СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ "СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ"

БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА "ЗООЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ"

ИЗПОЛЗВАНЕ НА НЕМАТОДНИТЕ СЪОБЩЕСТВА ЗА БИОЛОГИЧНА ОЦЕНКА НА ПОЧВЕНО ЗАМЪРСЯВАНЕ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ

Славка Смиленова Георгиева

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация за присъждане на образователна и научна степен "доктор"
Професионално направление 4.3. Биологически науки (Зоология - Зоология на безгръбначните животни)

Научен консултант:

Проф. дсн Николай Славов Динев

София

2014

Дисертацията е разработена в катедра "Зоология и Антропология" на Биологическия факултет на Софийски университет "Св. Кл. Охридски".

Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита на разширен катедрен съвет на катедра "Зоология и Антропология", състоял се на 11.11. 2014г.

Дисертационният труд се състои от 136 страници и съдържа 22 таблици и 20 фигури. Списъкът на цитираната литература съдържа 230 заглавия, от които 7 са на кирилица и 223 на латиница.

По-голяма част от проведените изследвания са финансирани от:

- Британски съвет София
- Проект № DTK 02/01.05.2010, финансиран от фонд "Научни изследвания" на МОН.

Научно жури:

проф. д-р Мария Шишиньова - председател

Рецензенти:

проф. д-р Мария Шишиньова

доц. д-р Олга Байчева

Становища:

проф. дсн Николай Динев

проф. дсн Хари Самалиев

доц. д-р Пламен Митов

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 04.12.2014 г. от 14 часа в Заседателната зала на Биологически факултет на Софийски Университет "Св. Кл. Охридски".

Изказвам благодарност на научния си консултант проф дсн Николай Динев за ценната помощ при избора на експерименталните площадки и за предоставената възможност да разработвам темата. Благодарна съм на доц. д-р Юлиана Атанасова за определянето на растителните видове в изследваните площадки и на Елизабета Василева за помощта при обработването на материала от района на МК "Кремиковци".

Благодарна съм на проф. д-р Мария Шишиньова за всестранната помощ, която ми е оказвала през всичките години на съвместната ни работа в катедрата и на Ръководителя на катедрата доц. д-р Елена Ташева за перфектната организация за придвижване на дисертационния труд към защита и за проявената съпричастност.

Признателна съм на всички колеги от катедра "Зоология и Антропология" за подкрепата и помощта, която ми оказаха и за ведрата творческа атмосфера в катедрата.

Благодарна съм на Николай Гоцев за помощта при вземане на почвените проби при тези изследвания и за спонсорирането на научната и учебната ми дейност през последните 15 години от съвместното ни съжителство и не на последно място благодаря за обичта и търпението.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. УВОД 1
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 2
III. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ: 2

1. Моделен полски опит за установяване на промените в нематодните съобщества, подложени на дълготрайното въздействие на тежките метали: Zn, Cu и Ni и комбинациите: Zn + Cu и Zn + Ni, внесени в почвата с органичен тор.
1.1. Материал и методи 2
1.2. Резултати 5
1.3.Обсъждане 7
1.4. Обобщение 14
2. Оценка на хроничното действие на тежките метали върху почвените нематодни съобщества в площадки с различна степен на замърсяване, разположени в околностите на КЦМ, гр. Пловдив.
2.1. Материал и методи 15
2.2. Резултати 17
2.3. Обсъждане 29
2.4. Обобщение 36
3. Оценка на хроничното действие на тежките метали и As върху почвените нематодни съобщества в площадки с различна степен на замърсяване, разположени в околностите на МК"Кремиковци".
3.1. Материал и методи 36
3.2. Резултати 38
3.3. Обсъждане 46
3.4. Обобщение 48

IV. ИЗВОДИ 49
V. ПРИНОСИ 50
VI. ПУБЛИКАЦИИ ПО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 51

I. УВОД

Отрицателните въздействия на човек върху околната среда през последните 200 години на индустриализация в Европа са толкова многобройни и глобални, че научните изследвания не успяват да очертаят мащабите на всички последствия. Тежките метали и петролните продукти са основни замърсители, които допринасят над 60% за почвеното замърсяване и над 53% за замърсяването на подпочвените води (Panagos et al., 2013).

За България замърсяванията на почвата с тежки метали имат предимно локален характер. По данни на Министерството на околната среда и водите замърсените почви с тежки метали и металоиди над пределно допустимите концентрации (ПДК) са над 43 000 ha, като от тях 7 700 ha са замърсени с над 5 пъти ПДК, основно с Pb, Cd, Cu, Zn и As. Най-засегнати са районите около големите индустриални предприятия за производство и преработка на метали.

Една от основните заплахи в замърсените с тежки метали почви е намаляването на биологичното разнообразие на почвените съобщества и свързаните с това промени във функционирането им. По видово богатство и видово разнообразие нематодните

съобщества се нареждат на едно от първите места от всички почвени организми (Boag and Yeates, 1998; Yeates and Bongers, 1999). Богатите на видове нематодни съобщества дават възможност да се оцени дълготрайното въздействие на тежките метали не само върху видовия им състав, но и върху тяхната устойчивост, пластичност и възможност за взаимна заменяемост на видове, които имат сходни функции. Различните видове нематоди имат голям диапазон от реакции към замърсителите - от силно чувствителни до високо толерантни (Fiscus and Neher, 2002; Zhao and Neher, 2013) и много от тях оцеляват при екстремални условия на средата, при които много от останалите почвени организми са елиминирани (Procter, 1990; Wall and Virginia, 1999; McSorley, 2003).

Нематодите са представени на всички нива в почвените трофични вериги, а трофичната класификация, която се прилага е общоприета в световен мащаб (Yeates et al., 1993). Хранещите се с бактерии и хифи на гъби нематоди са тясно свързани с процесите на разграждане на веществата и потока им в почвената система (Neher, 1999; Ferris, 2010). Функционалните групи нематоди, обособени на базата на жизнените им стратегии и хранителните им източници, както и свързаните с тях индекс на обогатяване (EI), индекс на потока на веществата (Channel index, CI) и структурен индекс (SI) - Ferris et al., 2001, дават възможност структурата на съобществата да се свърже по-пряко с функционирането им (Bongers and Bongers, 1998; Pavao-Zuckerman and Coleman, 2007). Разработени са и специфични индекси като индексите на зрялост - MI и MI_{2-5} за оценка на почвеното замърсяване на базата на групата на свободноживеещите нематоди (Bongers, 1990; Bongers and Korthals, 1995).

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата работа е на базата на структурата на нематодните съобщества да се направи биологична оценка на различна степен на замърсяване с тежки метали, както в моделен полски опит, така и при полски условия, в близост до големи източници на замърсяване: КЦМ АД, гр. Пловдив и МК "Кремиковци".

В изпълнение на тази цел, бяха поставени следните задачи:

1. Да се установи таксономичното богатство (видове и родове) и таксономичното разнообразие (Shanon, H') на изследваните нематодните съобщества.
2. Да се определи доминантната структура на нематодните комплекси.
3. Да се определи съотношението на r- и K- стратезите в групата на свободноживеещите нематоди и индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}).
4. Да се определи трофичната структура на изследваните съобщества.
5. Да се определят индексите: на потока на веществата (CI), на обогатяването (EI), структурния индекс (SI) и условията на почвените детритни вериги.

III. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

1. Моделен полски опит за установяване на промените в нематодните съобщества подложени на дълготрайното въздействие на тежките метали: Zn, Cu и Ni и комбинациите: Zn + Cu и Zn + Ni, внесени в почвата с канализационни утайки

1.1. Материал и методи

1.1.1. Описание на моделния полски опит

Опитът е заложен в експерименталното поле на Научно-изследователския център на Глийторп, Северен окръг Нотингам, Англия (ADAS, Gleadthorpe Research Center, North Nottinghamshire). Почвата е глинесто-песъчлива с 9% глина, 1.6-4.0% органично вещество и pH 5.8-7.2.

Експериментът включва пет варианта и 22 третирания: нетретирани площадки (NoSl), третирани с незамърсени с тежки метали утайки (UnSl); утайка, изкуствено замърсена поотделно с Zn, Cu и Ni и комбинация от Zn + Cu и Zn + Ni, в четири нарастващи концентрации (1-4). През м. февруари, 1982 г. във вариантите с утайка е внесено органично вещество в количество 100 t ha^{-1} сухо вещество. Концентрациите на тежките метали са избрани под, около и над пределно допустимите за почви третирани с канализационни утайки (sewage sludge) за Европейската общност. Тъй като достигнатите концентрации са били по-ниски от очакваните, през м. март, 1986 г., към някои от вариантите са добавени допълнително утайки, естествено замърсени с тежки метали (Таблица 1). Експериментът е заложен по шахматен блоков дизайн с четири повторения за вариантите без утайки и утайки, незамърсени с тежки метали и по две повторения за отделните третирания с тежките метали (Фиг. 1). Експерименталните площадки са 48 на брой с площ от 18 m^2 (2.5 m x 7.2 m), разположени са в четири реда, като разстоянието между редовете е 4 m, а между площадките от един ред е 1 m. Ечемик, райграс и захарно цвекло са отглеждани до 1984 г., ечемик е засяван и от 1985 г. до 1988 г., а след това експерименталните площадки са били засяти с бяла детелина до 1992 г. Изорани са през 1993 г. и са засяти с грах през 1994 г., който е ожънат през м. юли.

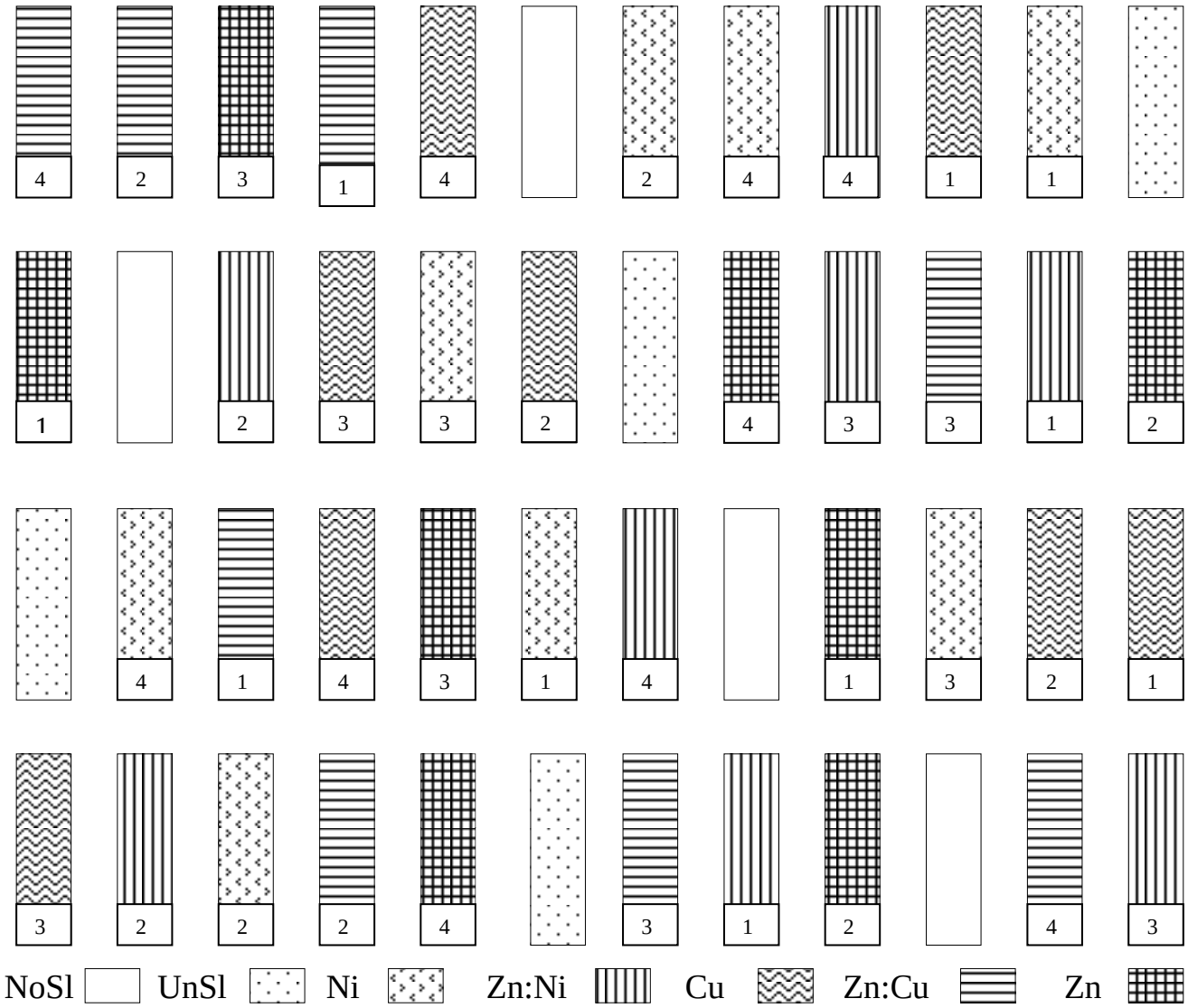
1.1.2. Вземане на почвени проби и почвени анализи

Почвените проби са взети през октомври, 1994 г., 12 години след първото и 8 години след второто третиране със замърсени с тежки метали утайки. От всяка експериментална площадка е взета сборна проба от 20 сонди (диаметър на сондата 1.9 cm; дълбочина 0-20 cm). Пробите са пресяти през сито (диаметър на отворите 2 mm), като 150 g са отделени за изолиране на нематодите, а останалото количество е използвано за почвените анализи. Концентрациите на Zn, Cu, Ni, Mn, K, Ca и P в пробите са определени с индуктивен плазмено-атомен емисионен спектрометър (ICP-AES, Accuris) по метода на McGrath and Cunliffe (1985). Концентрациите на Zn, Cu и Ni в различните третирания са представени в Таблица1. Почвеното pH е определено във воден разтвор, като е използвано съотношението 1:2.5 (w/v), а органичното вещество (OM) е определено по модифицирания метод на Tinsley (Anon, 1986). Почвената влажност е определна след 72 часа сушене при температура 105°C.

1.1.3. Изолиране на нематодите и обработка на данните

Нематодите са изолирани от 150 g почва (свежо тегло) с помощта на елутриатор на Оостенбринк (Oostenbrink, 1960), убити са чрез загряване до 60°C за три минути и са фиксирани в 4% формалин. Преброени са живи в броителна камера на Doncaster (1962) под бинокуляр и 150 индивиди от всяка проба са монтирани на полутрайни микроскопски препарати. Определени са до род на светлинен микроскоп (увеличение 100-400x). Няколко единични ларви са определени до семейство. Семейство Rhabditidae е представено основно с ларви, "dauer" ларви и единични половозрели екземпляри и не са разграничени родовете.

Таксономичното разнообразие (H') е изчислено по формулата на Shannon-Wiener: $H' = -\sum p_i \ln p_i$, където p_i е относителната численост на $i^{тия}$ род. Трофичните групи са определени по класификацията на Yeates et al. (1993), а функционалните по Bongers and Bongers (1998). Нематодите са разделени на пет екологични групи на базата на жизнените им стратегии (cp1-5) по Bongers (1990), Bongers and Korthals (1995) и Bongers et al. (1995). Допълнително при анализите на нематодните съобщества, нематодите са разделени на три групи по Ettema and Bongers (1993), както следва: опортюнисти на обогатяването (cp1); общи опортюнисти (cp2) и K -стратези (cp3-5). Разпределението на тези три групи в различните почвени проби е представено на с-р триъгълници по De Goede et al. (1993).



1-4 - нарастващи концентрации на тежките метали (Таблица 1)

Фиг. 1 Блоков дизайн на повторенията на вариантите: без утайки (NoSl); незамърсени утайки (UnSl); Ni, Cu, Zn и комбинациите на Zn+Ni и Zn+Cu в четири нарастващи концентрации (1-4).

Индексът на зрялост (MI) на нематодните съобщества е определен по формулата на Bongers, 1990 на базата на свободноживеещите нематоди: $MI = \sum v_i f_i$, където v_i е с-р стойността на $i^{тия}$ род, а f_i е относителната му численост, а MI_{2-5} е изчислен по същата формула след като ср1 групата е изключена.

Всички данни са анализирани с ANOVA. За тестване на достоверност на разликата на третираните варианти и контролата (UnSl - незамърсени утайки) е използван теста на Dunnett. Използван е и теста за корелации на Spearman. Данните за числеността на нематодите и стойностите на факторите на околната среда в пробите са анализирани с каноничен кореспондентен анализ (CCA), CANOCO. Използван е пермутационен тест Monte Carlo за доказване на достоверност на каноничните оси (Ter Braak, 1988).

1.2. Резултати

1.2.1. Концентрации на тежките метали в почвата

Концентрациите на Ni и Zn във вариантите Ni_{1-4} и $Zn+Ni_{1-4}$ са под техните ПДК. Всички концентрациите на Cu във вариантите Cu_{1-4} надвишават 1.2 - 3.4х ПДК, а за вариантите $Zn+Cu_{1-4}$ и Zn_{1-4}, част от концентрациите са под ПДК, а останалите са най-много 2.2х ПДК (Таблица 1).

1.2.2. Таксономично богатство и разнообразие на нематодните съобщества

По време на изследването са установени 47 таксона (42 рода и пет семейства). Най-високо е таксономичното богатство във вариантите без утайки (NoSl) и с незамърсени утайки (UnSl) - 39 и 35 таксона. Не се отчитат съществени качествени промени във вариантите, тертирани с Ni и Zn+Ni, където броя на таксоните варира от 29 до 33. Най-ниско е таксономичното богатство на нематодните комплекси при високите концентрации на $Zn+Cu_{2-4}$ (19-24) и Zn_{1-4} (17-23) - Таблица 2. Таксономичното разнообразие на нематодните съобщества (H') показва отрицателна корелация с почвената концентрация на Zn в изследваните проби ($r= - 0.59$, $P<0.001$, $n=48$).

