sp., *Alopecurus aequalis*, *Persicaria maculosa*, *Ranunculus sceleratus*, *Calamagrostis epigejos*, *Tripleurospermum inodorum*, *Puccinellia distans*, *Salix* sp. и др. и средним проективным покрытием надземных частей растений, равным 0–5%, и сложная группировка с преобладанием многолетних растений *Melilotus albus*, *Melilotus officinalis*, *Tussilago farfara*, *Trifolium pratense*, *P. distans*, *T. inodorum*, *Agrostis gigantea*, *Bidens tripartita*, *Rorippa* sp., *Trifolium hybridum*, *Epilobium palustre* и др. и средним проективным покрытием надземных частей растений, составляющим 5–10%.

На участке старого золоотвала сформировалось разнотравно-злаковое сообщество с доминированием *C. epigeios*, *Poa pratensis*, *Pimpinella saxifraga*, *Silene nutans*, *Achillea millefolium*, *Epilobium angustifolium*, *Erigeron acris*, *Plantago media* и др. (всего 34 вида) со средним проективным покрытием надземных частей растений 50% и лесное сообщество, древесный ярус которого представлен *Betula pendula*, *Betula pubescens* и *Populus tremula* возрастом 35–40 лет и высотой 8–14 м, в напочвенном покрове зарегистрировано 26 видов, среди которых доминируют *Pyrola rotundifolia*, *Orthilia secunda*, *P. pratensis*, *Ranunculus auricomus*, *Trifolium repens*, встречаются *Neottia ovata*, *Platanthera bifolia*. Среднее покрытие крон составляло 60–70%, среднее проективное покрытие надземных частей растений травяно-кустарничкового яруса – 20–25%. Названия видов растений даны по: The Plant List [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/> (дата обращения: 21.11.2022).

Отбор и химический анализ образцов формирующихся почв. На каждой пробной площади было заложено и описано по 3 почвенных разреза. Образцы для аналитических исследований отбирали подробно, послойно, с учетом видимых границ формирующихся почвенных горизонтов, а затем подготавливали к анализу общепринятыми методами. Для установления физико-химических характеристик корнеобитаемого слоя (глубина 10 см) основных почв разновозрастных золоотвалов рассчитывали среднезвешенные значения показателей, учитывающие вклад слагающих ее горизонтов. Для исследования ризосферной почвы отбирали по 3 образца, находящихся в непосредственном контакте с корнями модельных видов растений (так называемые корневые бусы). Значения рН определяли в водной суспензии при соотношении почвы и воды – 1 : 2,5 (масса : объем) с помощью потенциометра Анион 4100 (Россия); удельную электропроводность (ЕС) определяли с помощью портативного кондуктометра Hanna Instruments HI98312 DiST 6 (Германия). Содержание органического углерода ($C_{\text{орг}}$) определяли методом мокрого сжигания по Тюрину (Аринушкина, 1970); общего азота ($N_{\text{общ}}$) – методом мокрого сжигания по Кьельдалю (с использованием Heating Digestor DK 20 Velp и Distillation Unit UDK 127 Velp, Италия) и титриметрическим окончанием (ГОСТ 26889-86, 2010); подвижного фосфора (P_2O_5) – спектрофотометрически при 700 нм по Чирикову с использованием UV Probe-1650 (Япония) (Аринушкина, 1970).

Отбор и химический анализ образцов растений. На каждой пробной площади отбирали неповрежденные листья у генеративных растений, имеющих наибольшее проективное покрытие. Для каждой пробной площади из смешанного образца листьев, принадлежащих одному виду

растения, для дальнейших аналитических исследований были сформированы 2–3 пробы листьев массой по 10 г в свежем состоянии. Пробы сушили 48 ч при 70 °С, затем тонко измельчали. Содержание N в растительном материале определяли в трехкратной повторности тем же методом, что и в образцах зольного субстрата. Содержание общего фосфора определяли спектрофотометрически после мокрого сжигания по Кьельдалю. Всего проанализировано 15 видов однодольных (*A. gigantea*, *A. aequalis*, *C. epigeios*, *P. distans*) и двудольных (*O. glauca*, *Rorippa* sp., *A. vulgaris*, *A. absinthium*, *Epilobium* sp., *P. maculosa*, *R. sceleratus*, *T. inodorum*, *T. farfara*, *B. tripartita*, *E. palustre*) растений молодого золоотвала и 10 однодольных (*Agrostis* sp., *C. epigeios*, *P. pratensis*) и двудольных (*P. saxifraga*, *S. nutans*, *A. millefolium*, *E. angustifolium*, *E. acris*, *P. media*, *R. auricomus*) видов старого золоотвала. Итого было проанализировано 6 видов злаков и 18 видов небобовых двудольных трав. Единицей наблюдения в статистическом анализе было значение признака у вида на пробной площади ($n = 30$).

Отбор растений для анализа ризосферной микрофлоры. На исследуемых участках разновозрастных золоотвалов было отобрано по одному виду однодольных (злаки) и двудольных (лютики) травянистых растений: *A. aequalis* и *R. sceleratus* – на молодом и *P. pratensis* и *R. auricomus* – на старом золоотвалах. Отбирали зрелые растения в генеративной фазе. Каждый вид отбирали в 5-кратной повторности. Модельные растения выкапывали с небольшим комом почвы и помещали в стерильные пакеты. После поступления образцов в лабораторию отделяли ризосферную почву от корней и методом посева на плотные питательные среды определяли общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на среде МПА (мясопептонном агаре) и количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных азотфиксирующих микроорганизмов (КМАФАнАМ) на безазотистой среде Эшби (Нетрусов и др., 2005). Значения КМАФАнМ и КМАФАнАМ выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г сухого веса почвы. Для этого образцы почв высушивали в течение 5 ч и 105 °С до постоянного веса и рассчитывали отношение сырого веса к сухому.