1.2.3. Промени в числеността на трофичните групи нематоди.

Числеността на нематодите, хранещи се с растения е достоверно повишена в сравнение с контролата в почви в които концентрациите на Zn са между 400 и 600 mg kg^{-1} (Таблици 1 и 3). Нематодите, хранещи се с бактерии са установени с по-висока численост статистически достоверно в $Zn + Ni_4$, Cu_4 и Zn_3, а числеността на фунгифагите се повишава при ниски концентрации на Ni, Zn + Ni и Zn + Cu в сравнение с контролата (Таблица 3).

Смесенохранещите се и хищни нематоди са двете трофични групи, които показват най-висока чувствителност към тежките метали в третиранията с Cu, Zn+ Cu и Zn, където числеността им е значително намалена или не са установени (Таблица 3).

1.2.4. Индекси на зрялост на групата на свободно живеещите нематоди и промени в числеността на r- и K- стратезите.

Индексите на зрялост имат най-високи стойности в контролите (UnSl, NoSl) и във вариантите с Ni и Zn + Ni и доказано по-ниски стойности в третиранията с Cu, Zn + Cu и Zn (Таблица 4). При концентрации на Ni около 30% под пределно допустимата (Ni_3) индекса на зрялост (MI_{2-5}) има стойности, които са достоверно по-високи от тези в контролата (Таблица 4). Двата индекса отчитат токсичност на Zn за свободно живеещите нематоди при концентрации (≈150mg kg^{-1} почва), които са около 50% под ПДК за Zn при pH = 6-7. Най-ниската концентрация на Cu (>200mg kg^{-1} почва) при която индекса на зрялост (MI) намалява достоверно е около 50% над ПДК. По-голяма чувствителност показва другия индекс - MI_{2-5}, чиито стойности намаляват достоверно при по-ниска концентрация на Cu (>170mg kg^{-1} почва), която е 24% над ПДК (Таблици 1 и 4). Във вариантите на комбинирано третиране с Zn и Cu индексът на зрялост (MI_{2-5}) намалява статистически доказано при концентрации (Zn+Cu > 100+65 mg kg^{-1} почва) около 60 и 50% под допустимите за Zn и Cu съответно. Силно изразената отрицателна корелация на MI_{2-5} с концентрациите на Zn и Cu (Zn+Cu) в почвените проби ($r = - 0.82$, $P<0.05$, $n=48$) е малко по-голяма от корелацията на MI с тези концентрации ($r = - 0.77$, $P<0.05$, $n=48$).

Групата на общите опортюнисти (cp2) доминира сред свободноживеещите нематоди във всички варианти на експеримента, а делът на К-стратезите (cp3-5) намалява с повишаване на концентрацията на Zn и Cu в почвата. Докато в много от третиранията: без утайки (NoSl), незамърсени утайки (UnSl), Ni_{1-4} и $Zn+Ni_{1-4}$, относителната численост на К-стратезите (cp 3-5) е между 10 и 30%, в болшинството третирания с Cu, Zn+Cu и Zn тя е между 0 и 10% (Фиг. 4).

Таблица1. Внесени количества тежки метали (МА) в kg ha^{-1} и обща концентрация (ТМС) в mg kg^{-1} почва (av.±s.e., n=4 за NoSl и UnSl; n=2 за останалите варианти) във вариантите: без утайки (NoSl), незамърсени утайки (UnSl) и 4 нарастващи концентрации (1-4) на Ni, Zn+Ni, Cu, Zn+Cu и Zn (* - допълнително третиране през 1986 г.)

		Zn		Cu		Ni	
		MA	TMC	MA	TMC	MA	TMC
		kg ha^{-1}	mg kg^{-1} soil	kg ha^{-1}	mg kg^{-1} soil	kg ha^{-1}	mg kg^{-1} soil
NoSl	0	57.3±9.3	0	9.9±1.3	0	12.1±2.9
UnSl	88	69.6±5.6	22	14.5±1.7	6	9.9±0.7
Ni	1	51	101.1±46.6	12	12.2±0.2	50	19.1±1.9
	2	51	58.6±7.8	14	12.1±2.0	98	28.4±3.2
	3	51	58.5±2.1	14	14.5±2.7	153	42.4±6.8
	4	52	82.8±5.5	16	11.5±1.5	208	44.2±1.9
Zn+Ni	1	143	75.2±6.3	15	17.0±0.2	29	12.3±0.4
	2	288	97.0±3.0	20	14.2±1.5	50	16.5±0.7
	3	432	164.7±27.6	25	16.9±2.3	78	23.4±0.5
	4	578	141.7±1.2	29	17.4±4.3	105	27.0±1.0
Cu *	1	242	97.7±25.0	1121	173.6±2.3	16	10.7±0.8
	2	130	64.9±6.5	1278	213.8±34.2	4	8.0±0.9
*	3	310	77.7±7.3	2077	300.9±57.0	15	10.0±0.8
*	4	391	83.0±0.5	2968	476.9±7.1	21	17.9±7.9
Zn+Cu *	1	295	108.9±12.7	258	67.6±3.6	8	10.1±1.9
*	2	916	213.1±24.7	1244	95.5±7.3	17	10.8±1.7
*	3	1557	284.5±25.8	1087	251.4±44.2	17	10.5±0.4
*	4	2299	493.2±6.4	1617	301.5±55.7	22	11.3±0.1
Zn	1	633	161.1±7.9	42	17.6±0.2	8	17.8±5.9
	2	1191	406.7±66.9	36	21.1±1.9	8	10.8±0.7
*	3	1896	349.3±61.4	100	23.4±0.4	18	10.2±0.7
*	4	2763	596.7±43.9	111	21.6±2.3	17	17.6±6.3

Числеността на К-стратезите (ср3-5) намалява достоверно при всички третирания с Zn, след втората концентрация на Zn+Cu ($Zn+Cu_{2,3,4}$) и след третата концентрация на Cu ($Cu_{3,4}$) - Таблица 4. Отрицателна достоверна корелация е отчетена както за абсолютната численост на К-стратезите (ср3-5) и концентрацията на Zn+Cu в пробите ($r = -0.83$, $P < 0.01$, $n = 48$), така и за относителната им численост ($r = -0.80$, $P < 0.01$, $n = 48$) - Фиг. 4.

Таксономичното богатство на К-стратезите в контролните варианти (UnSl, NoSl) е най-високо (10-12 таксона), следвано от вариантите Ni_{1-4} и $Zn+Ni_{1-4}$ (8 - 10), Cu_{1-4} и $Zn+Cu_{1,2}$ (5-7), $Zn+Cu_{3,4}$ и $Zn_{1,2}$ (2-4) и само един род е установен във вариантите $Zn_{3,4}$.

*1.2.*5. *Ординационни анализи*

Ординационната диаграма (Фиг. 5) се основава на проведен каноничен кореспондентен анализ (CCA) на данните за числеността на 47 таксона нематоди в 48 почвени проби и данните за 9 фактора на околната среда. Най-висока корелация с първата ос показва Zn, а с втората - Cu. Разположението на родовете *Mesocriconema* и *Paratylenchus* върху ординационната диаграма показва положителна корелация с концентрацията на Zn в почвените проби, а на *Aphelenchoides* и *Chiloplacus* с концентрациите на Cu и Zn+Cu. Нематодите от родовете: *Alaimus*, *Bastiania*, *Acrobeles*, *Eudorylaimus*, *Aporcelaimellus*, *Discolaimus*, *Mylonchulus* и *Clarkus* показват отрицателна корелация с концентрацията на Cu и Zn и положителна корелация с концентрациите на Ni в почвата (Фиг. 5).

1.3. Обсъждане

1.3.1. Таксономично богатство и разнообразие на нематодните съобщества

Намаляване на броя на таксоните се отчита в площадките третирани с Cu, Zn+Cu и Zn, като намаляването е значително във всички варианти на Zn_{1-4} и $Zn+Cu_{2-4}$, където най-високите концентрации на Zn и Cu надвишават 2 пъти техните ПДК. Таксономично обедняване на нематодните съобщества в силно замърсени с тежки метали почви съобщават също и Popovici (1994), Yeates et al. (1994) и Korthals et al. (1996_a).

1.3.2. Промени в числеността на трофичните групи нематоди

Растително хранещите се нематоди, в условията на нашия опит, са положително повлияни в площадките, третирани с Zn, като се отчита висока численост предимно на кореновите ектопаразити. Chaudry et al. (2000) отчита значително редуциране на азотфиксиращите бактерии при грах и бяла детелина в площадките от същия експеримент. Повишената численост на растително-паразитните нематоди може да се дължи на елиминиране или подтискане на някои техни антагонисти (азотфиксиращи бактерии и/или микоризни гъби) и конкуренти. Елиминирането на хищните и смесено хранещите се нематоди в площадките с най-високи концентрации на $Zn_{3,4}$ може също да допринася за повишаване на числеността на техните жертви - растителнопаразитните нематоди, както предполагат и Parmelee et al. (1993).

Според Odum (1985) в екосистемите подложени на стрес съществува тенденция положителните взаимодействия като симбиозата да намаляват, а отрицателните, като паразитизма да се повишават. Данните за намаляване на числеността на азотфиксиращите бактерии и повишаване на числеността на растително-паразитните нематоди под влияние на високи концентрации на Zn в почвата, напълно подкрепят тези предположения.

Таблица 2. Относителна численост (%) на нематодите, техните гилдии (Г), таксономично разнообразие (H') във вариантите: без утайки (NoSl), незамърсени утайки (UnSl) и четири нарастващи концентрации на Ni, Zn+Ni, Cu, Zn+Cu и Zn. (Достоверните различия са в болд, P<0.05).

Таксони	**Г**	No-Sl	Un-Sl	Ni_1	Ni_2	Ni_3	Ni_4	$Zn+Ni_1$	$Zn+Ni_2$	$Zn+Ni_3$	$Zn+Ni_4$	Cu_1	Cu_2	Cu_3	Cu_4	$Zn+Cu_1$	$Zn+Cu_2$	$Zn+Cu_3$	$Zn+Cu_4$	Zn_1	Zn_2	Zn_3	Zn_4
Coslenchus	**Pl2**	0.2	1.1	1.0	-	0.3	-	1.3	-	2.0	-	0.3	-	-	0.3	0.3	0.6	-	0.3	-	0.3	-	0.3
Filenchus	**Pl2**	5.8	6.1	8.6	6.9	19.6	5.5	13.2	12.1	9.4	26.5	10.5	10.1	18.5	3.9	5.1	9.2	11.9	1.9	4.0	14.6	8.2	3.0
Gracilacus	**Pl2**	0.3	-	-	0.3	-	-	0.3	0.3	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-
Paratylenchus	**Pl2**	2.0	1.0	1.3	0.7	1.0	0.4	1.6	1.0	1.3	2.6	0.8	2.8	0.3	1.3	1.7	0.9	1.7	3.6	1.1	3.7	**5.9**	**7.0**
Mesocriconema	**Pl3**	1.3	1.5	2.0	2.0	2.2	1.3	1.6	2.0	1.4	0.6	0.4	1.2	0.7	0.7	1.3	2.3	4.7	4.1	0.6	4.0	6.0	**36.3**
Heteroderidae	**Pl3**	0.2	0.05	-	-	0.1	-	0.1	-	-	-	-	0.5	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-
Pratylenchus	**Pl3**	4.4	3.1	4.3	3.6	2.0	4.2	1.0	2.3	3.6	1.8	3.9	7.4	4.9	6.4	4.5	5.9	8.3	2.9	4.7	4.9	2.6	3.6
Tylenchorhynchus	**Pl3**	24.4	30.3	13.3	27.0	12.3	23.2	15.0	30.0	27.0	10.8	21.9	21.5	25.3	12.3	35.7	29.0	15.9	27.2	27.2	28.4	15.4	13.0
Longidorella	**Pl4**	0.1	-	0.7	0.3	-	-	0.3	-	0.7	0.1	-	-	-	-	0.3	-	-	-	0.1	-	-	-
Pungentus	**Pl4**	-	-	1.0	0.3	0.7	-	-	-	-	0.3	-	-	0.3	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-
Paratrichodorus	**Pl4**	0.3	1.7	-	0.3	0.2	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichodorus	**Pl4**	0.8	1.6	3.0	2.3	0.3	0.7	0.7	1.2	3.3	1.0	0.1	1.3	**-**	**0.1**	1.0	**0.4**	**-**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.3**	**0.1**
Belondiridae	**Pl5**	-	-	-	0.3	1.0	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ditylenchus	**Fu2**	0.6	0.6	0.7	1.3	0.7	2.2	0.3	1.3	0.3	1.3	-	0.3	0.3	2.6	1.0	0.3	2.7	1.6	1.4	0.3	-	0.3
Pseudhalenchus	**Fu2**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-
Aphelenchus	**Fu2**	7.4	5.9	**13.6**	5.0	7.2	6.5	9.3	7.7	6.2	6.2	7.8	6.3	3.0	3.5	7.4	4.6	2.0	3.2	7.4	2.6	3.0	**0.3**
Paraphelenchus	**Fu2**	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aphelenchoides	**Fu2**	2.7	1.1	1.6	1.1	1.4	1.0	1.3	1.7	0.7	1.6	2.9	3.4	4.0	7.1	3.2	4.3	7.6	**12.2**	3.4	2.0	4.6	7.3
Diphtherophora	**Fu3**	0.6	0.1	0.4	0.7	0.2	0.6	1.0	0.5	0.2	0.1	-	0.3	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
Diplogasteridae	**Ba1**	0.5	-	-	-	0.7	-	-	-	-	1.6	-	-	-	0.6	-	0.3	-	-	-	0.7	0.7	-
Panagrolaimus	**Ba1**	2.1	2.9	1.7	0.7	2.0	2.9	1.9	2.3	0.7	1.0	2.6	1.6	2.6	1.6	0.6	1.6	2.0	2.9	2.3	2.3	4.9	2.7
Rhabditidae	**Ba1**	8.7	6.2	10.0	6.6	8.1	7.5	8.9	5.3	3.8	8.8	14.8	9.2	6.0	13.6	8.0	11.2	11.6	9.5	12.4	11.9	11.9	9.0
Acrobeles	**Ba2**	5.5	6.6	7.0	7.6	8.5	9.0	9.0	5.3	12.6	8.5	1.3	4.7	2.3	**0.7**	2.9	1.0	**0.1**	**0.3**	4.7	1.6	**0.1**	**-**
Acrobeloides	**Ba2**	6.6	5.9	7.3	7.6	3.2	4.2	7.4	7.3	5.2	5.6	5.2	8.1	7.3	10.1	6.4	8.5	8.0	7.8	7.7	4.6	6.3	9.3

Таблица 2. Продължение

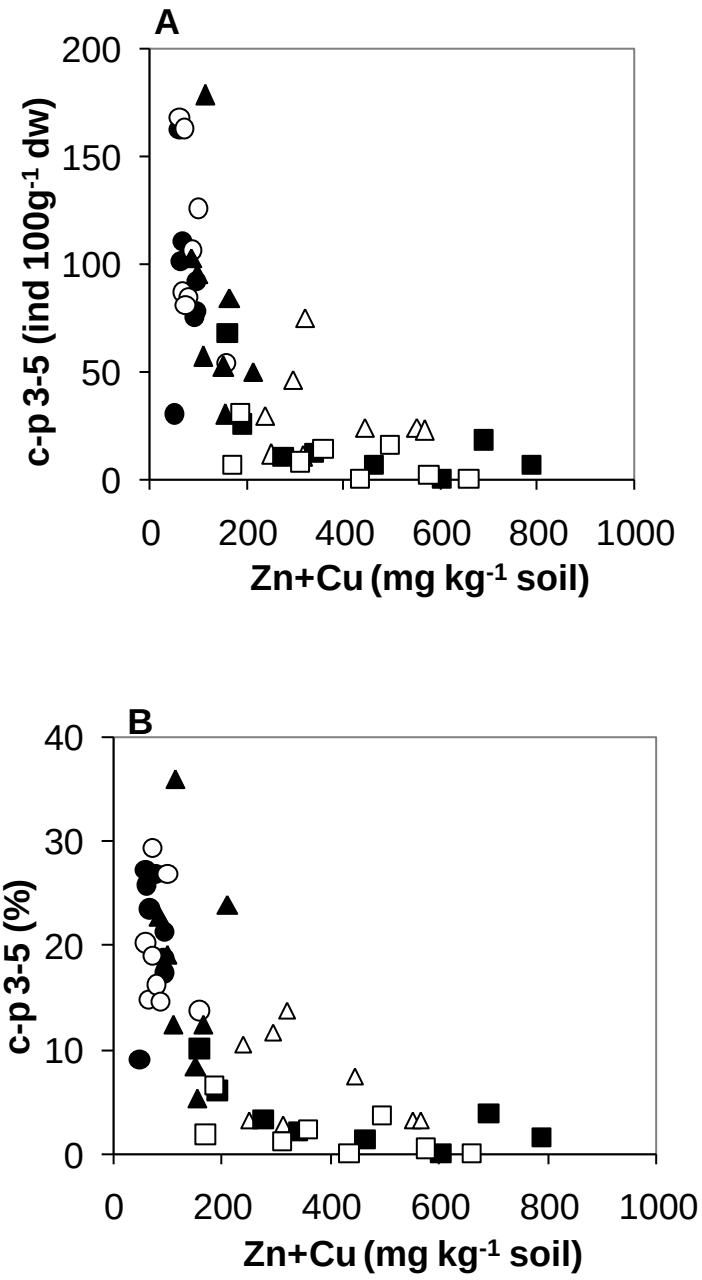
Таксони	**Г**	No-Sl	Un-Sl	Ni_1	Ni_2	Ni_3	Ni_4	Zn+ Ni_1	Zn+ Ni_2	Zn+ Ni_3	Zn+ Ni_4	Cu_1	Cu_2	Cu_3	Cu_4	Zn+ Cu_1	Zn+ Cu_2	Zn+ Cu_3	Zn+ Cu_4	Zn_1	Zn_2	Zn_3	Zn_4
Anaplectus	**Ba2**	0.5	0.2	-	-	0.7	1.0	-	0.3	0.7	0.3	-	-	-	0.6	0.3	-	-	-	-	-	-	-
Cephalobus	**Ba2**	0.2	1.0	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-	0.3	0.7	2.9	0.9	0.3	-	1.0	-	-	0.7	-
Cervidellus	**Ba2**	0.7	0.7	2.0	0.7	2.0	-	0.3	1.4	1.0	0.3	0.7	-	-	0.3	0.6	-	-	0.4	1.0	1.3	-	-
Chiloplacus	**Ba2**	5.5	3.3	6.0	3.3	5.2	7.1	5.4	1.0	7.1	5.9	10.1	7.9	**14.0**	**18.1**	6.4	9.2	**11.9**	11.6	7.0	8.3	11.2	3.3
Drilocephalobus	**Ba2**	-	0.5	-	-	-	0.4	-	-	-	-	0.3	-	0.7	-	-	0.6	-	-	-	-	0.7	-
Eucephalobus	**Ba2**	4.7	5.4	2.7	5.9	3.6	5.8	5.5	1.6	3.8	6.9	8.4	5.3	3.6	7.1	5.8	6.9	9.6	5.7	10.7	5.6	16.4	3.3
Eumonhystera	**Ba2**	0.3	0.2	0.7	1.7	-	-	-	0.3	-	0.7	-	-	-	0.6	0.9	-	-	-	-	-	-	-
Plectus	**Ba2**	1.3	1.0	2.3	3.0	1.3	3.6	1.5	1.4	-	1.0	2.0	0.3	2.6	2.6	0.9	1.3	1.0	1.0	1.0	0.7	1.0	1.0
Wilsonema	**Ba2**	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aulolaimus	**Ba3**	0.5	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bastiania	**Ba3**	3.7	4.0	2.3	1.7	1.7	2.6	3.5	2.2	1.7	0.6	1.3	1.1	**0.3**	**-**	0.5	**0.1**	**-**	**0.2**	**-**	**-**	**-**	**0.1**
Prismatolaimus	**Ba3**	1.3	1.1	0.7	0.3	0.3	0.5	0.7	1.2	0.3	0.1	1.0	**3.4**	0.3	1.3	0.7	**-**	0.3	**-**	0.1	**-**	0.3	**-**
Alaimus	**Ba4**	2.9	1.4	3.3	4.3	4.3	5.2	3.2	3.7	1.3	2.6	1.0	0.7	-	-	0.4	-	-	0.4	1.6	0.5	-	-
Paramphidelus	**Ba4**	0.8	1.3	1.0	-	0.3	0.7	1.0	1.4	1.7	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Seinura	**Ca2**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-
Clarkus	**Ca4**	1.1	1.0	0.7	0.6	1.9	0.7	1.1	1.0	1.0	0.6	0.4	0.3	1.2	0.1	1.3	0.4	0.1	0.8	0.1	0.3	-	-
Mylonchulus	**Ca4**	0.2	0.2	-	-	0.3	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Discolaimus	**Ca5**	0.2	0.1	0.1	1.0	-	0.4	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nygolaimidae	**Ca5**	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.3	-	-	-	-	-	-	-
Paraxonchium	**Ca5**	-	-	-	0.3	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eudorylaimus	**Om4**	1.2	1.4	0.3	1.3	3.9	1.0	2.3	1.4	0.9	0.7	0.6	0.4	0.6	0.5	0.3	0.7	-	0.2	0.9	0.4	-	-
Aporcelaimellus	**Om5**	0.2	0.6	0.3	-	1.6	1.0	0.6	1.1	0.4	0.1	-	0.3	0.2	0.1	0.3	0.1	-	-	-	-	-	-
Steinernema	**IP**	0.2	0.8	0.3	1.0	1.0	0.6	-	1.4	0.7	0.8	1.6	0.7	-	0.4	0.4	-	0.3	0.9	-	-	0.1	-
Брой таксони		39	35	31	33	35	29	31	30	31	32	24	27	23	30	31	24	19	24	23	23	20	17
H'		2.70	2.62	2.78	2.67	2.71	2.71	2.70	2.54	2.56	2.41	2.39	2.61	2.19	2.53	2.40	2.30	2.39	2.30	2.36	2.22	2.38	2.04

Таблица 3. Общ брой нематоди и численост (ind 100 g^{-1} dw почва, av ±s.e., n=4 за NoSl и UnSl; n=2 за останалите варианти) на трофичните групи: растително хранещи се (Pl), бактериално хранене (Ba), фунгифаги (Fu), хищни (Ca), смесено хранене (Om) и паразити по насекоми (IP) във вариантите: без утайки (NoSl), незамърсени утайки (UnSl) и 4 нарастващи концентрации на Ni, Zn+Ni, Cu, Zn+Cu и Zn. (*Достоверни различия с контролата UnSl, P<0.05)

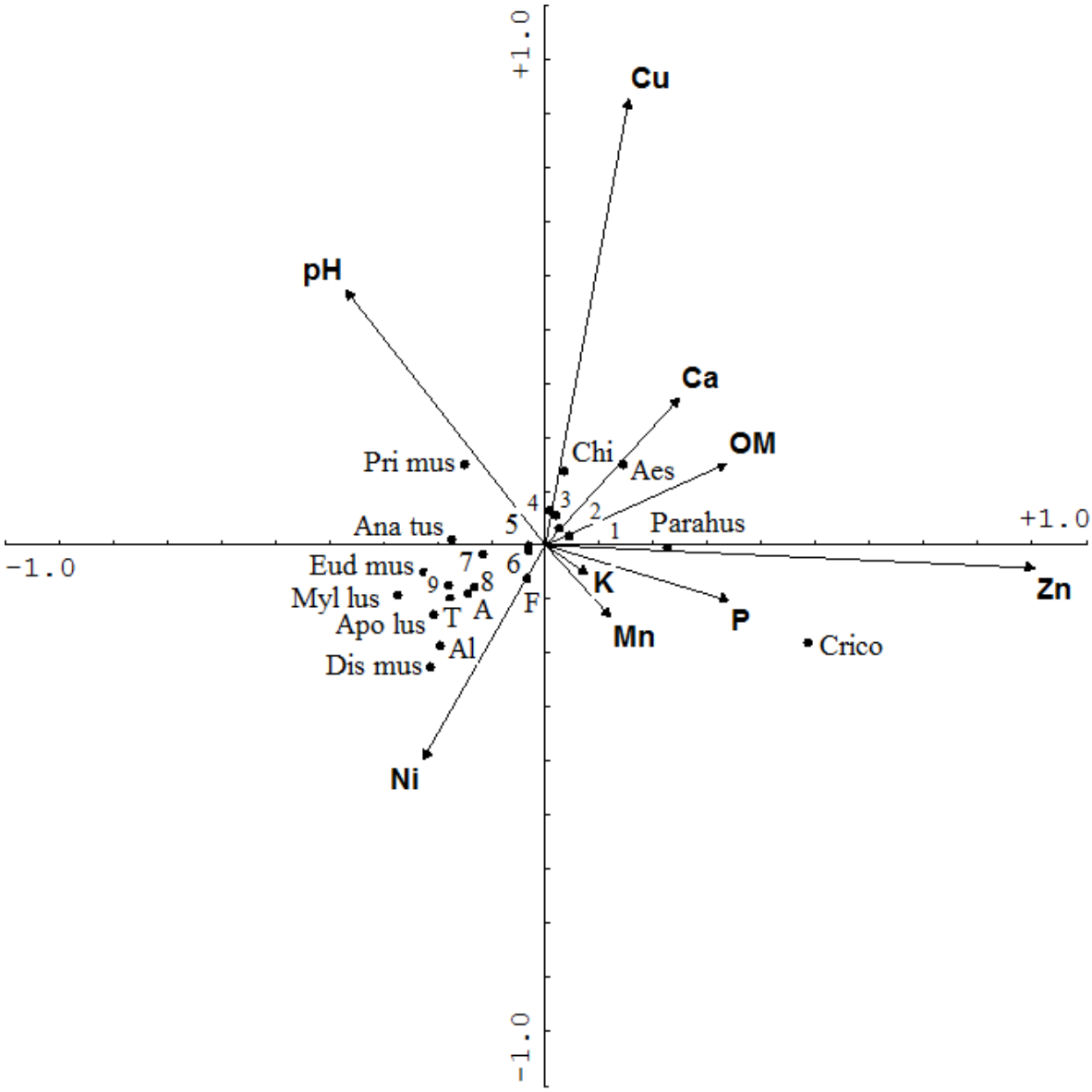
Троф.гр.	Pl	Ba	Fu	Ca	Om	IP	Общ брой
UnSl	380 ± 36	337 ± 14	63 ± 15	11 ± 4	17 ± 3	6 ± 2	813 ± 51
NoSl	298 ± 60	330 ± 37	85 ± 15	14 ± 5	10 ± 1*	2 ± 2	739 ± 102
Ni 1	286 ± 122	362 ± 93	118 ± 5*	6 ± 2	4 ± 4	2 ± 2	778 ± 217
Ni 2	539 ± 153	538 ± 148	99 ± 16	24 ± 0	20 ± 4	12 ± 4	1233 ± 11*
Ni 3	333 ± 134	346 ± 46	78 ± 9	23 ± 12	53 ± 18	7 ± 7	840 ± 65
Ni 4	326 ± 52	476 ± 115	97 ± 18	10 ± 2	18 ± 1	5 ± 1	932 ± 79
Zn+Ni 1	263 ± 1	358 ± 27	87 ± 13	8 ± 8	22 ± 18	0 ± 0	738 ± 22
Zn+Ni 2	475 ± 77	335 ± 4	110 ± 12*	10 ± 3	23 ± 8	13 ± 13	965 ± 45
Zn+Ni 3	375 ± 145	346 ± 195	51 ± 8	9 ± 1	10 ± 4	5 ± 2	796 ± 353
Zn+Ni 4	519 ± 181	505 ± 1*	100 ± 58	7 ± 3	12 ± 4	10 ± 7	1153 ± 130*
Cu 1	242 ± 52	304 ± 4	68± 8	3 ± 3	4 ± 4*	9 ± 9	631 ± 63
Cu 2	330 ± 62	323 ± 99	80 ± 29	3 ± 3	6 ± 2*	6 ± 2	747 ± 197
Cu 3	360 ± 108	278 ± 19	51 ± 4	8 ± 3	6 ± 0*	0 ± 0	701 ± 129
Cu 4	251 ± 1	581 ± 35*	121 ± 71	7 ± 0	6 ± 1*	4 ± 1	969 ± 35
Zn+Cu 1	543 ± 57	394 ± 84	128 ± 26*	19 ± 5	8 ± 8	4 ± 4	1096 ± 177
Zn+Cu 2	396 ± 50	329 ± 207	67 ± 27	4 ± 4	6 ± 2	0 ± 0	802 ± 233
Zn+Cu 3	379 ± 121	375 ± 8	112 ± 32	1 ± 1	0 ± 0	3 ± 3	870 ± 163
Zn+Cu 4	322 ± 103	320 ± 89	116 ± 64	7 ± 5	2 ± 2*	7 ± 4	775 ± 139
Zn 1	250 ± 21	323 ± 82	78 ± 18	1 ± 1	6 ± 3*	0 ± 0	657 ± 47
Zn 2	675 ± 114*	441 ± 86	60 ± 13	4 ± 4	5 ± 2*	0 ± 0	1184 ± 40*
Zn 3	472 ± 3	672 ± 90*	94 ± 13	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	1239 ± 106*
Zn 4	806 ± 105*	368 ± 100	103 ± 27	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1277 ± 22*

Таблица 4. Индекси на зрялост (MI and MI_{2-5}) на групата на свободно-живеещите нематоди и численост (ind 100 g^{-1} dw почва, av ± s. e., n=4 за NoSl и UnSl; n=2 за останалите варианти) на r- стратезите (с-р 1, 2) К- стратезите (с-р 3-5) във вариантите: без утайки (NoSl), незамърсени утайки (UnSl) и 4 нарастващи концентрации на Ni, Zn+Ni, Cu, Zn+Cu и Zn. (*Достоверни различия с контролата UnSl, P<0.05)

	с-р 1	с-р 2	с-р 3-5	MI	MI (2-5)
UnSl	73 ± 12	263 ± 24	92 ± 9	2.17 ± 0.04	2.42 ± .0.02
NoSl	79 ± 9	264 ± 35	96 ± 27	2.14 ± .0.07	2.41 ± 0.09
Ni 1	91 ± 28	329 ± 53	70 ± 16	2.06 ± 0.02	2.29 ± 0.05
Ni 2	90 ± 33	461 ± 81	126 ± 42	2.21 ± 0.02	2.39 ± 0.05
Ni 3	92 ± 25	278 ± 49	122 ± 41	2.29 ± 0.15	2.60 ± 0.04*
Ni 4	97 ± 19	388 ± 123	116 ± 10	2.21 ± 0.12	2.45 ± 0.15
Zn+Ni 1	80 ± 11	296 ± 38	99 ± 4	2.18 ± 0.02	2.42 ± 0.03
Zn+Ni 2	74 ± 12	286 ± 30	118 ± 61	2.27 ± 0.24	2.50 ± 0.23
Zn+Ni 3	36 ± 16	329 ± 189	51 ± 1	2.20 ± 0.13	2.32 ± 0.15
Zn+Ni 4	133 ± 18*	431 ± 53	57 ± 27	1.94 ± 0.13	2.20 ± 0.08*
Cu 1	105 ± 34	245 ± 36	29± 18	1.83 ± 0.17	2.14 ± 0.07*
Cu 2	80 ± 18	280 ± 92	52 ± 23	1.96 ± 0.02*	2.20 ± 0.00*
Cu 3	61 ± 16	264 ± 12	17 ± 7*	1.92 ± 0.07*	2.12 ± 0.04*
Cu 4	153 ± 12*	548 ± 35*	23 ± 1*	1.84 ± 0.01*	2.07 ± 0.02*
Zn+Cu 1	91 ± 10	411 ± 113	46 ± 21	1.97 ± 0.09	2.18 ± 0.02*
Zn+Cu 2	114 ± 42	318 ± 102	11 ± 1*	1.80 ± 0.02*	2.07 ± 0.01*
Zn+Cu 3	116 ± 13	368 ± 29	3 ± 3*	1.77 ± 0.02*	2.01 ± 0.01*
Zn+Cu 4	89 ± 20	344 ± 45	12 ± 6*	1.84 ± 0.08*	2.06 ± 0.02*
Zn 1	97 ± 5	293 ± 51	18 ± 12*	1.84 ± 0.07*	2.10 ± 0.06*
Zn 2	175 ± 29*	319 ± 46	15 ± 1*	1.72 ± 0.02*	2.09 ± 0.02*
Zn 3	216 ± 17*	547 ± 89*	4 ± 4*	1.72 ± 0.01*	2.01 ± 0.01*
Zn 4	150 ± 67	320 ± 61	1 ± 1*	1.70 ± 0.06*	2.00 ± 0.00*



Фиг. 4 Корелации на концентрациите на Zn и Cu (Zn+Cu) в mg kg^{-1} почва с: A) числеността (ind 100 g^{-1} dw почва) на K-стратезите (c-p 3-5) и B) относителната им численост (%) в контролите (●), Ni (○), Zn+Ni (▲), Cu (Δ), Zn+Cu (■) and Zn (□).



Фиг. 5 Ординационна диаграма на базата на каноничен кореспондентен анализ (CCA) на данните за числеността на: *Eudorylaimus* (Eud mus), *Mylonchulus* (Myl lus), *Aporcelaimellus* (Apo lus), *Discolaimus* (Dis mus), *Anaplectus* (Ana tus), *Prismatolaimus* (Pri mus), *Paratylenchus* (Parahus), *Mesocriconema* (Crico), *Chiloplacus* (Chi), *Aphelenchoides* (Aes), *Alaimus* (Al), *Trichodorus* (T), *Acrobeles* (A), *Filenchus* (F), *Acrobeloides* (1), Rhabditidae (2), *Eucephalobus* (3), *Pratylenchus* (4), *Plectus* (5), *Tylenchorhynchus* (6), *Aphelenchus* (7), *Clarkus* (8), *Bastiania* (9) и концентрациите на Zn, Cu, Ni, Mn, K, Ca, P, количеството органично вещество (OM) и pH на почвата в експерименталните площадки.

Хищните и смесено хранещите се нематоди са отрицателно повлияни в площадките, третирани с Zn, Zn+Cu и Cu. Popovici (1994) и Korthals et al. (1996_a) дават данни за чувствителността на тези нематоди към високи концентрации на тежки метали в почвата, а Zullini and Peretti (1986) подчертават високата чувствителност на нематодите от разред Dorylaimida към замърсяване с Pb. Намаляване на числеността на смесено хранещите се нематоди и повишаване на числеността на хищните се отчита в почви, тертирани със замърсени с тежки метали утайки (Weiss and Larink, 1991). Докато хищните нематоди в нашия експеримент са К-стратези (*Clarkus*, *Mylonchulus*), в изследването на Weiss and Larink (1991) са основно r- стратези (*Pristionchus*), които освен хищни са и бактериално хранещи се, което обяснява разнопосочните реакции на групата при двете изследвания.

1.3.3. Индекси на зрялост на групата на свободно-живеещите нематоди и промени в числеността на r- и К- стратезите.