Для определения количества азотфиксирующих ризобактерий, способных к солюбилизации недоступных форм фосфатов и синтезу ИУК, выделяли чистые культуры на твердой питательной среде Эшби путем многократного пересева изолированных колоний и проводили их скрининг по культуральным признакам. Было отобрано из ризосферы *A. aequalis* и *R. sceleratus* (молодой золоотвал) по 40 и 58 чистых культур соответственно; из ризосферы *P. pratensis* и *R. auricomus* (старый золоотвал) – по 50 чистых культур.

Способность изолятов солиubilизировать фосфаты определяли спектрофотометрическим методом с использованием ванадий-молибденового реактива (Ribeiro, Cardoso, 2012). Изоляты инкубировали на жидкой среде NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate) в течение 10 дней при 28 °C (10^8 КОЕ/мл), после чего к супернатанту и дистиллированной воде добавляли реактив. В качестве контроля использовали среду NBRIP без добавления бактерий. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 420 нм. В качестве контроля использовали среду NBRIP без добавления бактерий. Способность солиubilизировать фосфаты оценивали путем построения калибровочной кривой на основе стандартно-раствора дигидроортофосфата калия (KH_2PO_4) и выражали в мг PO_4^{3-} /л.

Способность выделенных ризобактерий синтезировать ИУК оценивали после их культивирования в течение 5 суток на среде Эшби с добавлением *L*-триптофана, при постоянном перемешивании и температуре 28 °C. Выросшие культуры (10^8 КОЕ/мл) центрифугировали, а супернатант смешивали с реактивом Сальковского в соотношении 1 : 1. Концентрацию ИУК измеряли на планшетном спектрофотометре Infinity 200Pro "Tecan" (Австрия) при 530 нм (Bric *et al.*, 1991). В качестве стандарта брали коммерчески доступную ИУК ("Sigma-Aldrich", США).

Статистический анализ. Расчеты выполнены в пакете MS Excel 16.0 (США) и STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США): SE – стандартная ошибка; SD – стандартное отклонение. При сравнении данных использовали дисперсионный анализ (one-way и two-way ANOVA). Единицей наблюдения в статистическом анализе было значение признака у вида на пробной площади.

Для анализа особенностей содержания N и P у растений разновозрастных участков использовали one-way ANOVA. В случае значимого влияния рассматриваемого фактора проводили попарное сравнение между его категориями с использованием апостериорного критерия Тьюки (Tukey HSD) при $p < 0.05$. Учетной единицей во всех случаях было среднее по трем повторностям образцов значения признака у вида на каждом участке. Различия между КМАФАНМ и КМАФАНМ в ризосфере модельных видов растений оценивали путем

попарного сравнения с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney *U*-test) при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Заселение золоотвалов растениями сопряжено с постепенным формированием на их поверхности почв – эмбриоземов (Гаджиев, Курачев, 1992). Сравнение средневзвешенных характеристик корнеобитаемого слоя основных почв исследуемых золоотвалов (табл. 1) показало, что почвенный субстрат молодого золоотвала имел слабощелочную реакцию среды (в отличие от околонеutralной на старом), более высокие значения удельной электропроводности (в 1.7 раза), сравнимое содержание общего органического углерода и фосфора, а также более низкое количество общего азота (в 4.6 раза).

Содержание азота в листьях всех изученных растений не зависело от содержания N и P в почве ($F_N = 0.45$, $p = 0.51$; $F_P = 0.002$, $p = 0.96$). В то же время содержание азота в листьях значительно различалось у злаков и двудольных трав согласно one-way ANOVA ($F_{\text{класс}} = 9.08$, $p = 0.006$, рис. 1а, б). В листьях двудольных растений на обоих участках обнаружено повышенное содержание N (молодой золоотвал – 18.6 ± 1.6 мг/г сухого веса; старый золоотвал – 18.9 ± 2.3 мг/г сухого веса) по сравнению с однодольными (молодой золоотвал – 13.6 ± 2.3 мг/г сухого веса; старый золоотвал – 10.3 ± 2.0 мг/г сухого веса).

Содержание фосфора также значительно различалось только у однодольных и двудольных ($F = 21.62$, $p = 0.00008$) трав. У двудольных растений содержание P в листьях было выше на обоих золоотвалах (молодой – 3.18 ± 0.25 мг/г сухого веса; старый – 3.23 ± 0.39 мг/г сухого веса), чем у злаков (молодой – 1.45 ± 0.39 мг/г сухого веса; старый – 1.37 ± 0.43 мг/г сухого веса) (рис. 2а, б).

Соотношение N и P не изменялось в зависимости от стадии сукцессии ($F = 0.79$, $p = 0.384$), но варьировало у злаков и двудольных трав ($F = 4.94$, $p = 0.035$). У злаков это соотношение было равно 10 на молодом золоотвале и 15 – на старом, а у двудольных трав независимо от стадии сукцессии оставалось равным 6.

Для выяснения того, как содержание N и P в листьях растений связано с изменением свойств

Таблица 1. Физико-химические характеристики корнеобитаемого слоя основных почв разновозрастных золоотвалов

Тип золоотвала	pH _{H2O}	ЕС, мкСм/см	C _{орг} , %	N _{общ} , %	P ₂ O ₅ , мг/100 г
Молодой	7.7 ± 0.1	399.9 ± 49.7	4.38 ± 0.15	0.07 ± 0.003	32.1 ± 3.1
Старый	6.7 ± 0.3**	232.6 ± 30.2*	5.25 ± 1.31	0.32 ± 0.06**	24.5 ± 3.4

Примечание. Звездочками отмечены достоверные различия между разновозрастными золоотвалами при $p^* < 0.05$; $** < 0.01$.