Ниските стойности на индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) в третиранията с Zn, Zn+Cu и Cu са индикация за висока токсичност на тези тежки метали за свободно живеещите нематоди за разлика от третиранията с Ni и Zn+Ni. И двата индекса показват кумулативен ефект на Zn и Cu, кагато са приложени заедно в Zn+Cu третиранията. MI_{2-5} в нашия експеримент проявява по-висока чувствителност в сравнение с MI и показва по-силна корелация с почвените концентрации на Zn+Cu. Сходни резултати съобщават и Korthals et al. (1996_c).

Индексите на зрялост са използвани успешно за биологична оценка на почвено замърсяване с тежки метали в изследванията на Popovici (1994), Popovici and Korthals (1995), Yeates et al. (1995) и Korthals et al. (1998). Намаляването на индексите на зрялост в почвите, третирани с Zn, Zn+Cu и Cu в нашия експеримент се дължи на намаляване на числеността на К-стратезите и повишаване на числеността на r-стратезите. Сходни изменения в групата на свободно живеещите нематоди в замърсени с тежки метали почви съобщават и Popovici (1994), Popovici and Korthals (1995) и Korthals et al. (1998). Групата на К-стратезите намалява не само количествено, но силно намалява и таксономичното й богатство от 10 рода в контролата до 1 род във високите концентрации на $Zn_{3,4}$.

1.4. Обобщение

Най-чувствителните индикатори за оценка на токсичността на тежките метали за нематодните комплекси в условията на проведения моделен полски опит са:

- Таксономичното богатство на нематодните съобщества
- Таксономичното богатство на свободно живееещите К-стратези
- Индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) на групата на свободно живеещите нематоди, като MI_{2-5} е по-чувствителен от MI и показва по-силна корелация с концентрациите на тежките метали в почвата
- Числеността на трофичните групи на смесено хранещите се и хищни нематоди.

Отсъствието на качествени и количествени промени в нематодните съобщества във вариантите, третирани с Ni и комбинацията Zn+Ni показват ниска токсичност на тези метали в концентрации под ПДК.

Намаленото таксономично богатство на нематодните съобщества и преди всичко на свободно живеещите К-стратези, намалените индекси на зрялост на групата на свободно живеещите нематоди и намалената численост на смесено хранещите се и хищни нематоди във вариантите, третирани с Zn, Cu и комбинацията Zn+Cu показват висока токсичност на тези метали в концентрации около и под техните ПДК.

2. Оценка на хроничното действие на тежките метали върху нематодни съобщества в площадки с различна степен на замърсяване, разположени в околностите на КЦМ, гр. Пловдив.

2.1. Материал и методи

2.1.1. Кратка характеристика на изследвания район

Комбинатът за цветни метали (КЦМ АД) е разположен в Горнотракийската низина. Климатът е преходно континентален с изразено Средиземноморско влияние.

КЦМ се намира на 10 km южно от гр. Пловдив и на 8 km северно от гр. Асеновград. Функционира от 1961 г. и е най-големия производител на Zn и Pb в Югоизточна Европа и Черноморския регион. Основните замърсители - Pb, Cd, Zn и Cu се разпространяват с прахообразните часици по въздуха и се отлагат по посоката на преобладаващите ветрове.

2.1.2. Описание на експерименталните площадки

Избрани са пет площадки: една с ниско (L), две със средно (M_1, M_2) една с високо (H) и една с екстремно високо (E) ниво на замърсяване с тежки метали. Четири от площадките се намират на разстояние: 300 m (E), 800 m (H), 2000 m (M_2) и 5000 m (L) от завода в юго-източна посока и една площадка е на 2000 m (M_1) в северо-източна посока (Фиг.6). Почвата във всички площадки е алувиално-ливадна (Eutric Fluvisols), като хумусното й съдържание варира от 1.73% до 2.42%.

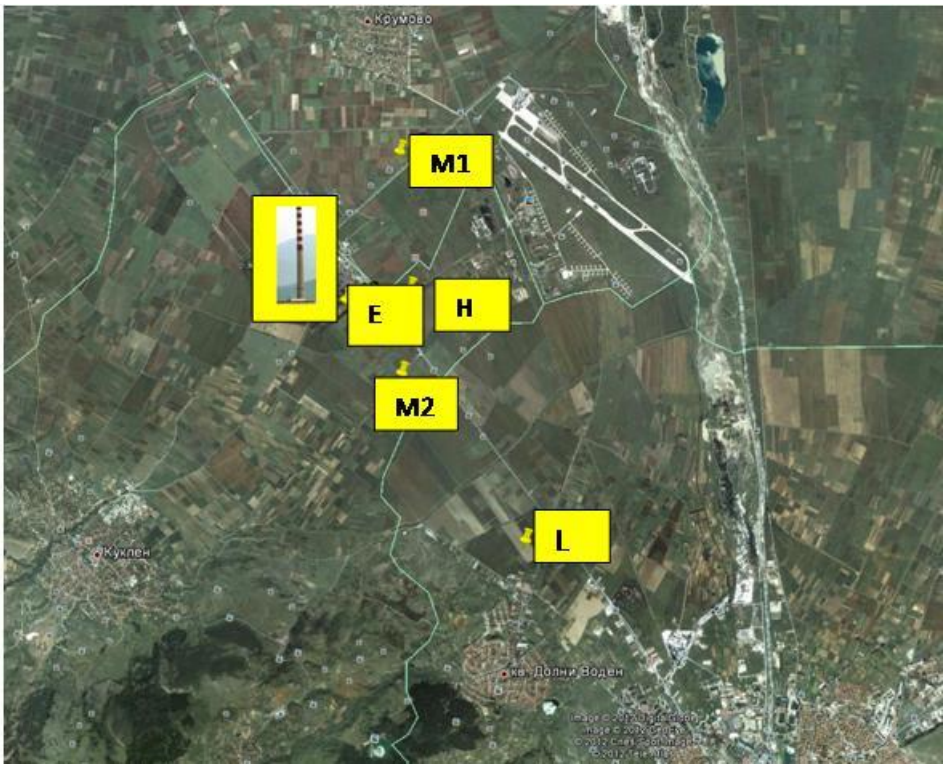
Избрани са необработваеми, монокултурни площадки на многогодишния плевел *Cardaria draba* (L.) Desv. (Brassicaceae) - "родилна трева". Само в площадката с високо ниво на замърсяване (H), растението образува постоянна, многогодишна растителна покривка в цялата площадка, а в останалите площадки образува отделни монокултурни островчета от които са събирани пробите. В площадките с много високо и високо ниво на замърсяване няма друга растителност, а в площадките със средно и ниско ниво на замърсяване монокултурните обраствания на *C. draba* са оградени предимно от житни треви (сем. Poaceae).

2.1.3. Събиране на почвени проби и почвени анализи

По четири сборни проби, всяка от по пет подпроби са събрани от почва и ризосфера на *C. draba* L. от избраните експериментални площадки на 29.05.2012 г. и на 29.06.2013 г. Почвената влажност е определена след сушене при 105°C за 72h и всички данни са представени на база сухо тегло на почвата. Концентрациите на Pb, Cd, Zn и Cu са определени по ISO методика (ISO:11466). В допълнение са събрани и данни за почвената влажност и температурата на въздуха за всеки ден от месеците в които са събирани пробите (Автоматична Метеорологична Станция в Цалапица, Институт за почвени науки, агротехнологии и защита на растенията "Н. Пушкаров", Селскостопанска Академия).

2.1.4. Събиране и обработка на растителни проби

От всяка експериментална площадка са събрани между 40 и 60 растения на 29.05.2012 г. по време на цъфтеж и на 29.06.2013 г. в края на вегетационния период. Надземните части на растението след обстойно измиване за отстраняване на полепнали почвени частици, са изсушени, стрити на прах и по ISO методика (ISO:11466) са определени концентрациите на Pb, Cd, Zn и Cu.



Фиг.6 Разположение на експерименталните площадки с различно ниво на замърсяване: ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) в района на КЦМ АД, гр. Пловдив.

2.1.5. Изолиране на нематодите от почва и растителен материал

Почвата е пресята през сито с големина на порите 2.5 mm и нематодите са изолирани от 100 g почва свежо тегло по метода на Берман и 48h експозиция. Нематодите са преброени живи под бинокуляр. Умъртвени са чрез загряване до 60°C за 3 минути и са фиксирани в 4% формалин. От всяка проба, 150 индивиди са монтирани на полу-трайни микроскопски препарати. Половозрелите са определени до вид, а ларвите до род с помощта на светлинен микроскоп (100-400x).

Корените на *C. draba*, събрани на 29.05.2012 г. са измити от полепналата почва и са разделени на две групи: корени с гали на бръмбари хоботници и корени без гали. От всяка площадка са обработени по две смесени коренови проби от по 15 g (с гали и без гали в тегловно съотношение 1:1). Корените са раздробени и хомогенизирани, а нематодите са изолирани от тях по метода на Берман и 48h експозиция. Всички изолирани нематоди са монтирани на полу-трайни микроскопски препарати и са определени до род.

2.1.6. Анализи на данните за нематодните съобщества

Таксономичното богатство (S) е представено като брой видове и родове. Таксономичното разнообразие (H') е изчислено на ниво род по формулата на Shannon-Wiener: $H' = -\sum p_i \ln p_i$, където p_i е относителната численост на $i^{тия}$ род. Изравнеността на родовете е изчислена по формулата на Pielou (E): $E = H'/\ln(S)$, където H' е таксономичното разнообразие, а S е броя на родовете. Концентрацията на доминиране на Simpson (C) е

изчислена по формулата: $C=\sum p_i^2$, където p_i е относителната численост на $i^{тия}$ род. За определяне на доминантната структура са използвани следните класове на доминантност по Heydemann (1955): Еудоминанти (относителна численост>30%); Доминанти (10%<отн.числ.<30%); Субдоминанти (5%<отн.числ.<10%); Рецеденти (1%< отн.числ. < 5%) и Субрецеденти (отн.числ. <1%).

Количествените анализи са направени на ниво род. Трофичните групи на нематодите са разграничени по Yeates et al. (1993). Пет екологичните групи на свободно-живеещите нематоди са разделени на базата на жизнените им стратегии (colonizer - persister, c-p) и са определени индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) по формулата: $MI = \sum v_i f_i$, където v_i е c-p стойността на $i^{тия}$ род, а f_i е относителната му численост в съответствие с Bongers (1990), Bongers and Korthals (1995), Bongers et al. (1995), Bongers and Bongers (1998). Индексът MI_{2-5} е изчислен по същия начин, като cp1 групата е изключена. Функционалните групи нематоди са определени по Bongers and Bongers (1998). Структурния индекс (SI), Индекса на обогатяването (EI) и Индекса на потока на веществата (Channel index, CI) са изчислени по формулите: $SI=100x(s/s+b)$, където $s=\sum k_s n_s$ (k_s е индикаторното тегло на Ca_{2-5}, Om_{3-5}, Fu_{3-5}; Ba_{3-5}), а n_s е числеността им. $EI=100x(e/e+b)$, където $b=\sum k_b n_b$ (k_b е индикаторното тегло на Ba_2 и Fu_2, а n_b е числеността им), $CI=100x(0.8Fu_2/3.2Ba_1+0.8Fu_2)$ - по Ferris et al. (2001).

Всички данни са обработени статистически с двуфакторен анализ 2w ANOVA (площадки и период на отчитане), при сравненията е използван теста Holm-Sidak. Използван е корелационния тест на Pearson за анализ на данните. Данните за численността на родовете в различните площадки и вземания са обработени заедно с данните за почвените концентрации на Pb, Cd, Zn и Cu, pH и почвената влажност с каноничен кореспондентен анализ (CCA), CANOCO. Използван е пермутационен тест Monte Carlo за доказване на достоверност на каноничните оси (Ter Braak, 1988).

2.2. Резултати

2.2.1. Концентрации на тежките метали в почвата

Площадката с екстремно високо ниво на замърсяване (E) съдържа концентрации на Pb, Cd, Zn и Cu, които надвишават техните ПДК съответно 57, 44, 7.6 и 1.8 пъти. Площадката с висока степен на замърсяване (H) също съдържа концентрации на Pb (22x), Cd (25x), Zn (8x) и Cu (1.3x) над ПДК в почвите. Концентрациите на Pb и Cd надвишават 3 до 5 пъти ПДК в площадките със средно ниво на замърсяване (M_1, M_2), а Cu и Zn са или под или на нивото на ПДК в тези площадки. Концентрациите на тежките метали в почвата на най-слабо замърсената площадка (L) са под ПДК за всички метали. Почвеното pH в площадките варира от 7.3 до 7.7 (Таблица 5).

2.2.2. Концентрации на тежките метали в надземните части на C.draba

Най-ниските концентрации на Zn, Cu, Pb и Cd са установени в надземните части на *C.draba* от най-слабо замърсената площадка (L), а най-високите - в най-силно замърсената площадка (E) - Таблица 6. Концентрации на хиперакумулационно ниво са отчетени за Pb (>1000 μg g^{-1}) и Cd (>100 μg g^{-1}) в най-силно замърсената площадка (E) и на акумулационно ниво за Pb ((>100 μg g^{-1}) и Cd (>20 μg g^{-1}) в площадката с високо ниво на замърсяване (H). Концентрацията на Cd в надземните части на растенията от площадките L и M_2 е по-висока отколкото в почвата (Фактор на обогатяване, EF>1), както и на Zn в площадките M_1 и E (Таблица 6).

Таблица 5 Концентрации на Zn, Cu, Pb, Cd и обща концентрация (TM) на металите (mg kg^{-1} av±s.e.) в почва и pH в площадките с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване и пределно допустимите концентрации (ПДК) на металите.

	L	M_1	M_2	H	E	ПДК	ПДК
Zn	184±34	14±3	542±250	2517±508	3025±1761	400	320
Cu	40±4	219±19	69±18	194±41	554±46	300	150
Pb	98±11	598±110	310±137	2242±831	6817±501	120	100
Cd	1.8±0.5	12±3	8±4	50±13.5	132±11	3	2
TM	324±40	843±134	929±409	5002±1384	10528±1212	-	-
pH	7.7	7.6	7.6	7.3	7.5	pH>7.4	6<pH<7.4

За всички тежки метали съотношението на концентрации в растителните части от най-замърсената площадка (E) и концентрациите им в най-слабо замърсената площадка (L) е по-голямо от 10. Концентрациите на тежките метали в надземните части на растенията се повишават с повишаване на почвената концентрация на металите: Cu ($r = 0.82$, $P<0.01$, $n=10$); Pb ($r= 0.88$, $P<0.001$, $n=10$); Cd ($r=0.99$, $P<0.001$, $n=10$), като такава зависимост не е установена само за Zn.

2.2.3. Почвени и климатични условия

По-висока почвена влажност (над 0.22 g g^{-1}) и по-ниска температура (под 15.5°C) на въздуха е отчетена за последната половина на м. май, 2012г. в сравнение с влажността (под 0.19 g g^{-1}) и температурата (над 24.6°C) за същия период на м. юни, 2013 г. (Фиг. 8). Почвената влажност измерена по време на вземането на пробите не се различава съществено между площадките, но различията са големи при различните вземания. Месечното количество валежи за м. май, 2012 е 143.2 l m^{-2}, а за м. юни, 2013 е 62.4 l m^{-2}.

2.2.4. Нематоди, изолирани от почвата

2.2.4.1. Таксономично богатство и разнообразие

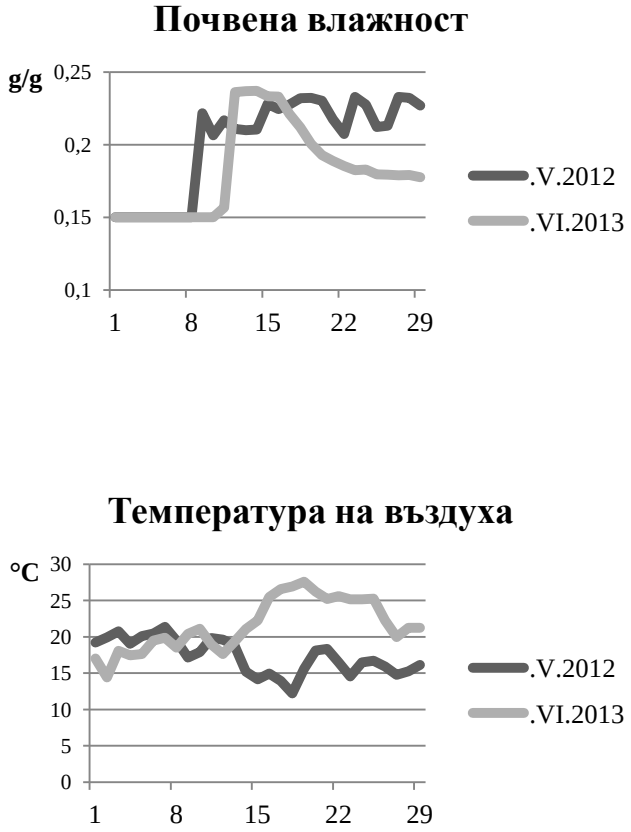
По време на изследването са установени 75 вида нематоди принадлежащи към 61 рода (Таблици 8 и 9). По-високо таксономично богатство (54 вида, 47 рода) е установено в площадката M_1 и по-ниско (43 вида, 37 рода) в M_2 в сравнение с най-слабо замърсената площадка (47 вида, 43 рода). Най-ниско е видовото и родовото богатство на нематодите в площадката с високо замърсяване (30 вида, 27 рода), следвано от площадката с екстремно замърсяване (36 вида, 32 рода). Отрицателна е корелацията на броя на видовете и общата концентрация на металите ($r= - 0.568$, $p<0.001$, $n=40$). Таксономичното разнообразие (H') намалява с повишаване на концентрацията на Zn в почвата ($r= - 0.336$, $p<0.05$, $n=40$).

2.2.4.2. Индекси на зрялост на групата на свободно-живеещите нематоди и таксономично богатство на К-стратезите

Общите опортюнисти (cp2) доминират (53-90%) в групите на свободноживеещите нематоди във всички площадки и вземания. Относителната им численост е в положителна корелация с почвената концентрация на металите (най-висока за Pb: $r= 0.591$, $p<0.001$, $n=40$). К-стратезите (cp3-5) имат нисък относителен дял (4- 4.5%) в най-силно замърсената

Таблица 6. Концентрации на тежките метали (μg g^{-1}) в надземните части на *C. draba* и в почви и фактор на обогатяването (EF) в площадки с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване. (* EF>1; ** Cd>100 μg g^{-1}, Pb и Cu > 1000 μg g^{-1} Zn > 10000 μg g^{-1})

		L	**M_1**	**M_2**	**H**	**E**
Zn	shoots	69	125	175	562	1025
	soil	130	10.5	350	2700	5900
2012	EF	0.53a	11.90b*	0.50a	0.21a	0.17a
Zn	shoots	137	203	281	775	3422
	soil	220	11.75	950	1725	1525
2013	EF	0.62a	17.28b*	0.30a	0.45a	2.24a*
Cu	shoots	6	9	11	24	79
	soil	37a	203.5a	54a	191a	487.5b
2012	EF	0.16	0.04	0.20	0.13	0.16
Cu	shoots	10	15	24	36	475
	soil	46.5a	204a	97.5a	136.5a	617.5b
2013	EF	0.22	0.07	0.25	0.26	0.77
Pb	shoots	33	40	70	499	1256**
	soil	101a	490a	213a	2225a	6000b
2012	EF	0.33A	0.08A	0.33A	0.22A	0.21A
Pb	shoots	97	162	310	618	4450**
	soil	113a	529a	533a	1075a	7175b
2013	EF	0.86B	0.31B	0.58B	0.57B	0.62B
Cd	shoots	3a	4a	14a	36a	93b
	soil	2a	8a	5.5a	45.5a	117.5b
2012	EF	1.50*	0.50	2.55*	0.79	0.79
Cd	shoots	4a	6a	12a	31a	137b**
	soil	2.5a	11.5a	15a	33.5a	147.5b
2013	EF	1.60*	0.52	0.80	0.93	0.93

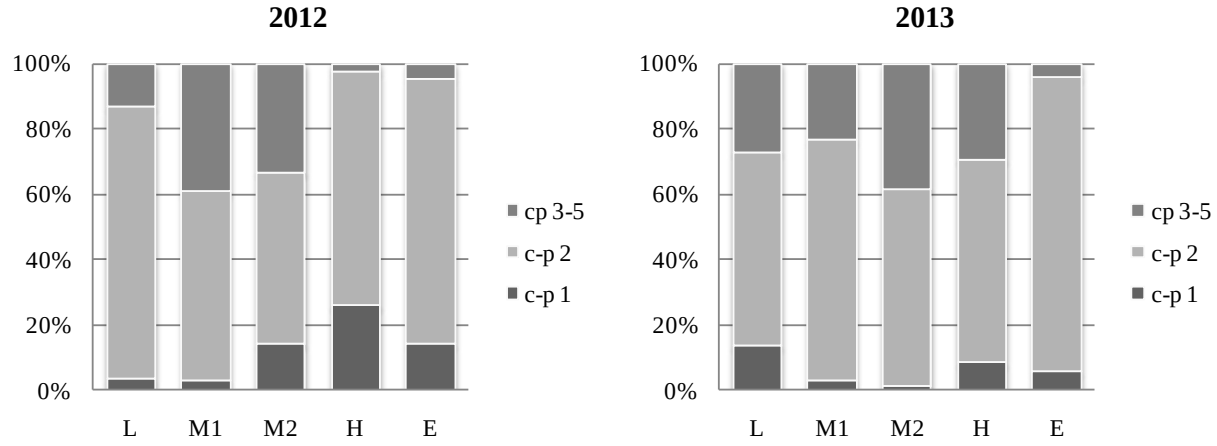


Фиг. 8 Почвена влажност (g g^{-1}) на повърхностните 10 cm почва, измервана ежедневно и температурата на въздуха (средно за 24 h) от 01 до 29 май, 2012 и юни, 2013.

площадка (E) и при двете отчитания и са много по-добре представени в площадките с по-слабо замърсяване (L, M_1 и M_2), където делът им е 13% - 39% (Фиг. 10). За площадката с високо ниво на замърсяване (H) се отчита голямо вариране в относителния дял на K-стратезите - 2.5% при първото и необичайно висок дял от 29% при второто отчитане, което се дължи на повишената численост на *Mesodorylaimus bastiani*.

K-стратезите имат най-ниско таксономично богатство (2-4 вида) в H площадката, по-високо (6-9 вида) в E площадката и най-високо (9-15 вида) в по-слабо замърсените площадки (Таблица 10). Числеността на групата на K-стратезите намалява при повишаване степента на замърсяване в площадките, като корелацията е най-висока с общата концентрация на всички метали в почвата ($r = -0.632$, $p<0.001$, $n=40$).

Стойностите на индексите на зрялост MI и MI_{2-5} са най-ниски в най-замърсената площадка (E) и при двете отчитания, а в площадката с високо ниво на замърсяване (H) силно варират, което се дължи на повишената численост на *M. bastiani* при второто отчитане. Площадките със средно ниво на замърсяване (M_1 и M_2) имат по-високи стойности на индексите на зрялост в сравнение с най-слабо замърсената площадка (L). Индексите на зрялост намаляват с повишаване на почвената концентрация на микроелементите. Тази корелация е най-висока между индекса MI_{2-5} и общата концентрация на металите в почвата ($r = -0.658$, $p<0.001$, $n=40$).



Фиг. 10 Относителна численост (%) на групите колонизатори-пързистъри (с-р) в площадките с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване през 2012 г. и 2013 г.

2.2.4.3. Трофична структура на нематодните съобщества

2.2.4.3.1. Нематоди, хранещи се с бактерии и хифи на гъби

Нематодите, хранещи се с бактерии са в по-ниска численост в най-замърсените площадки (E, H) като при условия на ниска почвена влажност числеността им в тези площадки е съответно 7 и 2.6 пъти по-малка отколкото в най-слабо замърсената площадка (L). Различията са и качествени, като в L площадката хранещите се с бактерии нематоди се отнасят към 20 вида (18 рода), в H площадката към 3 вида (13 рода), а в E площадката са 9 вида (8 рода) - Таблица 12. Числеността на тези нематоди показва отрицателна корелация с концентрациите на Cu и Cd (за Cu: r= - 0.348, $p<0.05$, n=40).

Числеността на фунгифагите в най-замърсената площадка (E) е значително по-висока отколкото в останалите площадки, като и таксономичното богатство на фунгифагите (5 рода, 8вида) също е по-голямо от това в L - 3 рода, 4 вида (Таблица 12). Числеността на фунгифагите се повишава с повишаване на почвената концентрация на металите, най-висока е положителната им корелация с концентрацията на Zn (r= 0.792, $p<0.001$, n=40).

2.2.4.3.2. Нематоди със смесено хранене и хищни

Числеността на нематодите със смесено хранене намалява с повишаване на почвеното замърсяване, като най-силна е корелацията с концентрацията на Cu (r= -0.562, $p<0.001$, n=40). Повишеният дял на нематодите със смесено хранене в H площадката (22%) при второто отчитане се дължи на повишената численост (18.7%) на *M.bastiani* в тази площадка.

Таблица 8. Относителна численост (%, av±s.e., n=4) на родовете нематоди от различните гилдии (Г) в площадките с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване през 2012 г. и 2013 г. Различните главни букви показват достоверните различия между вземанията от една и съща площадка, а различните малки букви - различията между площадките от едно и също вземане (P<0.05).

Родове	Г	L		M_1		M_2		H		E	
		2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
Mesorhabditis	Ba_1	–	1.0 ± 0.7	1.2 ± 0.7	–	6.2 ± 2.0	–	2.5 ± 1.1	1.3 ± 0.3	4.8 ± 0.7	–
Panagrolaimus	Ba_1	1.8 ± 0.9	8.8 ± 1.8a	0.3 ± 0.4	0.7 ± 0.3b	2.0 ± 0.4	0.5 ± 0.4b	6.0 ± 2.9	4.8 ± 2.1ab	3.0 ± 1.8	3.5 ± 0.8b
Pristionchus	Ba_1	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	0.2 ± 0.2	–	–	–
Rhabditidae DL	Ba_1	0.3 ± 0.4	0.2 ± 0.2	–	1.3 ± 0.7	–	–	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	3.0 ± 1.2	0.2 ± 0.2
Acrobeles	Ba_2	8.2 ± 1.2Aa	14.2 ± 2.7Ba	4.5 ± 1.1Aab	27.7 ± 1.5Bb	1.0 ± 0.5b	2.0 ± 1.4c	3.0 ± 0.9Ab	6.7 ± 1.5Bd	2.3 ± 1.3b	1.0 ± 0.5c
Acrobeloides	Ba_2	2.8 ± 1.6a	2.3 ± 0.4b	2.5 ± 1.3a	0.3 ± 0.2b	3.3 ± 0.9a	2.3 ± 0.8b	3.3 ± 0.6Aa	8.8 ± 2.6Ba	12.0 ± 2.3b	11.5 ± 1.5b
Ceratoplectus	Ba_2	–	0.3 ± 0.2	–	–	–	–	–	–	–	–
Cervidellus	Ba_2	0.7 ± 0.3	2.3 ± 0.5	0.5 ± 0.4	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.2	–	–	0.2 ± 0.2	–	–
Chiloplacus	Ba_2	13.2 ± 3.2a	11.8 ± 1.1a	6.5 ± 1.1ab	5.3 ± 1.7b	2.0 ± 1.1b	4.5 ± 1.9b	3.0 ± 1.5ab	3.3 ± 0.5b	1.2 ± 0.5c	1.8 ± 0.6c
Eucephalobus	Ba_2	4.3 ± 2.1ab	1.0 ± 0.5	2.3 ± 0.5ab	2.5 ± 0.6	–	1.5 ± 0.8	–	4.3 ± 1.4	6.3 ± 3.1b	4.3 ± 0.7
Eumonhystera	Ba_2	0.3 ± 0.4	0.2 ± 0.2	–	2.0 ± 1.0	–	0.3 ± 0.4	–	4.0 ± 1.4	–	–
Geomonhystera	Ba_2	0.5 ± 0.4ab	–	1.3 ± 0.3ab	3.8 ± 1.6	2.0 ± 0.3a	0.2 ± 0.2	–	0.3 ± 0.2	–	–
Plectus	Ba_2	6.5 ± 1.9Aa	1.8 ± 0.7Ba	3.2 ± 0.6Aab	7.5 ± 2.8Bb	2.5 ± 0.5ab	1.0 ± 0.4a	0.2 ± 0.2b	0.7 ± 0.3a	0.5 ± 0.4b	0.7 ± 0.5a
Stegelletina	Ba_2	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.2	–	0.3 ± 0.2	–	1.5 ± 0.7	0.5 ± 0.4	1.8 ± 1.2	–	–
Tylocephalus	Ba_2	1.2 ± 0.7	0.3 ± 0.4	0.2 ± 0.2	–	–	0.2 ± 0.2	–	0.7 ± 0.4	–	–
Aulolaimus	Ba_3	–	0.2 ± 0.2	0.7 ± 0.5	–	–	–	–	–	–	–
Cylindrolaimus	Ba_3	–	–	–	–	0.8 ± 1.0	0.2 ± 0.2	–	–	–	–
Prismatolaimus	Ba_3	–	1.5 ± 0.6a	2.3 ± 1.0	3.2 ± 0.5b	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2c	–	–	–	0.2 ± 0.2c
Alaimus	Ba_4	–	0.2 ± 0.2	–	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.4	–	–	–	–	–
Paramphidellus	Ba_4	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	–	–	–	–
Aphelenchus	Fu_2	5.0 ± 1.3ad	3.3 ± 1.1ad	3.8 ± 0.2d	2.2 ± 0.7d	1.7 ± 0.7bd	1.5 ± 0.7bd	8.8 ± 1.3c	5.5 ± 0.8c	5.3 ± 1.3a	5.5 ± 1.0a
Aphelenchoides	Fu_2	2.8 ± 1.3ab	3.7 ± 1.8a	0.5 ± 0.4a	1.0 ± 0.4a	8.7 ± 1.3Ab	1.5 ± 0.5Ba	2.2 ± 0.9a	6.3 ± 1.9a	22.0 ± 4.4Ac	14.7 ± 1.5Bb
Deladenus	Fu_2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1.2 ± 0.6
Ditylenchus	Fu_2	4.7 ± 2.6abc	2.5 ± 0.8a	1.0 ± 0.5ac	1.3 ± 0.5a	8.0 ± 3.5c	4.0 ± 2.1a	0.2 ± 0.2a	3.5 ± 1.6a	8.8 ± 1.9Abc	17.7 ± 4.0Bb
Diphterophora	Fu_3	–	–	1.3 ± 0.5	–	–	–	–	–	–	–
Tylolaimophorus	Fu_3	–	–	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	–	–
Tylencholaimellus	Fu_4	–	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	–	–	0.2 ± 0.2
Boleodorus	Pl_2	0.8 ± 0.5	–	2.8 ± 1.8	1.2 ± 1.3	0.7 ± 0.5	0.2 ± 0.2	–	–	–	–
Coslenchus	Pl_2	–	1.0 ± 0.7	–	–	0.7 ± 0.5	0.3 ± 0.4	–	–	–	–
Filenchus	Pl_2	1.3 ± 0.5ab	2.8 ± 1.2ab	3.8 ± 1.5ab	0.5 ± 0.4a	19.2 ± 6.9a	16.2 ± 2.9b	–	1.3 ± 0.4ab	–	0.3 ± 0.4a
Irantylenchus	Pl_2	–	–	–	–	–	6.7 ± 4.6	–	–	5.0 ± 1.0	13.3 ± 2.7

Таблица 8. Продължение

Родове	Г	L		M_1		M_2		H		E	
		2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
Paratylenchus	Pl_2	–	0.5 ± 0.4	3.8 ± 1.6	0.3 ± 0.4	–	–	0.2 ± 0.2	1.2 ± 0.6	–	–
Psilenchus	Pl_2	–	–	1.5 ± 1.7	–	–	–	–	–	–	–
Bitylenchus	Pl_3	–	–	–	–	14.3 ± 4.5	7.7 ± 3.8	–	–	0.3 ± 0.2	6.0 ± 1.3
Helicotylenchus	Pl_3	–	1.5 ± 0.4ab	–	6.8 ± 1.1a	2.8 ± 1.7	2.3 ± 0.7ab	1.8 ± 1.1	0.3 ± 0.4b	1.0 ± 0.5	–
Heterodera	Pl_3	–	–	2.3 ± 0.8	–	–	–	–	–	–	–
Merlinius	Pl_3	24.5 ± 4.7Aac	8.3 ± 2.0Ba	16.3 ± 3.3c	9.8 ± 1.3ab	4.8 ± 0.8Ab	32.7 ± 4.1Bc	61.7 ± 5.4Ad	20.2 ± 1.2Bb	7.5 ± 1.4bc	14.8 ± 3.3ab
Mesocriconema	Pl_3	–	–	0.7 ± 0.5	0.7 ± 0.4	–	–	–	–	7.0 ± 1.7	0.7 ± 0.0
Pratylenchoides	Pl_3	–	0.8 ± 0.4	–	–	–	–	–	–	0.2 ± 0.2	–
Pratylenchus	Pl_3	3.8 ± 0.4ab	5.8 ± 1.0a	16.8 ± 2.1a	1.3 ± 0.9b	0.3 ± 0.4b	0.3 ± 0.4b	1.3 ± 0.5ab	3.0 ± 1.3ab	0.2 ± 0.2b	–
Scutylenchus	Pl_3	9.2 ± 1.9	4.7 ± 1.4	0.2 ± 0.2	5.5 ± 0.9	–	–	–	–	–	–
Tylenchorhynchus	Pl_3	–	–	–	–	–	–	4.0 ± 1.7	–	0.8 ± 0.7	–
Zygotylenchus	Pl_3	–	–	1.5 ± 1.5	–	–	–	–	–	–	–
Longidorella	Pl_4	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	–	–	–	–
Pungentus	Pl_4	0.2 ± 0.2	–	1.5 ± 0.8	–	–	–	0.2 ± 0.2	–	0.8 ± 0.7	–
Longidorus	Pl_5	–	–	0.3 ± 0.2	–	–	–	–	–	–	–
Xiphinema	Pl_5	–	–	3.0 ± 2.0	0.2 ± 0.2	0.5 ± 0.4	–	–	–	–	–
Ecumenicus	Om_4	2.5 ± 1.7	–	1.7 ± 0.9	–	2.7 ± 0.9	2.2 ± 1.0	0.2 ± 0.2	1.0 ± 0.2	–	–
Eudorylaimus	Om_4	0.5 ± 0.4	4.2 ± 1.5a	0.2 ± 0.2	2.0 ± 1.0ab	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.5ab	–	–	–	–
Mesodorylaimus	Om_4	0.5 ± 0.4	– a	–	– a	0.8 ± 0.7	1.8 ± 0.2ab	–	18.7 ± 4.2b	0.3 ± 0.4	0.3 ± 0.4ab
Microdorylaimus	Om_4	1.0 ± 0.9	7.5 ± 2.2a	0.2 ± 0.2	4.3 ± 0.2a	1.0 ± 0.4	1.7 ± 0.5ab	–	–	0.3 ± 0.4	0.8 ± 0.5ab
Thonus	Om_4	0.7 ± 0.5ab	0.5 ± 0.4	0.5 ± 0.4ab	0.5 ± 0.4	4.2 ± 1.3a	3.7 ± 0.7	–	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.5ab	0.5 ± 0.4
Aporcelaimellus	Om_5	1.0 ± 0.5	4.3 ± 0.8a	1.0 ± 0.5	3.7 ± 0.9ab	2.0 ± 0.6	1.7 ± 0.8ab	0.7 ± 0.3	1.3 ± 0.3ab	0.5 ± 0.4	0.8 ± 0.2b
Seinura	Ca_2	–	–	–	–	0.3 ± 0.4	–	–	–	4.3 ± 1.3	–
Anatonchus	Ca_4	–	–	–	–	–	–	–	–	0.2 ± 0.2	–
Clarkus	Ca_4	–	0.2 ± 0.2	7.0 ± 1.8	1.0 ± 0.5	0.7 ± 0.5	0.2 ± 0.2	–	–	0.3 ± 0.2	–
Miconchus	Ca_4	–	–	0.2 ± 0.2	–	–	–	–	–	0.3 ± 0.2	–
Mylonchulus	Ca_4	–	0.3 ± 0.2	1.0 ± 0.4	–	5.2 ± 2.4	–	–	–	0.2 ± 0.2	–
Discolaimium	Ca_5	0.2 ± 0.2	–	0.5 ± 0.4	–	–	–	–	–	–	–
Discolaimus	Ca_5	1.2±0.4	0.2 ± 0.2	0.7±0.3	0.8±0.4	–	–	–	–	–	–
Paraxonchium	Ca_5	0.2 ± 0.2	0.8 ± 0.5	0.2 ± 0.2	1.2±0.5	–	–	–	–	–	–
Steinernema	IP	–	–	–	0.3 ± 0.2	–	0.5 ± 0.2	–	–	–	–
Общ бр. родове		**43**		**47**		**37**		**27**		**32**	

Таблица 9. Видове нематоди и техните гилдии (Г) в площадките с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване.