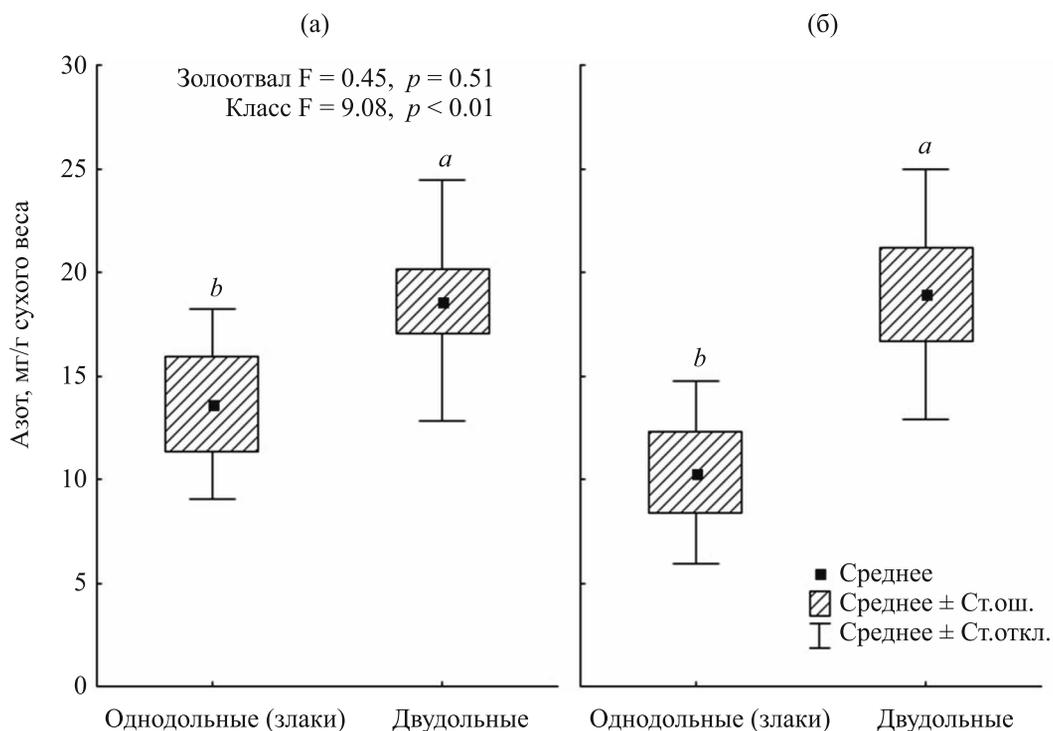


Рис. 1. Содержание азота в листьях однодольных и двудольных видов растений на разновозрастных золоотвалах: (а) – молодой золоотвал, (б) – старый золоотвал. Точка – среднееарифметическое значение ($n = 26$), заштрихованная область – SE, концевые отметки – SD. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия между вариантами при $p < 0.05$.

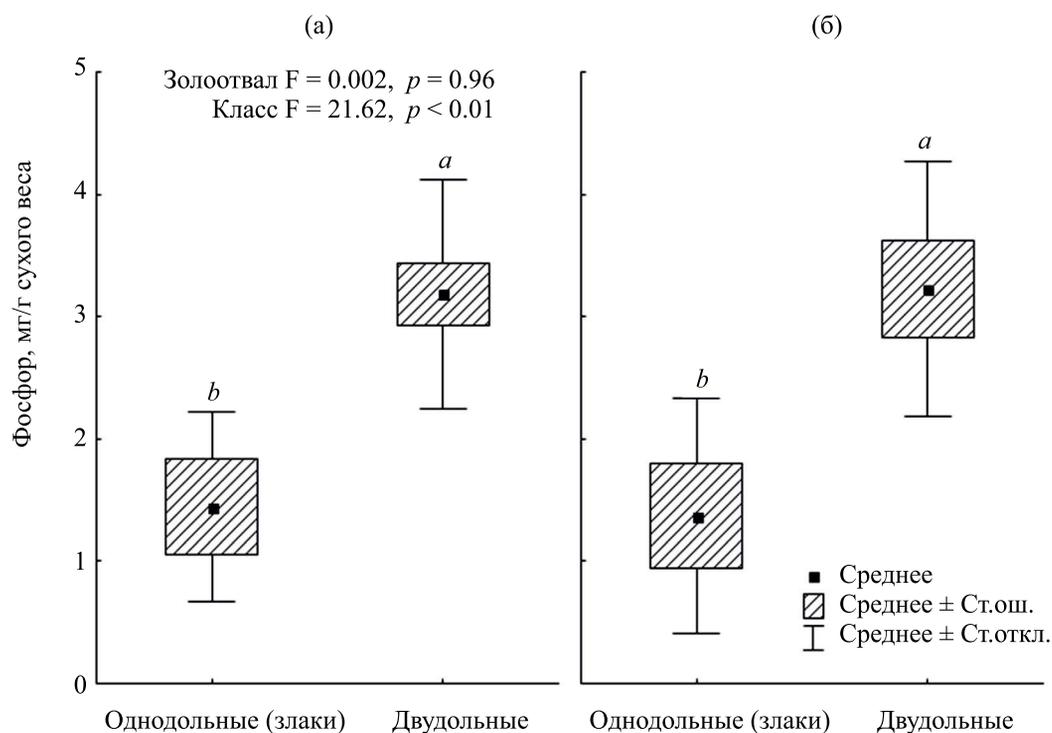


Рис. 2. Содержание фосфора в листьях однодольных (злаки) и двудольных травянистых растений на разновозрастных золоотвалах ВТГРЭС: (а) – молодой золоотвал, (б) – старый золоотвал. Точка – среднееарифметическое значение ($n = 26$), заштрихованная область – SE, концевые отметки – SD. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия между вариантами при $p < 0.05$.

их ризосферной почвы и РGP-активностью ризосферной микрофлоры, мы использовали модельные виды однодольных (злаки) и двудольных (лютики) растений, произрастающих на разновозрастных золоотвалах: *A. aequalis* и *R. sceleratus* – на молодом и *P. pratensis* и *R. auricomus* – на старом.

Значения pH ризосферной почвы всех рассматриваемых видов растений на обоих золоотвалах были сдвинуты в менее щелочную область и значительно отличались от основной почвы (табл. 1 и 2). На старом золоотвале подкисление ризосферной почвы было более выражено, pH смещен в область низких значений на 1.08 у *P. pratensis* и 1.15 – у *R. auricomus*, в то время как на молодом золоотвале сдвиг pH не превысил 0.50.

Содержание $C_{орг}$ в ризосферной почве модельных видов растений на молодом и старом золоотвалах имело более высокие значения по сравнению с основными почвами, особенно резкое увеличение (на 47%) было отмечено в прикорневой почве *R. auricomus* на старом золоотвале.

Показатель содержания общего азота по-разному реагировал на присутствие растений на молодом и старом золоотвалах. В ризосферной

почве всех изученных раннесукцессионных видов содержание $N_{общ}$ было выше, чем в основной почве молодого золоотвала (табл. 2). В то же время на старом золоотвале величина $N_{общ}$ в ризосферной почве двудольного вида *R. auricomus* значимо не отличалась от основной, а у однодольного *P. pratensis* она снижалась в 1.8 раза.

При этом в прикорневой почве лютиков обоих золоотвалов значения $N_{общ}$ были выше, чем в аналогичной почве злаков. Особенно существенно по содержанию $N_{общ}$ отличалась ризосферная почва пионерного вида *R. sceleratus* относительно основной почвы.

У ризосферной почвы всех модельных видов прослеживается общая тенденция снижения концентрации подвижных форм фосфора по сравнению с основной почвой (табл. 1 и 2), хотя в прикорневой почве *A. aequalis* уменьшение этого показателя оказалось не значимо (табл. 2).

Общая численность микроорганизмов (КМАФАНМ) в ризосфере исследуемых видов на старом золоотвале в среднем была в 5 раз выше по сравнению с молодым и в 2.2 раза больше у двудольных трав по сравнению со злаками (табл. 3).

Таблица 2. Физико-химические характеристики ризосферной почвы однодольных (*A. aequalis* и *P. pratensis*) и двудольных (*R. sceleratus* и *R. auricomus*) видов растений на разновозрастных золоотвалах

Вид растения	pH _{H2O}	$C_{орг}$, %	$N_{общ}$, %	P ₂ O ₅ , мг/100 г
Молодой золоотвал				
<i>A. aequalis</i>	7.37 ± 0.03 ^{a*}	5.4 ± 1.1 ^{b*}	0.13 ± 0.002 ^{d***}	31.55 ± 2.81 ^a
<i>R. sceleratus</i>	7.22 ± 0.16 ^{a*}	4.5 ± 0.1 ^c	0.16 ± 0.003 ^{c***}	4.20 ± 0.37 ^{b**}
Старый золоотвал				
<i>P. pratensis</i>	5.62 ± 0.05 ^{b*}	5.7 ± 1.4 ^b	0.18 ± 0.002 ^{b*}	8.99 ± 0.43 ^{b*}
<i>R. auricomus</i>	5.55 ± 0.05 ^{b*}	7.7 ± 0.5 ^{a*}	0.36 ± 0.002 ^a	7.84 ± 0.58 ^{b*}

Примечание: звездочками отмечены достоверные различия между характеристиками ризосферной и основной почв разновозрастных золоотвалов при $p^* < 0.05$; $** < 0.001$; $*** < 0.0001$; разными латинскими буквами отмечены достоверные различия между видами растений при $p < 0.05$.

Таблица 3. Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАНМ) и количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных азотфиксаторов (КМАФАНАМ), выделенных из ризосферы однодольных (*A. aequalis* и *P. pratensis*) и двудольных (*R. sceleratus* и *R. auricomus*) видов растений на разновозрастных золоотвалах

Вид растения	КМАФАНМ, × 10 ⁷ КОЕ/г сухой почвы	КМАФАНАМ, × 10 ⁷ КОЕ/г сухой почвы
Молодой золоотвал		
<i>A. aequalis</i>	0.70 ± 0.01 ^b	0.14 ± 0.008 ^b
<i>R. sceleratus</i>	1.90 ± 0.07 ^a	0.98 ± 0.009 ^a
Старый золоотвал		
<i>P. pratensis</i>	4.90 ± 0.12 ^{b*}	0.12 ± 0.006 ^b
<i>R. auricomus</i>	8.30 ± 0.13 ^{a*}	0.63 ± 0.007 ^{a*}

Примечание. Звездочками (*) отмечены достоверные различия между разновозрастными золоотвалами при $p < 0.05$; разными латинскими буквами отмечены достоверные различия между однодольными и двудольными растениями при $p < 0.05$.

Количество азотфиксирующих ризобактерий (КМАФАнАМ) на молодом золоотвале по сравнению с их общим содержанием отличалось незначительно (было меньше в 3.5 раза), в то время как на старом – снижалось почти в 30 раз (табл. 3). При этом между собой по количеству азотфиксаторов разновозрастные золоотвалы практически не различались, но обнаружена тенденция к увеличению их численности у двудольных трав по сравнению со злаками (в среднем в 6 раз).

Была проведена оценка выделенных на твердой питательной среде азотфиксирующих колоний ризобактерий на способность к солюбилизации недоступных форм фосфатов и продукции ИУК. Бактерии, обладающие способностью продуцировать PO_4^{3-} в пределах от 0 до 5 мг/л, считались неспособными к солюбилизации фосфатов; в диапазоне от 5 до 50 мг/л – обладающими слабой способностью; от 50 до 100 мг/л – средней; и более 100 мг/л – высокой (рис. 3а, б). Разновозрастные золоотвалы отличались по активности фосфат-солюбилизирующих ризобактерий: на молодом золоотвале доля бактерий со средней и высокой способностями была существенно выше (рис. 3а), по сравнению со старым золоотвалом (рис. 3б). При этом также наблюдались различия между злаками и лютиками, особенно на старом золоотвале, где у однодольного вида преобладали ризобактерии, неспособные или со слабой способностью к солюбилизации фосфатов (рис. 3б).