Видове	**Г**	**L**	**M_1**	**M_2**	**H**	**E**
Mesorhabditis spiculigera (Steiner, 1936)	**Ba1**	x	x	x	x	x
Panagrolaimus subelongatus (Cobb, 1914)	**Ba1**	x	x	x	x	x
Pristionchus lheritieri (Maupas, 1919)	**Ba1**	x	–	–	x	–
Acrobeles complexus Thorne, 1925	**Ba2**	x	x	x	x	x
A. cilliatus Linstow, 1877	**Ba2**	–	x	x	–	–
Acrobeloides nanus (de Man, 1880)	**Ba2**	x	x	x	x	x
*Ceratoplectus armatus (*Bütschli, 1873)	**Ba2**	x	–	–	–	–
Cervidellus serratus (Thorne, 1925)	**Ba2**	x	x	x	x	–
Chiloplacus symmetricus (Thorne, 1925)	**Ba2**	x	x	x	x	x
Eucephalobus mucronatus (Kozlowska&Wasilevska, 1963)	**Ba2**	x	x	x	x	x
E. oxyuroides (de Man, 1876)	**Ba2**	x	x	–	–	–
Eumonhystera similis (Bütschli, 1873)	**Ba2**	x	x	x	x	–
*Geomonhystera villosa (*Bütschli, 1873)	**Ba2**	x	x	x	x	–
Plectus parietinus Bastian, 1865	**Ba2**	x	x	x	–	x
P. parvus Bastian, 1865	**Ba2**	x	x	x	x	x
Stegelletina devimucronatus (Sumenkova, 1964)	**Ba2**	x	x	x	x	–
Tylocephalus auriculatus (Bütschli, 1873)	**Ba2**	x	x	x	x	–
Aulolaimus oxycephalus de Man, 1880	**Ba3**	x	x	–	–	–
Cylindrolaimus communis de Man, 1880	**Ba3**	–	–	x	–	–
Prismatolaimus intermedius (Bütschli, 1873)	**Ba3**	x	x	x	–	x
Alaimus parvus Thorne, 1939	**Ba4**	x	x	x	–	–
Paramphidellus sp.	**Ba4**	x	–	–	–	–
Aphelenchus avenae Bastian, 1865	**Fu2**	x	x	x	x	x
Aphelenchoides saprophilus Franklin, 1957	**Fu2**	x	x	x	x	x
Aphelenchoides sp_1	**Fu2**		x	x	x	x
Deladenus durus	**Fu2**	–	–	–	–	x
Ditylenchus myceliophagus Goodey, 1958	**Fu2**	x	x	x	–	x
D.mirus Siddiqi, 1963	**Fu2**	–	–	–	–	x
Ditylenchus sp_1	**Fu2**	–	x	x	x	x
Ditylenchus sp_2	**Fu2**	x	–	–	–	–
Diphterophora obesa Thorne, 1939	**Fu3**	–	x	–	–	–
Tylolaimophorus sp.	**Fu3**	–	x	–	–	–
Tylencholaimellus striatus Thorne, 1939	**Fu4**	–	x	–	–	x
Boleodorus thylactus Thorne, 1941	**Pl2**	x	x	x	–	–
Coslenchus costatus (de Man, 1921)	**Pl2**	x	–	x	–	–
Filenchus vulgaris (Brzeski, 1963)	**Pl2**	x	x	x	x	x
F.ditissimus (Brzeski, 1963)	**Pl2**	–	x	–	x	–
F.annulatus (Siddiqi & Khan, 1983) Siddiqi, 1986	**Pl2**	–	–	x	–	–
Irantylenchus clavidorus Kheiri, 1972	**Pl2**	–	–	x	–	x
Paratylenchus projectus Jenkins,1956	**Pl2**	–	x	–	–	–
P.nanus Cobb 1923	**Pl2**	–	–	–	x	–
Paratylenchus sp.	**Pl2**	x	x	–	x	–
Psilenchus sp.	**Pl2**		x	–	–	–

Таблица 9. Продължение

Видове	**Г**	**L**	**M_1**	**M_2**	**H**	**E**
Bitylenchus dubius (Bütschlii, 1873)	**Pl3**	–	–	x	–	x
Helicotylenchus dihystera (Cobb, 1893)	**Pl3**	x	x	x	x	x
Heterodera sp.	**Pl3**	–	x	–	–	–
Merlinius nanus (Allen, 1955)	**Pl3**	x	x	x	x	x
Mesocriconema xenoplax (Raski, 1952)	**Pl3**	–	–	–	–	x
M.curvatum (Raski, 1952)	**Pl3**	–	x	–	–	–
Pratylenchoides crenicauda Winslow, 1958	**Pl3**	x	–	–	–	x
Pratylenchus neglectus (Rensch, 1924)	**Pl3**	x	x	x	–	x
P. pratensis (de Man, 1880)	**Pl3**	–	–	–	x	–
Scutylenchus tartuensis (Krall, 1959)	**Pl3**	x	x	–	–	–
Tylenchorhynchus clarus Allen, 1955	**Pl3**	–	–	–	x	x
Zygotylenchus guevarai (Tobar Jiminez, 1963	**Pl3**	–	x	–	–	–
Longidorella sp.	**Pl4**	x	–	–	–	–
Pungentus engadinensis (Altherr, 1950	**Pl4**	x	x	–	x	x
Longidorus sp.	**Pl5**	–	x	–	–	–
Xiphinema pachtaicum (Tulaganov, 1938)	**Pl5**	–	x	x	–	–
Ecumenicus monohystera (de Man, 1880)	**Om4**	x	x	x	x	–
Eudorylaimus sp.	**Om4**	x	x	x	–	–
Mesodorylaimus bastiani (Bütschli, 1873)	**Om4**	x	–	x	x	x
Microdorylaimus miser (Thorne&Swanger, 1936)	**Om4**	x	x	x	–	x
Thonus circulifera (Loof, 1961)	**Om4**	x	x	x	x	x
Aporcelaimellus obtusicaudatus (Bastian, 1865)	**Om5**	x	x	x	x	x
Aporcelaimellus sp1	**Om5**	x	–	x	–	–
Seinura tenuicaudata (de Man, 1895)	**Ca2**	–	–	x	–	x
Anatonchus sp.	**Ca4**	–	–	–	–	x
Clarkus papillatus (Bastian,1865)	**Ca4**	x	x	x	–	x
Miconchus sp.	**Ca4**	–	x	–	–	x
Mylonchulus brachyuris (Bütschli,1873)	**Ca4**	x	x	x	–	x
Discolaimium filiforme Das, Khan & Loof,1969	**Ca5**	x	x	–	–	–
Discolaimus major Thorne, 1939	**Ca5**	x	x	–	–	–
Paraxonchium laetificans (Andrassy, 1956)	**Ca5**	x	x	–	–	–
Steinernema sp.	**IP**	_	x	x	–	–
Общ брой видове		47	54	43	30	36
r - стратези (своб.жив.) - общ бр. видове		20	20	20	17	16
K - стратези (своб.жив.) - общ бр. видове		**16**	**17**	**12**	**4**	**10**
Растително хранене - общ бр. видове		11	16	10	9	10
Паразити по насекоми - общ бр. видове		–	1	1	–	–

Числеността на хищниците от гилдията (Ca_5) е в отрицателна корелация със замърсяването (най-висока за Zn: r= -0.476, $p<0.01$, n=40), като тези нематоди са установени само в най-слабо замърсените L и M_1 площадки. Групата на хищните нематоди не е установена в H площадката, а в E са отчетени само при първото вземане, като количествено са представени основно от r-стратези (Ca_2).

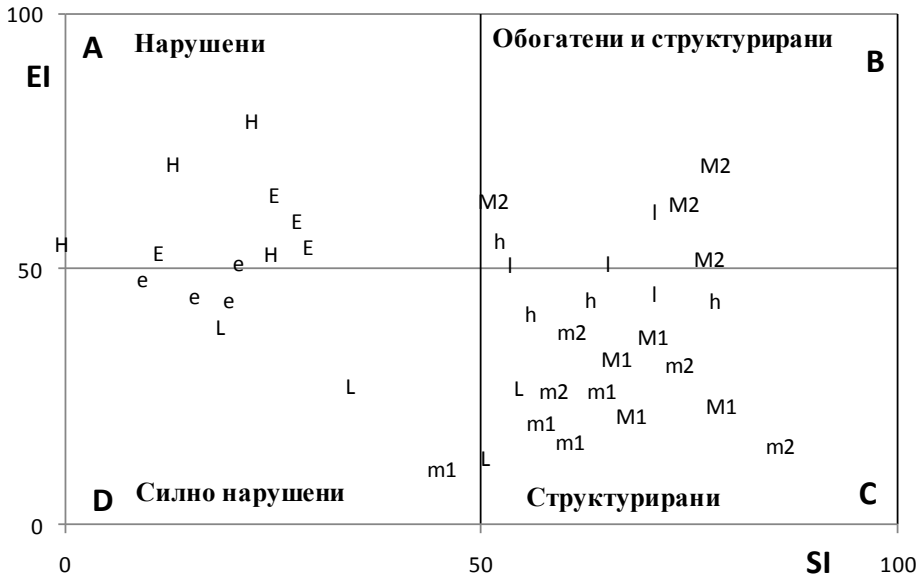
2.2.4.3.3. Растително-паразитни и асоциирани с растенията нематоди

Най-ниска численост на растително хранещите се нематоди е отчетена в Е площадката при двете вземания. Числеността на групата не показва корелация с концентрациите на тежките метали в почвата. Числеността на кореновите ендопаразити е най-висока в по-слабо замърсените площадки L (10%-26%) и M_1 (6% - 35%) и намалява с повишаване на почвената концентрация на металите - най-силна е зависимостта с концентрациите на Cd: r= -0.477, p<0.01, n=40.

2.2.4.3.4. Влияние на замърсяването върху почвените хранителни вериги.

Съотношението на фунгифагите и нематодите, които се хранят с бактерии (Fu/Fu+Ba) в най-замърсените площадки (M_2, H, E) и при двете отчитания е по-високо отколкото при по-слабо замърсените (L и M_1), като това съотношение е в положителна корелация с повишаване на замърсяването, най-висока за концентрацията на Cd: r= 0.739, p<0.001, n=40 (Таблица 12).

Структурният индекс намалява с повишаване на замърсяването и показва най-висока корелация с общата концентрация на металите в почвата (r= - 0.711, p< 0.001, n=40), а Индексът на обогатяването (EI) е в положителна корелация със замърсяването, най-висока за концентрацията на Zn (r= 0.481, p<0.01, n=40). Всички проби от H и E площадките от първото отчитане попадат на Фиг. 13 в квадрат A, пробите от H са в квадрат D, а от площадките с ниско и средно ниво на замърсяване (L, M_1, M_2) са в квадрати C и B. Необичайно е разположение на H от второто вземане в квадрат C, което се дължи на повишената численост на *M.bastiani* и на част от пробите от L от първото вземане в квадрат D (Фиг. 13).



Фиг.13 Профил на нематодната фауна: структурен индекс (SI) и индекс на обогатяването (EI) в пробите от площадките с ниско (L, l), средно (M_1, m_1, M_2, m_2), високо (H, h)и много високо (E,e) ниво на замърсяване. Главните букви на площадките са за вземането през 2012 г., а малките букви са за 2013 г.

Таблица 10. Таксономично разнообразие на родовете (H'), изравненост на родовете (E), концентрация на доминирането (C), индекси на зрялост (MI, MI_{2-5}), растителнопаразитен индекс (PPI), Индекс на потока (CI), Индекс на обогатяването (EI), Структурен индекс (SI), брой родове и видове К-стратези в площадките с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване през 2012г. и 2013г. Различните главни показват достоверните различия между вземанията на една и съща площадка, а различните малки букви - различията между площадките от едно и също вземане ($p<0.05$).

		Site L	Site M_1	Site M_2	Site H	Site E
H' (Shannon)	2012	2.48±0.12Aa	2.82±0.13b	2.63±0.13Aab	1.49±0.16Ac	2.53±0.05ab
	2013	2.83±0.04Bac	2.62±0.06c	2.29±0.08Bb	2.50±0.07Babc	2.31±0.07b
E (Pielou)	2012	0.82±0.03a	0.85±0.02a	0.83±0.02Aa	0.56±0.05Ab	0.85±0.02a
	2013	0.87±0.01a	0.82±0.01ab	0.75±0.01Bb	0.83±0.02Bab	0.83±0.01ab
C (Simpson)	2012	0.12±0.02a	0.09±0.01a	0.11±0.02a	0.41±0.07Ab	0.11±0.01a
	2013	0.08±0.003	0.12±0.01	0.17±0.02	0.12±0.01B	0.13±0.01
MI	2012	2.28±0.1a	2.71±0.09b	2.54± 0.15ab	1.81± 0.09Ac	1.96± 0.03c
	2013	2.46± 0.09ab	2.48± 0.06a	2.80± 0.22a	2.52± 0.17Ba	2.04± 0.02b
MI_{2-5}	2012	2.32±0.1Aa	2.76±0.08b	2.79± 0.14b	2.10± 0.04Aa	2.11± 0.04a
	2013	2.68± 0.09ba	2.52± 0.07a	2.82± 0.21a	2.65± 0.14Ba	2.11± 0.02b
PPI	2012	2.95± 0.02a	2.91± 0.13a	2.57± 0.11b	3.00±0.005a	2.81± 0.07b
	2013	2.84± 0.03a	2.93± 0.04a	2.65± 0.02b	2.91± 0.02a	2.61± 0.06b
CI	2012	61.5±10.5A	55.6±18.1	37.2±4.0A	30.4±7.9	45.6±0.4A
	2013	18.9±1.3Ba	40.9±11.8a	84.5±10.4Bb	40.5±8.4a	73.2±5.2Bb
EI	2012	27.1±6.2Aa	28.9±3.6a	62.3±4.3Ab	64.4±7.5Ab	57.3±3.0b
	2013	52.6±3.9Ba	18.9±3.7b	27.9±5.5Bb	45.8±3.9Ba	47.7±2.0a
SI	2012	41.1±9.2Aa	72.0±3.3b	70.9±7.7b	16.5±7.0Ac	24.6±4.4ac
	2013	66.2±4.7Ba	57.9±4.7a	70.7±7.4a	64.3±6.4Ba	18.4±2.7b
К-стратези родове(видове)	**2012**	**9 (9)**	**15 (15)**	**8 (9)**	**2 (2)**	**9 (9)**
	2013	**12 (13)**	**10 (10)**	**9 (9)**	**4 (4)**	**6 (6)**

Таблица 12. Численост (av±s.e., n=4) на трофичните групи нематоди, общ брой на родовете и видовете и съотношението на фунгифаги към бактериално хранещи се (Fu/Fu+Ba) в площадки с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване с тежки метали - 2012 г. and 2013 г. Различните главни букви показват достоверните различия между вземанията от една и съща площадка, а различните малки букви - различията между площадките от едно и също вземане ($P<0.05$).