Была также проведена оценка выделенных колоний на их способность к синтезу гормона роста. Бактерии, продуцирующие ИУК в диапазоне от 0 до 5 мг/л, считались неспособными к ее синтезу; от 5 до 50 мг/л – со средней способностью, и выше

50 мг/л – с высокой способностью. Отмечены существенные различия как между разновозрастными золоотвалами, так и между злаками и двудольными травами (рис. 4а, б). На молодом золоотвале доля азотфиксаторов, способных к среднему и высокому синтезу ИУК, была существенно выше как у однодольного *A. aequalis*, так и двудольного *R. sceleratus* (в среднем 56% против 17% на старом золоотвале). При этом у лютиков доля неспособных к синтезу ИУК ризобактерий была в 1.5 раза больше по сравнению с лютиком (рис. 4а). На старом золоотвале также наблюдались некоторые различия между этими группами растений, особенно в количестве бактерий, способных к высокому синтезу ИУК – у *P. pratensis* они полностью отсутствовали (рис. 4б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе для реконструкции раннего и позднего этапов сукцессии были использованы разновозрастные золоотвалы. Выявлено, что условия произрастания позднесукцессионных растений (на старом золоотвале) отличались от таковых у раннесукцессионных (на молодом золоотвале) более кислой реакцией среды и большим содержанием общего азота в почве.

Концентрации азота и фосфора, а также соотношение N/P в листьях растений обоих золоотвалов указывают на дефицит N, несмотря на кратное увеличение содержания его в почве. Отсутствие изменения содержания N в листьях по градиенту времени почвообразования соответствует ранее опубликованным данным. На примере зарастания песчаных

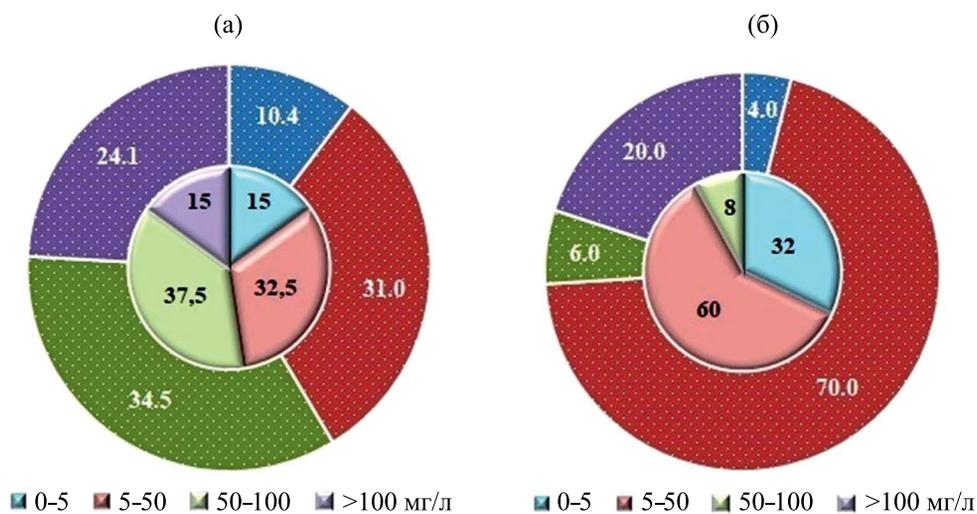


Рис. 3. Процентное распределение штаммов азотфиксирующих ризобактерий, выделенных у однодольных (внутренняя объемная окружность) и двудольных (наружная окружность с точками) растений, с разной способностью к фосфатсолюбилизации на молодом (а) и старом (б) золоотвалах.

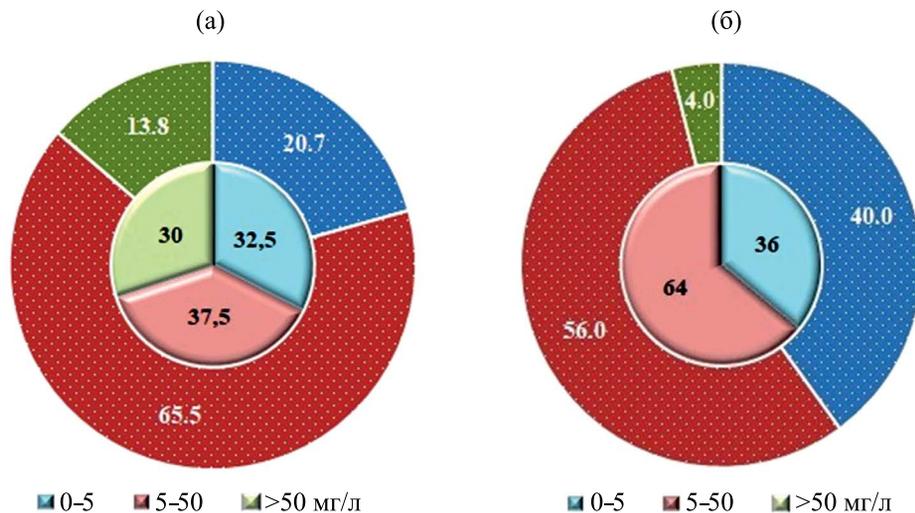


Рис. 4. Процентное распределение штаммов азотфиксирующих ризобактерий, выделенных у однодольных (внутренняя объемная окружность) и двудольных (наружная окружность с точками) растений, с разной способностью к синтезу ИУК на молодом (а) и старом (б) золоотвалах.

дюд также показано отсутствие достоверного возрастания уровня N в листьях при увеличении его содержания в почве (Hayes *et al.*, 2014). Критерием доступности N и P в почве является соотношение N/P в растениях (Koerselman, Meuleman, 1996; Gusewell, 2004). Согласно W. Koerselman, A.F. Meuleman (1996), растения считаются лимитированы по азоту при $N/P \leq 14$, в то же время, в более поздней работе (Güsewell, 2004), указано, что растения испытывают его дефицит уже при $N/P \leq 10$.

При ориентире на константу $N/P \leq 14$ все изученные двудольные и злаки на молодом золоотвале были лимитированы низкой доступностью N. При константе $N/P \leq 10$ только двудольные были лимитированы по N.

Несмотря на сравнительно низкие концентрации общего N в эмбриоземах молодого золоотвала (относительно старого), растения, произрастающие в этих условиях, не отличались по содержанию N в листьях от растений старого золоотвала. Это можно объяснить тем, что у растений на начальных этапах сукцессии, вероятно, существуют приспособления, например, в виде хорошо развитых корневых волосков, которые способствуют быстрому поглощению N, поступающего из осадков, а также от свободноживущих (Brady, Well, 2013; Zhong *et al.*, 2021;) или симбиотических азотфиксаторов.

Содержание P в растениях также не было связано с его уровнем в почвах. Это можно объяснить тем, что на изученных золоотвалах P не является ограничивающим фактором и, несмотря на некоторое снижение содержания этого макроэлемента в почве в ходе сукцессии, его количество

на старом золоотвале остается достаточным для нормального роста растений.

Основная причина варьирования N и P в листьях в нашем массиве данных — это различия между злаками и двудольными небобовыми травами. Двудольные растения отличались более высоким содержанием N и P и низким соотношением N/P в листьях по сравнению с однодольными независимо от условий произрастания. Более низкое содержание N в листьях злаков может быть связано с особой анатомией их листа с высокой долей механических и проводящих тканей, таких как склеренхима и ксилема (Wahl, Ryser, 2000), и низкой долей фотосинтетических тканей, содержащих N. Отчетливые различия однодольных и двудольных трав по содержанию N и P, а также их соотношению (N/P) свидетельствуют о более низкой потребности злаков в питательных веществах (Gusewell, 2004).

На начальных этапах почвообразования получение питательных веществ, особенно N, растения могут компенсировать привлечением ризосферной микрофлоры, которая может оказывать дополнительное ростстимулирующее воздействие (Aquilanti *et al.*, 2004; Beneduzi *et al.*, 2008), что также обеспечивает адаптационный потенциал пионерных видов. В данной работе мы не можем говорить об общей структуре микробного сообщества и его биоразнообразии, поскольку материалы получены на основе культивирования микроорганизмов, поэтому они описывают только культивируемые бактерии, которые, по некоторым оценкам, составляют лишь небольшую часть (0,1–10%) от общего числа бактерий, присутствующих в почве и ризосфере (Amann *et al.*, 1995). Тем не менее в нашем

исследовании общее количество микроорганизмов в некоторой степени зависело как от этапа почвообразования, так и принадлежности к модельному виду злаков или небобовых двудольных растений, а также находилось под влиянием свойств ризосферной почвы. На старом золоотвале условия способствовали развитию ризосферного микробиома с большей численностью микроорганизмов по сравнению с начальным этапом почвообразования. Это хорошо согласуется с данными, полученными ранее для антропогенных почв, где показана положительная связь численности микроорганизмов с ростом содержания элементов питания и органического углерода в почве (Cross, Agonson, 2023). В нашем исследовании численность азотфиксирующих ризосферных микроорганизмов на разных этапах почвообразования практически не менялась, однако их фосфатсольбилизирующая активность была приурочена к ризосфере растений молодого золоотвала, что может быть связано с необходимостью в повышенной минерализации органических фосфатов под действием ферментов бактерий (Krishnaraj, Dahale, 2014).

Общее количество азотфиксирующих ризобактерий в процессе сукцессии было выше у двудольных трав, чем у злаков, что предполагает более активное участие азотфиксаторов в азотном питании двудольных независимо от этапа почвообразования. В литературе показано, что разные виды растений могут участвовать в формировании специфичных ризобиомов и оказывать влияние на численность ризосферных микроорганизмов (Duc *et al.*, 2009; Zhan, Sun, 2012). Кроме участия в цикле N, многие ризосферные микроорганизмы могут стимулировать рост корневой системы и растения в целом за счет синтеза ИУК в прикорневой зоне и в клетках корней (Спраерен *et al.*, 2007; Мацкова и др., 2015). Увеличение доли PGP-ризобактерий, способных к активному синтезу ИУК у пионерных растений, возможно, позволяет этим видам успешно адаптироваться к экстремальным условиям начальных этапов зарастания техногенного субстрата.

Корневые экссудаты могут являться движущей силой микробиологической активности (Naichar *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2021), в том числе благодаря модификации исходных свойств субстрата — за счет буферизации pH почвы и повышения доступности питательных веществ в почве для бактериальных и грибных сообществ (Lauber *et al.*, 2008). Наблюдаемую тенденцию к увеличению КМАФАНМ на старом золоотвале по сравнению с молодым при смещении pH в более кислую область можно объяснить тем, что для микроорганизмов такая среда является более оптимальной, что ранее неоднократно описано в литературе (Lauber *et al.*, 2008, 2009; Naz *et al.*, 2022).

Мы не можем связать увеличение общей численности микроорганизмов, в том числе азотфиксаторов, с реакцией на изменение содержания