Трофични гр.		L		M_1		M_2		H		E	
		численост	g(spp)	численост	g(spp)	численост	g(spp)	численост	g(spp)	численост	g(spp)
Бактериално хранене	2012	1049±188a	11(12)	554±117b	12(15)	328±21b	11(12)	689±158ab	8(8)	722±108Aab	7(8)
	2013	1267±117a	17(18)	724±123c	12(12)	264±20b	12(14)	488±115bc	12(12)	182±22Bb	7(7)
Ba- genera (spp)			**18(20)**		**15(18)**		**15(17)**		**13(13)**		**8(9)**
Фунгифаги	2012	327±138ac	3 (3)	150±38a	5(5)	284±29ac	3(5)	409±48Ac	3(4)	789±98Ab	3(4)
	2013	259±45ab	3(3)	63±15a	4(4)	133±46ab	3(3)	200±34Bab	3(3)	303±36Bb	5(8)
Fu -genera (spp)			**3(4)**		**6(8)**		**3(5)**		**3(4)**		**5(8)**
Растително хранене	2012	1007±107ac	6(6)	1174±143Ac	13(14)	705±112Aac	8(9)	2602±438Ab	6(6)	504±77a	9(11)
	2013	690±39a	9(9)	358±104Ba	9(9)	1380±335Bb	8(8)	357±76Ba	5(6)	277±52a	5(5)
Pl- genera (spp)			**11(11)**		**14(16)**		**9(10)**		**7(9)**		**10(11)**
Смесено хранене	2012	156±49A	6(6)	74±9	5(5)	187±37	6(7)	30±15A	2(2)	52±16	4(4)
	2013	445±50Ba	4(5)	144±38bc	4(4)	256±88c	6(6)	300±95Bc	4(4)	20±3b	4(4)
Om- genera (spp)			**6(7)**		**5(5)**		**6(7)**		**4(4)**		**4(4)**
Хищни	2012	39±12a	3(3)	202±33Ab	6(6)	105±43Ac	3(3)	– a	–	117±26Ac	5(5)
	2013	41±19	4(4)	38±8B	3(3)	4±5B	1(1)	–	–	– B	–
Ca- genera (spp)			**5(5)**		**6(6)**		**3(3)**	**–**	**–**	**–**	**5(5)**
Паразито по насекоми	2012	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	2013	–	–	4±3	1(1)	11±5	1(1)	–	–	–	–
IP - genera		–	**–**		**1(1)**		**1(1)**	–	–	–	**–**
Fu/Fu+Ba	**2012**	**0.23±0.07a**		**0.22±0.05Aa**		**0.46±0.04Ab**		**0.38±0.03b**		**0.52±0.05b**	
	2013	**0.17±0.02a**		**0.08±0.01Ba**		**0.32±0.07Bc**		**0.30±0.06c**		**0.62±0.02b**	

2.2.4.4. Ординационни анализи

Каноничен кореспондентен анализ (CCA) е направен на базата на данните за числеността на 61 рода в 40 проби, събрани от пет площадки с различно ниво на замърсяване и данните за концентрацията на Zn, Pb, Cu, Cd, pH и почвената влажност. Голяма част от нематодите имат положителна корелация с почвеното pH и отрицателна с концентрациите на тежките метали в почвата: *Acrobeles*, *Chiloplacus*, *Plectus*, *Aporcelaimellus*, *Microdorylaimus*, *Ecumenicus*, *Paraxonchium*, *Discolaimus*, *Geomonhystera*, *Pratylenchus*, *Scutylenchus*, *Boleodorus*, *Filenchus* и др. Има също и нематоди, които са положително повлияни от високите концентрации на тежки метали в почвата: *Acrobeloides*, *Aphelenchoides*, *Ditylenchus*, *Mesocriconema* and *Seinura* (Фиг. 15).

2.2.5. Нематоди, изолирани от корени на C. draba

Общият брой нематоди, изолирани от корените варира между 25 и 35 ind g^{-1} fw в различните площадки. Изолираните нематоди се отнасят към 27 рода, като по-голям брой родове (17-20) са установени в по-слабо замърсените площадки (L, M_1) отколкото в останалите площадки (12-14) - Таблица 15. Най-многочислените нематоди (32-69%), асоциирани с корените на *C. draba* в площадките със средно и високо ниво на замърсяване (M_1, M_2, H) са от род *Panagrolaimus*. Същите нематоди са по-слабо представени в най-слабо (L) и най-силно (E) замърсените площадки, като в L доминират нематодите от род *Eucephalobus* (24%), а в E най-многочислени са от род *Ditylenchus* (27%).

Нематодите, хранещи се с растения са изолирани в много малка численост, най-висока за L (3.3%) и по-малко от 1% в останалите площадки. Кореновите ендопаразити от род *Pratylenchus* са изолирани в много ниска численост (0.9%) само в най-слабо замърсената площадка (Таблица 15).

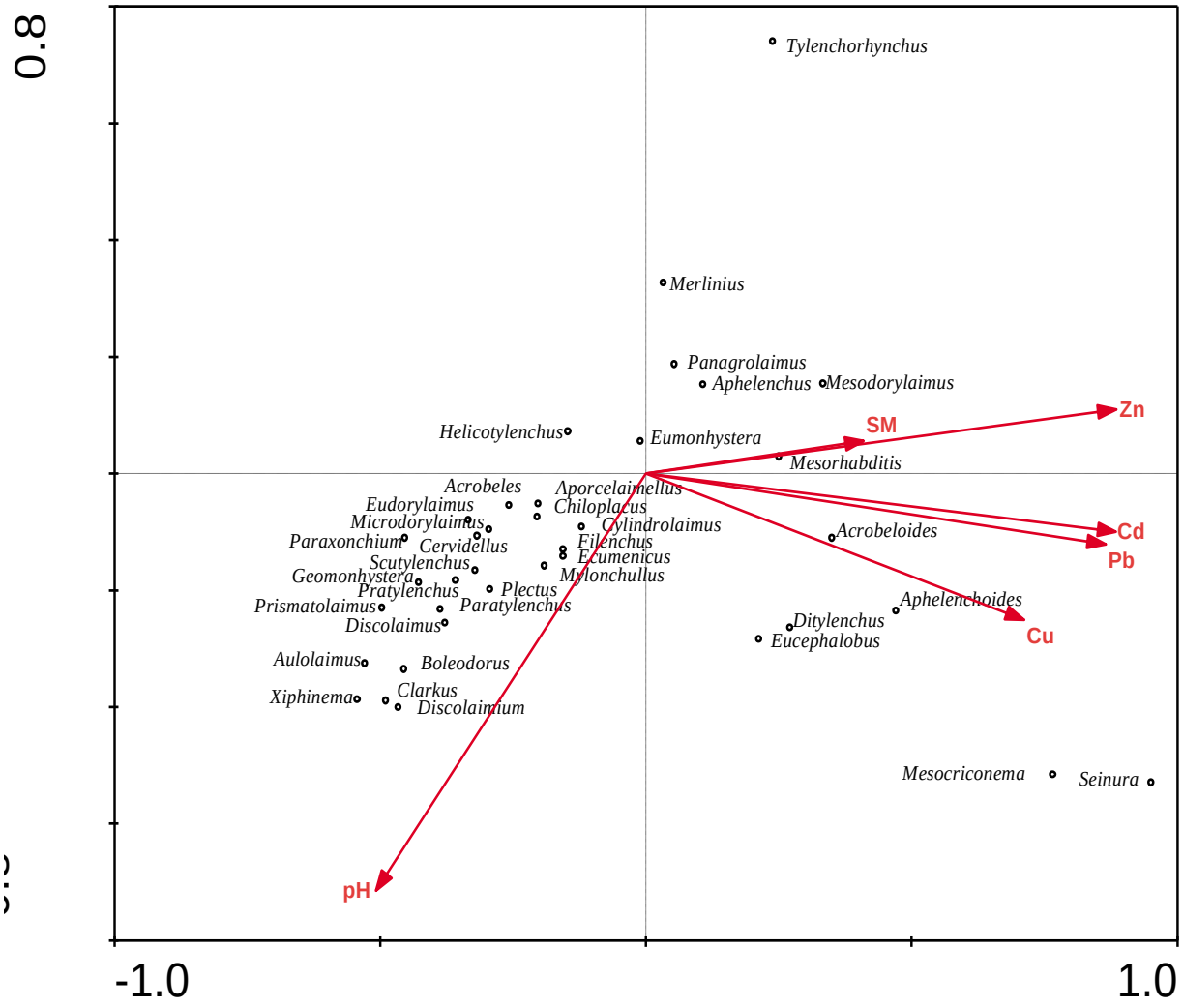
2.2.6. Коренови поражения от бръмбари - хоботници (Ceuthorhynchus sp.), Curculionidae, Coleoptera.

По корените на *C. draba* са наблюдавани гали, които са типични за бръмбарите-хоботници от род *Ceuthorhynchus*. Най-голям брой корени с гали по тях са установени за площадките със средно замърсяване, като в M_1 са 15%, а в M_2 са 41% и по-малък брой в L (6%) и в H (1%). Не са установени гали по корени на растенията, събрани от най-силно замърсената площадка (E) и при двете отчитания.

2.3. Обсъждане

2.3.1. Почвено замърсяване с тежки метали

Общата концентрация на Cd, Pb, Zn и Cu в почвата рязко намалява съответно 73, 70, 16 и 14 пъти от най-замърсената площадка до най-отдалечената на 5 км от комбината и най-слабо замърсена площадка. Сходни резултати за поведението на тежките метали в района на същия комбинат дават и други изследвания, като за Cu, зоната на превишена ПДК се счита, че се намира само в непосредствена близост до комбината, за Zn и Cd до 4 km и за Pb do 6 km от комбината (Velitchkova and Pentcheva, 2003; Boyanov et al., 2012).



Фиг.15 Ординационна диаграма (CCA) на данните за числеността на нематодите и концентрациите на Zn, Cd, Pb, Cu, почвено pH и влажност (SM) в изследваните площадки.

Таблица 15. Относителна численост (%) на родовете нематоди, техните трофични групи и гилдии (Г), общия брой (ind g^{-1}fw) изолирани от корени на *C. draba* от площадки с ниско (L), средно (M_1, M_2), високо (H) и много високо (E) ниво на замърсяване.

Родове	**Г**	**L**	**M_1**	**M_2**	**H**	**E**
Mesorhabditis	Ba_1			1.08	0.62	0.20
Panagrolaimus	Ba_1	10.37	31.79	41.62	69.06	13.50
Pristionchus	Ba_1	0.13	26.49		1.23	
Rhabditis	Ba_1				0.31	1.96
Acrobeles	Ba_2	5.44	0.88		1.44	
Acrobeloides	Ba_2	8.22	6.84	25.14	7.30	10.57
Cervidellus	Ba_2	0.76		0.27	1.13	
Chiloplacus	Ba_2	13.02	2.43	1.62	1.54	
Eucephalobus	Ba_2	24.02	10.82	1.62		21.92
Plectus	Ba_2	7.59	3.97	1.89	1.44	1.17
Tylocephalus	Ba_2	0.38				
Aphelenchus	Fu_2	5.18	6.84	8.11	11.20	2.35
Aphelenchoides	Fu_2	9.61	3.09	9.19	4.01	14.09
Deladenus	Fu_2		0.44			
Ditylenchus	Fu_2	6.19	1.77	8.38	0.31	26.81
Ecumenicus	Om_4	0.51				
Eudorylaimus	Om_4	0.76	0.22			
Mesodorylaimus	Om_4	3.29	1.77			
Thonus	Om_4	1.14		0.54		1.37
Aporcelaimellus	Om_5	0.13	0.22			
Seinura	Ca_2					5.09
Clarkus	Ca_4		0.22			
Filenchus	Pl_2	0.63	1.77			0.39
Merlinius	Pl_3	1.77	0.44		0.41	0.20
Bitylenchus	Pl_3			0.54		
Pratylenchus	Pl_3	0.88				
Pungentus	Pl_4					0.39
Брой родове		20	17	12	13	14
Общ брой		29	35	25	32	34

2.3.2. Хиперакумулационна способност на C. draba

Надземните части на *C. draba* съдържат концентрации на Pb и Cd над хиперакумулационното ниво в най-силно замърсената площадка (E) и над акумулационното ниво в площадката с високо ниво (H) на замърсяване. Акумулационното ниво за Pb е достигнато и в площадките със средно замърсяване. Chehregani et al. (2007) и Mohsenzadeh and Rad (2012) отчитат в *C. draba* Pb на акумулационно ниво, а Cheragi et al. (2011) съобщават хиперакумулационни концентрации на Pb в надземната част на растението.

Високата хиперакумулационна способност на *C. draba* за Cd и Pb в сравнение с Cu и Zn е в съответствие с резултатите на Anguelova et al. (2003) и Динев (2012) за биологичната достъпност на тези метали в почвите в района на комбината.

2.3.3. Нематоди, изолирани от почва и ризосфера на C. draba

2.3.3.1. Промени в таксономичното богатство и разнообразие

Намаленото таксономично богатство и разнообразие на нематодните комплекси в площадките с високо ниво на замърсяване (H, E) е показател за силна хронична токсичност на високите концентрации на тежките метали в тези площадки. Сходни резултати дават и Samaliev and Baicheva (1998) в тревни площадки от същия район. Висока чувствителност на К-стратезите към почвено замърсяване с Zn, Cu и комбинацията на Zn+Cu в концентрации около и под ПДК установяваме в моделния полски опит (Georgieva et al., 2002). Редица изследвания също съобщават намаляване на таксономичното богатство на нематодите и отрицателна зависимост на таксономичното разнообразие (H') и почвената концентрация на тежките метали (Zullini and Peretti, 1986; Yeates et al., 1994, 1995; Chen et al., 2009; Šalamún et al., 2012).

Най-силно намаляване на броя на видовете (36%), родовете (37%) и видовете на К-стратезите (75%) в нашия експеримент се отчита в площадката с висока степен на замърсяване (H), следвана от най-силно замърсената площадка (E), където намаляването е по-малко за видовете (23%), родовете (26%) и за К-стратезите (38%). Не просто намалява таксономичното богатство на нематодните съобщества, а се наблюдава селективно отстраняване на К-стратезите. Видовете, които са специфични за местообитанията, представителите на автохтонната, местната фауна са елиминирани и в нематодните съобщества доминират неспецифичните колонизатори и r- стратези. Подобни промени в качествата и типа на съобществата коментират Chapin et al. (1998, 2000).

Наблюдаваните различията между двете най-замърсени площадки свързваме с различията в растителната им покривка, която в площадката с високо замърсяване (H) е многогодишна и покрива цялата площадка. Благодарение на акумулационната способност на растението е възможно преразпределяне на тежките метали, по пътя на обогатяване и хомогенизиране на повърхностния почвен слой чрез отлагане на повърхността на растителни остатъци акумулирали тежки метали. Това може да променя и биологичната достъпност на тези метали в повърхностния почвен слой през различните етапи от вегетационния период. Такова предположение изказва и Peters (2004) за ролята на многогодишните растения - хиперакумулатори за преразпределянето на тежките метали в почвата. Хиперакумулационната способност на *C. draba*, която в най-замърсената площадка (E) образува отделни монокултурни островчета в отсъствие на друга растителност, по-скоро допринася за хетерогенното разпределение на тежките метали в тази площадка. Вероятно на това се дължи и по-слабото намаляване на таксономичното богатство в сравнение с другата силно замърсена площадка.

Площадките със средно ниво на замърсяване са разнопосочно повлияни от замърсяването: слабо намаляване (8.5% за видовете и 14% за родовете) в площадката M_2 и слабо повишаване (15% за видовете и 9% за родовете) в M_1 площадката в сравнение с най-слабо замърсената площадка. Като се има пред вид, че концентрациите на Pb, Cd и Cu в M_1 площадката са по-високи от тези в M_2, то тези различия вероятно се дължат на голямата разлика в концентрацията на Zn в двете площадки - M_2 (542 mg kg^{-1}) и M_1 (14 mg kg^{-1}).

В проведения от нас моделен полски опит сходни и по-ниски концентрации на Zn (160 - 597 mg kg^{-1}) имат по-силен токсичен ефект върху нематодните съобщества и водят до по-силно намаляване на богатството на родовете (34% -51%), което е показател за по-ниската биологична достъпност на Zn в площадката със средно ниво на замърсяване (M_2) от района на КЦМ АД, гр. Пловдив в сравнение с вариантите Zn_{1-4} в условията на моделния полски опит.

2.3.3.2. Индекси на зрялост на групата на свободно живеещите нематоди и съотношение на r- и K-стратезите в групата.

Общите опортюнисти (r-стратези), доминират сред свободноживеещите нематоди във всички площадки, като се счита, че тези нематоди проявяват най-висока толерантност към тежките метали (Ekschmitt and Korthals, 2006).

Ниската численост на К-стратезите (ср 3-5) в най-замърсената площадка (Е) е показател за токсичното действие на тежките метали върху групата. Намалено е и таксономичното богатство на К-стратезите от 9 -13 вида в най-слабо замърсената площадка до 6 - 9 вида в силно замърсената. Най-ниско е видовото богатство на К-стратезите в площадката с високо ниво на замърсяване (2 и 4 вида) и при двете отчитания, като числеността им варира значително - 2.5% при първото и 29% при второто отчитане, което се дължи на повишена численост на *M. bastiani*.

Висока чувствителност на К-стратезите към почвено замърсяване с Zn, Cu и комбинацията на Zn+Cu в концентрации около и под ПДК установяваме в моделния полски опит (Georgieva et al., 2002). Popovici and Kortals (1995), Bert et al., 2009 и Chen et al., 2009 дават също данни за намаляване на числеността на К-стратезите под влияние на високи концентрации на тежки метали. Няма данни за толерантност на К-стратезите към почвеното замърсяване с тежки метали.

Индексите на зрялост намаляват с повишаване на почвената концентрация на тежките метали и ниските им стойности (MI: 1.96 -2.04; MI_{2-5}: 2.11) в най-замърсените площадки са показател за висока токсичност на тежките метали върху групата на свободноживеещите нематоди. Сходни стойности на MI дават и Popovici, 1994 (1.96 - 2.02) за силно замърсени горски екосистеми на разстояние 0.5 km от металургичен комбинат и Popovici and Korthals, 1995 (1.86 - 2.07) в замърсени тревни площадки в близост до цинков завод. Индексите MI and MI_{2-5} варират в значителна степен в силно замърсената Н площадка при отделните отчитания, в резултат от вариациите в числеността на *M. bastiani.*

Високите стойности на индексите на зрялост в площадките със средно ниво на замърсяване (M_1, M_2) показват ниска токсичност на Pb (300 - 600 mg kg^{-1}) и Cd (8 - 12 mg kg^{-1}) за свободно живеещите нематоди в тези площадки. Anguelova et al., 2003 дава ниска мобилна фракция за Pb (30-55%) и висока за Cd (70-92%) в площадки близо до същия комбинат. Bakonyi et al., 2003 и Nagy et al., 2004 дават данни за умерен ефект на Cd върху нематодните комплекси, а Korthals et al., 1996_a не установява акутна токсичност на Cd за нематодите до 160 mg kg^{-1}. Zullini and Peretty, 1986 дават критична концентрация от 300 mg kg^{-1} за Pb над която се отчита намаляване на видовото богатство, разнообразие и отрицателно въздействие върху К-стратезите в нематодните съобщества в мъх. Нашите

резултати подкрепят относително ниската достъпност на Pb и умерената токсичност на Cd за нематодите.