углерода в прикорневой почве — его прирост был отмечен только для *A. aequalis* на молодом золоотвале и *R. auricomus* — на старом (относительно основной почвы). Содержание общего N в ризосферной почве модельных растений по сравнению с основной было достоверно выше на молодом золоотвале, в то время как на старом оно либо оставалось неизменным (у *R. auricomus*), либо снижалось почти в 2 раза (*P. pratensis*). Не исключено, что именно азотфиксирующие ризобактерии играли определенную роль в поддержании уровня азота в ризосферной почве двудольных трав. В отличие от углерода и N, содержание подвижного P в ризосферной почве (в сравнении с основной) на молодом золоотвале значимо снижалось лишь у лютика, в то время как на старом — у обоих модельных видов, что может быть связано с его активной мобилизацией растениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают, что для накопления N и P в листьях растений разновозрастных золоотвалов определяющее значение имеет не содержание N и P в эмбриоземах, а принадлежность к группе злаки/небобовые двудольные. У небобовых двудольных трав в сравнении со злаками выявлено повышенное содержание N и P в листьях и низкое соотношение N/P, что совпадало с более высокой численностью азотфиксирующих бактерий в их ризосфере. Выявленные различия между пионерными видами растений (на молодом золоотвале) по содержанию общего N в прикорневой почве предполагают более высокую активность азотфиксации на ранних этапах почвообразования. Злаки и небобовые двудольные растения на старом золоотвале оказывали влияние на свойства прикорневой почвы, вызывая подкисление среды и снижение содержания подвижных фосфатов по сравнению с основной почвой. Это соответствовало более низкой фосфатсольбилизирующей активности выделенных из их ризосферы азотфиксаторов. Независимо от возраста золоотвала более высокое содержание N в прикорневой почве лютиков в сравнении со злаками подтверждает повышенную азотфиксацию в ризосфере двудольных растений. Для уточнения выявленных закономерностей необходимо изучение большего числа видов однодольных и двудольных растений на разных малопродуктивных субстратах.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00248, <https://rscf.ru/project/24-26-00248/>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ариунушкина Е.В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 478 с.
- Гаджиев И.М., Курачев В.М.* Генетические и экологические аспекты исследования и классификация почв техногенных ландшафтов // Экология и рекультивация техногенных ландшафтов. 1992. С. 6–15.
- ГОСТ 26889-86 Продукты пищевые и вкусовые. Общие указания по определению содержания азота методом Кьельдаля. М.: Стандартинформ, 2010. 22 с.
- Мацкова Ю.А., Олюнина Л.Н., Сухов В.С., Неруш В.Н., Силицына Ю.В., Веселов А.П.* Влияние продуцирующих индол-3-уксусную кислоту бактерий *Azotobacter chroococcum* 66 и *Pseudomonas putida* NBr9 на термоустойчивость проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Фундаментальные исследования. 2015. № 7 (4). С. 682–686.
- Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др.* Практикум по микробиологии: Учебное пособие для студентов высших учебных заведений. М.: Издательский центр “Академия”, 2005. 608 с.
- Пасынкова М.В.* Зола углей как субстрат для выращивания растений // Растения и промышленная среда. 1974. С. 29–44.
- Amann R.I., Ludwig W., Schleifer K.H.* Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation // Microbiol. Rev. 1995. V. 59. № 1. P. 143–169. <https://doi.org/10.1128/MMBR.59.1.143-169.1995>
- Aquilanti L., Mannazzu I., Papa R., Cavalca L., Clementi F.* Amplified ribosomal DNA restriction analysis for the characterization of Azotobacteraceae: a contribution to the study of these free-living nitrogen-fixing bacteria // J. Microbiol. Methods. 2004. V. 57. № 2. P. 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.01.006>
- Beneduzi A., Peres D., da Costa P.B., Zanettini M.H.B., Passaglia L.M.P.* Genetic and phenotypic diversity of plant-growth-promoting bacilli isolated from wheat fields in southern Brazil // Res. Microbiol. 2008. V. 159. № 4. P. 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.03.003>
- Betekhtina A.A., Nekrasova O.A., Uchaev A.P., Nekrashevich P.S., Malaheeva A.V., Radchenko T.A., Dubrovina D.I., Petrova T.A., Veselkin D.V.* Over 50 Years of Overgrowth of the Ash Dump, The Content of Nitrogen and Phosphorus Changed in Young Soils but it Did Not Change in Plants // Russ. J. Ecol. 2023. V. 54. № 4. P. 287–296. <https://doi.org/10.1134/S1067413623040045>
- Brady N.C., Well R.R.* Elementos da natureza e propriedades dos solos. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 686 p.
- Bric J.M., Bostock R.M., Silverstone S.E.* Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane // Appl. Environ. Microb. 1991. V. 57. № 2. P. 535–538. <https://doi.org/10.1128/AEM.57.2.535-538.1991>
- Cross A.T., Aronson J.* Plant-soil-microbe interactions and drivers in ecosystem development and ecological restoration // Front. Ecol. Evol. 2023. V. 11. 1216016. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1216016>
- Darcy J.L., Schmidt S.K., Knelman J.E., Cleveland C.C., Castle S.C., Nemergut D.R.* Phosphorus, not nitrogen, limits plants and microbial primary producers following glacial retreat // Sci. Advances. 2018. V. 4. № 5. P. 1–7. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aag0942>
- Dergacheva M., Trunova V., Nekrasova O., Siromlya T., Uchaev A., Bazhina N., Betekhtina A.* Assessment of the macro- and microelement composition of fly ash from 50-year-old ash dumps in the Middle Urals (Russia) // Metals. 2021. V. 11. № 10. 1589. <https://doi.org/10.3390/met11101589>
- Duc L., Noll M., Meier B.E., Bürgmann H., Zeyer J.* High diversity of diazotrophs in the forefield of a receding alpine glacier // Microb. Ecol. 2009. V. 57. P. 179–190. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9408-5>
- Gajic G., Djurdjevic L., Kostic O., Jaric S., Mitrovic M., Pavlovic P.* Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash deposits and mine wastes // Front. Environ. Sci. 2018. V. 6. № 124. P. 1–24. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00124>
- Gusewell S.* N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance // New Phytologist. 2004. V. 164 (2). P. 243–266. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01192.x>
- Haichar F.e.Z., Santaella C., Heulin T., Achouak W.* Root exudates mediated interactions belowground // Soil Biol. Biochem. 2014. V. 77. P. 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.06.017>
- Hayes P.E., Turner B.L., Lambers H., Laliberte E.* Foliar nutrient concentrations and resorption efficiency in plants of contrasting nutrient-acquisition strategies along a 2-million-year dune chronosequence // J. Ecol. 2014. V. 102. P. 396–410. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12196>
- Hsu S.-F., Buckley D.H.* Evidence for the functional significance of diazotroph community structure in soil // ISME J. 2009. V. 3. № 1. P. 124–136.
- Koerselman W., Meuleman A.F.* The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation // J. Appl. Ecol. 1996. V. 33. № 6. P. 1441–1450. <https://doi.org/10.2307/2404783>

- Kostić O., Jarić S., Gajić G., Pavlović D., Pavlović M., Mitrović M., Pavlović P.* Pedological properties and ecological implications of substrates derived 3 and 11 years after the revegetation of lignite fly ash disposal sites in Serbia // *Catena*. 2018. V. 163. P. 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.12.010>
- Krishnaraj P.U., Dahale S.K.* Mineral Phosphate Solubilization: Concepts and Prospects in Sustainable Agriculture // *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* 2014. V. 80. 32. P. 389–405. <https://doi.org/10.16943/ptinsa/2014/v80i2/55116>
- Lambers H., Chapin F.S., Pons T.L.* Plant physiological ecology. New York: Springer, 2008. V. 2. 605 p. <https://doi.org/10.2307/176572>
- Lauber C.L., Hamady M., Knight R., Fierer N.* Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale // *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. V. 75. P. 5111–5120. <https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>
- Lauber C.L., Strickland M.S., Bradford M.A., Fierer N.* The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types // *Soil Biol. Biochem.* 2008. V. 40. № 9. P. 2407–2415. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>
- Li Y., Yuan L., Xue S., Liu B., Jin, G.* Artificial root exudates excite bacterial nitrogen fixation in the subsurface of mine soils // *Appl. Soil Ecol.* 2021. V. 157. 103774. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103774>
- Ling N., Wang T., Kuzyakov Y.* Rhizosphere bacteriome structure and functions // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. 836. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9>
- Maiti D., Pandey V.C.* Metal remediation potential of naturally occurring plants growing on barren fly ash dumps // *Environ. Geochem. Health.* 2020. V. 43. P. 1415–1426. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00679-z>
- Mapelli F., Marasco R., Fusi M., Scaglia B., Tsiamis G., Rolli E., Fodelianakis S., Bourtzis K., Ventura S., Tambone F., Adani F., Borin S., Daffonchio D.* The stage of soil development modulates rhizosphere effect along a High Arctic desert chronosequence // *ISME J.* 2018. V. 12. № 5. P. 1188–1198. <https://doi.org/10.1038/s41396-017-0026-4>
- Muñoz G., Orlando J., Zuñiga-Feest A.* Plants colonizing volcanic deposits: root adaptations and effects on rhizosphere microorganisms // *Plant Soil.* 2021. V. 461. P. 265–279. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04783-y>
- Naz M., Dai Z., Hussain S., Tariq M., Danish S., Khan I.U., Qi S., Du D.* The soil pH and heavy metals revealed their impact on soil microbial community // *J. Environ. Manage.* 2022. V. 321. 115770. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115770>
- Nekrasova O., Radchenko T., Filimonova E., Lukina N., Glazyrina M., Dergacheva M., Uchaev A., Betekhtina A.* Natural forest colonisation and soil formation on ash dump in southern taiga // *Folia Forest. Pol.* 2020. V. 62. № 4. P. 306–316. <https://doi.org/10.2478/ffp-2020-0029>
- Nekrasova O., Radchenko T., Filimonova E., Uchaev A., Dergacheva M., Petrova T., Betekhtina A.* Features of forest communities and soils formed on an ash dump of the middle Urals // *For. Ideas.* 2022. V. 28. № 1 (63). P. 88–99.
- Ribeiro C.M., Cardoso E.J.* Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*) // *Microbiol. Res.* 2012. V. 167. № 2. P. 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.03.003>
- Shanmugam S.G., Kingery W.L.* Changes in soil microbial community structure in relation to plant succession and soil properties during 4000 years of pedogenesis // *Europ. J. Soil Biol.* 2018. V. 88. P. 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.07.003>
- Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R.* Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling // *FEMS Microbiol. Rev.* 2007. V. 31. № 4. P. 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- The Plant List [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/> (дата обращения: 21.11.2022).
- Unkovich M., Baldock J.* Measurement of asymbiotic N₂ fixation in Australian agriculture // *Soil Biol. Biochem.* 2008. V. 40. № 12. P. 2915–2921. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.08.021>
- Uzarowicz Ł., Kwasowski W., Spiewak O., Switoniak M.* Indicators of pedogenesis of Technosols developed in an ash settling pond at the Bełchatów thermal power station (central Poland) // *Soil Sci. Ann.* 2018. V. 69. № 1. P. 49–59. <https://doi.org/10.2478/ssa-2018-0006>
- van Schöll L., Kuyper T.W., Smits M.M., Landeweert R., Hoffland E., Breemen N.V.* Rock-eating mycorrhizas: their role in plant nutrition and biogeochemical cycles // *Plant and Soil.* 2008. V. 303. P. 35–47. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9513-0>
- Wahl S., Ryser P.* Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses // *New Phytol.* 2000. V. 148. № 3. P. 459–471. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00775.x>
- Zhan J., Sun Q.* Diversity of free-living nitrogen-fixing microorganisms in the rhizosphere and non-rhizosphere of pioneer plants growing on wastelands of copper mine tailings // *Microbiol. Res.* 2012. V. 167. P. 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.05.006>
- Zhong H., Zhou J., Wong W-S., Cross A., Lambers H.* Exceptional nitrogen-resorption efficiency enables *Maireana* species (Chenopodiaceae) to function as pioneers at a mine-restoration site // *Sci. Tot. Environ.* 2021. V. 779. 146420. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146420>

**The content of nitrogen, phosphorus in cereals
and dicot grasses leaves and features of their rhizosphere microflora
in multi-age fly ash dumps**

A. A. Betekhtina[#], O. A. Nekrasova, A. V. Malakheeva, O. V. Voropaeva, M. G. Maleva

*Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin,
Mira St., 19, Yekaterinburg, 620002 Russia
[#]e-mail: a.a.betekhtina@urfu.ru*

The nitrogen (N) and phosphorus (P) content was studied in the leaves of 6 cereals and 18 non-legume dicotyledonous grass species, as well as directly in the substrates of non-recultivated areas of two different age fly ash dumps. The total number of microorganisms and nitrogen fixers capable of phosphate solubilization and indole-3-acetic acid (IAA) synthesis was analyzed in the rhizosphere of two pioneer (*Alopecurus aequalis*, *Ranunculus sceleratus*) and two late successional (*Poa pratensis*, *R. auricomus*) plant species. Higher N and P content and lower N/P ratio were found in the leaves of dicot grasses compared to cereals. The number of nitrogen fixers in the rhizosphere of dicots was higher, which coincided with the higher content of total nitrogen in it. The proportion of nitrogen fixers with an increased ability to phosphate solubilize and IAA produce was significantly higher in the early stages of ash dump overgrowth.

Keywords: monocot plants, non-legume dicot plants, fly ash, macronutrients, young soils, plant growth-promoting rhizobacteria