Концентрацията на Zn в площадката M_2 (541 mg kg^{-1}) е сходна с най-високите концентрации на Zn в площадките, третирани с Zn_{1-4} в проведения моделен полски опит (161 mg kg^{-1} - 597 mg kg^{-1}). Значително по-високите стойности на индексите на зрялост (MI = 2.54 - 2.80; MI_{2-5} = 2.79 - 2.82) в M_2 площадката в сравнение със стойностите на индексите във вариантите Zn_{1-4} (MI = 1.70 - 1.84; MI_{2-5} = 2.0 - 2.1) от моделния полски опит са еднозначна индикация за големите различия в биологичната достъпност на едни и същи общи количества тежки метали в почвата при различните условия на двата експеримента.

2.3.3.3. Трофична структура на нематодните съобщества

2.3.3.3.1. Нематоди, хранещи се с бактерии и хифи на гъби

Значително намаляване на числеността на нематодите с бактериално хранене се отчита в силно замърсените площадки при по-ниска почвена влажност. Такова намаляване не се установява в по-слабо замърсените площадки, където групата има по-голямото видово разнообразие (18-20 вида). Обеднялата на видове група на хранещите се с бактерии (9 вида) в най-силно замърсената площадка рязко намалява по численост при по-ниска почвена влажност.

Нематодите, които се хранят с хифи на гъби, доминират в нематодните съобщества в най-силно замърсената площадка при двете отчитания и имат по-голям брой видове (8) в сравнение с останалите площадки (L- 4 вида). Тези нематоди се съобщават често сред най-толерантите към тежки метали, както в нашия моделен полски опит (Georgieva et al., 2002), така и в други изследвания (Nagy et al., 2004; Li et al., 2006).

2.3.3.3.2. Нематоди със смесено хранене и хищни

Нематодите със смесено хранене са отрицателно повлияни в повечето от замърсените площадки, а хищните са елиминирането в H при двете вземания и в E при второто, като при първото отчитане са представени предимно от хищни r-стратези (*Seinura*). Двете трофични групи се съобщават в редица изследвания като най-чувствителните към тежки метали трофични групи (Popovici, 1994; Korthals et al., 1996_a; Georgieva et al., 2002; Nagy et al., 2004; Zhang et al., 2007; Pen-Mouratov et al., 2008).

M. bastiani (Om_4) е намерен в относително висока численост в силно замърсената H площадка при второто отчитане. Нематодите са изолирани както от почва и ризосферата на *C. draba*, така и от корените на растенията, което може да подпомага оцеляването им в тази площадка. Не е изключено тези нематоди да могат да реколонизират замърсените площадки в периоди на ниска биологична достъпност на тежките метали или да проявяват толерантност към замърсителите.

Нематодите от вида *Aporcelaimellus obtusicaudatus* (Om_5) също се разглеждат и като хищни и като смесенохранещи се и независимо, че се срещат в по-ниска численост в силно замърсените площадки, те са намерени във всички площадки и при всички вземания. Неравномерното разпределение на замърсителите в почвата вероятно подпомага преживяването им в силно замърсени почви, но е възможно и тези нематоди да проявяват известна толерантост към тежките метали. Нематодите от същия вид установихме с относително висока численост в силно замърсени почви в близост до комбината "Кремиковци" (Georgieva et al., 2006).

2.3.3.3.3. Нематоди, хранещи се с растения

Хранещите се с растения нематоди доминират в повечето от площадките на това изследване и често над 50% от нематодите се отнасят към тази група. Редица изследвания

също подчертават доминирането на растително хранещите се нематоди в почви, замърсени с тежки метали (Li et al., 2006; Pen-Mouratov et al., 2008; Tomar et al., 2009).

Миграторните коренови ендопаразити (*Pratylenchus*) са отрицателно повлияни от високите концентрации на тежки метали в почвата, но е възможно да са пряко повлияни и от натрупаните тежки метали в растението (елементна защита), а така също и от потенциално токсичните вторични метаболити (химична защита), както ги определят Rascio and Navari-Izzo (2011).

2.3.3.3.4. Влияние на замърсяването върху почвените хранителни вериги

Съотношението на фунгифаги към бактериалнохранещи се нематоди (Fu/Fu+Ba) се повишава с повишаване на почвената концентрация на тежките метали, което се използва като индикация за намаляване относителния дял на бактериите и повишаване на делът на гъбите в процесите на разграждане на веществата в почвата. Korthals et al. (1996_a) и Bongers and Bongers (1998) разглеждат подобни промени на Fu/Fu+Ba като симптом на почвено замърсяване с тежки метали.

Намаляване на структурният индекс (SI) с повишаване на концентрацията на тежките метали в почвата, наблюдавано при нашето изследване, се съобщава и от Nagy at al. (2004) и Zhang et al. (2007). Високата стойност на SI (64%) в Н при второто вземане се дължи на повишена численост на *M. bastiani*, а видовото богатство на К-стратезите в площадката е ниско (4 вида, 4 рода). Не могат да се оценят условията в тази площадка като ненарушени, а хранителните вериги добре структурирани само на базата на повишената численост на един вид от К-стратезите.

И двата индекса (SI и EI) използвани при анализите на профила на нематодната фауна заедно с таксономично богатство на К-стратезите показват ненарушени условия в площадките със средно ниво на замърсяване, в които концентрациите на Pb и Cd надвишават 3 до 5 пъти ПДК за тези метали, което вероятно се дължи на ниска токсичност и/или на ниската биологична достъпност на тези метали.

2.3.4. Нематоди и насекоми, асоциирани с корените на C. draba

2.3.4.1. Растително хранещи се нематоди и насекоми, асоциирани с корени на C. draba

Отсъствието на гали на бръмбари хоботници от род *Ceutorhynchus* по корените на растенията в най-силно замърсената площадка и много слабата им представеност в площадката с високо ниво на замърсяване, може да е свързано с високите концентрации на акумулираните тежки метали в растенията. Според Martens and Boyd (1994) хиперакумулирането на тежки метали в растенията им служи за самоотбрана срещу растителноядни врагове и патогени. Редица изследвания подкрепят тази хипотеза (Behmer et al., 2005; Coleman et al., 2005; Jiang et al., 2005). Ниската численост на нематодите в корените на *C. draba,* особено в по-силно замърсените площадки, може също да е резултат от тази елементна (неорганична) защита на растенията.

2.3.4.2. Микробиално хранещи се нематоди, асоциирани с корени на C. draba

Болшинството от микробиално хранещите се нематоди, изолирани от корените на *C. draba* вероятно са асоциирани с кореновите гали на хоботниците и високата численост на *Panagrolaimus* е индикатор за висока бактериална активност в галите или в нарушени части от повърхността на корените. Повишената численост на фунгифагите (предимно от род *Ditylenchus*) с увеличаване на концентрацията на тежките метали, както в корените, така и в почвата вероятно е свързана с развитието на гъби, толерантни към тежките метали.

2.4. Обобщение

2.4.1. Намаляването на таксономично богатство на нематодните съобщества и на К-стратезите и силното намаляване или елиминирането на хищните К-стратези в зоната до 1km от завода са индикатори за високата токсичност на тежките метали в площадките (Е, Н) от тази зона.

2.4.2. Индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) и Структурния индекс на групата на свободно живеещите нематоди имат ниски стойности, а смесено хранещите се нематоди намаляват в площадка с екстремно високо замърсяване (Е) и са показатели за високата токсичност на тежките метали в нея.

2.4.3. Разнопосочните промени в индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}), Структурния индекс, числеността на К-стратезите и на смесено хранещите се нематоди в площадката с високо ниво на замърсяване (Н) са индикатори за силното вариране на биологичната достъпност на тежките метали в тази площадка през вегетационния период на *C. draba* и/или предполагат наличието на толерантни К-стратези в тази площадка.

2.4.4. Установяването на *Mesodorylaimus bastiani* (Om_4) във висока численост в една от силно замърсените площадки и на *Aporcelaimellus obtusicaudatus* (Om_5) във всички площадки и периоди на отчитане показва относителна толерантност на тези нематоди към изследваните концентрации на тежките метали.

2.4.5. По-високите стойности на съотношението на фунгифаги към бактериално хранещи се в силно замърсените площадки в сравнение с най-слабо замърсената са индикатори за по-голям пропорционален дял на гъбите в процесите на разграждане на веществата в замърсените почви.

2.4.6. Незначителните промени в таксономичното богатство на нематодните съобщества и на К-стратезите, относително високите стойности на индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) и Структурния индекс в площадките със средно ниво на замърсяване показват ниска токсичност и/или ниска биологична достъпност на Pb и Cd в концентрациите, които надвишават 3-5 пъти техните ПДК.

2.4.7. Установена е хиперакумулаторна и акумулаторна способност на *C. draba* по отношение на Pb и Cd, съответно в площадките с много високо и високо ниво на замърсяване.

3. Оценка на хроничното действие на тежките метали и As върху почвените нематодни съобщества в площадки с различна степен на замърсяване, разположени в околностите на МК"Кремиковци"

3.1. Материал и методи

3.1.1. Характеристика на изследвания район

Металургичният комбинат "Кремиковци" е разположен в Софийската котловина. Климатът в района е умерено-континентален, със студена зима, горещо лято и чести температурни инверсии.

МК "Кремиковци" започва да функционира от 1963г като производител на кокс и чугун, 1964г започва производство на агломерат, 1969г - електростомана, конверторна стомана, феромангган, горещо валцувана ламарина и др. През $70^{-те}$ години започват работа и цеховете за горещо поцинковане. Комбинатът се разраства значително и се простира на площ от 24 km^2, като включва над 15 различни металообработващи предприятия на територията си. Комбинатът спира работата си през 2008 г.

3.1.2.Описание на експерименталните площадки

Избрани са две площадки с ниско и високо ниво на замърсяване с тежки метали, разположени на землището на с. Горни Богров, на разстояние 4 km южно от МК

“Кремиковци” АД. Двете площадки са части от необработваеми тревни екосистеми, разположени на алувиално-делувиална почва. Площадката, замърсена с високи концентрации на тежки метали и As се намира в непосредствена близост до улеен хвостопровод, отвеждащ отпадните продукти до хвостохранилище. По-слабо замърсената площадка е на 600 m от силно замърсената и е отделена от нея с малък пояс от дървета (Фиг. 16).

3.1.3. Вземане и обработка на почвените проби.

От всяка експериментална площадка са взети по три сборни проби, всяка от които се състои от по 5 подпроби. Пробите са взети на дълбочина 15 см през пролетта и есента на 2004 г. – съответно на 23 април и 22 октомври. Почвената влажност е определена след загряване на около 10 g почва, при температура 105°C за 4 часа в три повторения за всяка проба. Концентрациите на тежките метали и As в почвите са определени от колектива на SCOPES IP062642, предоставени от Schulin et al. (2004).

Фиг. 16 Разположение на експерименталните площадки с различно ниво на замърсяване: ниско (K+As) и високо (TM+As) в района на МК"Кремиковци.

3.1.4. Изолиране и обработка на нематодите

Почвените проби са пресяти през сито с диаметър на отворите 2 mm. Нематодите са изолирани от 100 g почва (свежо тегло) по метода на Берман и 48 h експозиция. Изолираните наматоди са умъртвени с термична обработка (3 мин. при 60˚C) и са

фиксирани в 4% формалин. Всички изолирани нематоди са монтирани в полутрайни микроскопски препарати. Половозрелите наматоди са определени до вид, а ларвите до род.

3.1.5. Анализ на нематодните резултати

Таксономичното богатство (S) е представено като брой видове и родове. Таксономичното разнообразие (H') е изчислено на ниво род по формулата на Shannon-Wiener: $H' = -\sum p_i \ln p_i$, където p_i е относителната численост на $i^{тия}$ род. Изравнеността на родовете е изчислена по формулата на Pielou (E): $E= H'/\ln(S)$, където H' е таксономичното разнообразие, а S е броя на родовете. Концентрацията на доминиране на Simpson (C) е изчислена по формулата: $C=\sum p_i^2$, където p_i е относителната численост на $i^{тия}$ род.

За определяне на доминантната структура са използвани следните класове на доминантност по Heydemann (1955): Еудоминанти - относителна численост >30%; Доминанти - 10%<отн.числ.<30%; Субдоминанти - 5%<отн.числ.<10%; Рецеденти - 1%< отн.числ. < 5% и Субрецеденти - отн.числ. <1%.

За определяне на трофичната структура на нематодните съобщества е използвана класификация на Yeates et al. (1993). Свободно-живеещите нематоди са разделени на пет екологични групи (colonizer-persister; c-p) и Индексът на зрялост (MI) е изчислен по формулата: $MI = \sum v_i f_i$, където v_i е c-p стойността на $i^{тия}$ род, а f_i е относителната му численост , а индекса MI_{2-5} е изчислен по същата формула, като cp1 групата не е включена в изчисленията (Bongers, 1990; Bongers and Korthals, 1995; Bongers et al., 1995).

Функционалните групи (гилдии) нематоди са определени по Bongers and Bongers (1998). Channel index (CI) е изчислени по формулата: $CI=100x(0.8Fu_2/3.2Ba_1+0.8Fu_2)$, Индексът на обогатяването (EI) по формулата: EI=100x(e/e+b), където $b=\sum k_b n_b$ (k_b е индикаторното тегло на Ba_2 и Fu_2, а n_b е числеността им, и Структурния индекс по формулата: SI=100x(s/s+b), където $s=\sum k_s n_s$ (k_s е индикаторното тегло на Ca_{2-5}, Om_{3-5}, Fu_{3-5}; Ba_{3-5}), а n_s е числеността им (Ferris et al., 2001). Всички данни са обработени статистически с двуфакторен анализ ANOVA (варианти и сезон), а при сравненията е използван теста Holm-Sidak.

3.2. Резултати

3.2.1. Концентрации на тежките метали в почвата

Контролната площадка съдържа металите Cu, Zn, Pb и Cd в концентрации под техните ПДК в почвата, а концентрацията на As е 3.6 пъти над ПДК - (K+As). Силно замърсената площадка съдържа Cu и Cd в концентрации под ПДК, а останалите метали са в концентрации които надвишават ПДК: за Pb – 9.5 пъти, за As – 5.6 пъти и за Zn – 2 пъти (Таблица 17).

3.2.2.Таксономично богатство и разнообразие на нематодните съобщества

По време на изследването бяха установени общо 58 вида нематоди, принадлежащи към 47 рода, от които 51 вида (45 рода) в контролата и 31 вида (30 рода) - в замърсената площадка (Таблици 18 и 19). От установените таксони 27 вида и 17 рода са намерени само в контролата, а два рода (*Tylocephalus* и *Gracilacus*) и 7 вида само в замърсената площадка.

Разнообразието на родовете (H') и тяхната изравненост (E) имат по-високи стойности в контролата и при двете вземания (Таблица 20).

Таблица 17. Почвени концентрации на тежките метали: Cu, Zn, Pb, Cd и As (mg kg^{-1}) и пределно допустими концентрации (ПДК) в площадките с различно ниво на замърсяване: ниско (К+As) и високо (ТМ+As).

Sites	pH	Cu		Zn		Pb		Cd		As	
		mg kg^{-1}	ПДК	mg kg^{-1}	ПДК	mg kg^{-1}	ПДК	mg kg^{-1}	ПДК	mg kg^{-1}	ПДК
К+As	7.00	44.3	150	177	320	122	100	0.67	2.0	90.5	25
ТМ+As	7.87	73.7	300	833	400	1140	120	3	3.0	140	25

3.2.3. Индекси на зрялост на групата на свободно-живеещите нематоди и съотношение на r- и К- стратезите .

Общите опортюнисти (ср2) доминират сред свободно-живеещите нематоди и в двете площадки, като в контролата делът им е 42 - 44%, а в площадка с тежки метали той достига 69 - 90% (Фиг.18). К-стратезите от индикаторната гупа с-р3 не са установени в замърсената площадка, а делът им в контролата е 7 - 9%. К-стратезите от ср4 групата са много добре представени в контролата (22-28%), а в замърсената площадка числеността им варира в голяма степен: през пролетта се отчита необичайно висок дял (22%), който се дължи на високата численост на *Microdorylaimus miser*, а през есента делът им е много нисък (1%). К-стратезите от ср5 групата имат по-висок дял в контролата (7-16%) в сравнение със замърсената площадка (4-5%).

В качествено отношение групата на К-стратезите е силно обедняла както на родове, така и на видове и докато в контролата е представена от 15рода (16 вида) и 16 рода (16 вида) при двете отчитания, в замърсената площадка са само 3рода (5 вида) и 5рода (2 вида), съответно през пролетта и есента - Таблица 20.

Индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) на групата на свободноживеещите нематоди в замърсената площадка имат достоверно по-ниски стойности в сравнение с контролата и при двете отчитания. Най-ниски са стойностите на индексите и в двете площадки през есента, като в замърсената те са: 2.15 (MI) и 2.19 (MI_{2-5}), а в контролата - 2.69(MI) и 2.96(MI_{2-5}) - Фиг. 19. Повишената численност на *M. miser* води до повишаване на индексите на зрялост в замърсената площадка през пролетта.

3.2.3. Трофична структура на нематодните съобщества

3.2.3.1. Нематоди, хранещи се с бактерии и техните гилдии

Различия в числеността на нематодите, хранещи се с бактерии в двете площадки се установява само през пролетта, когато в замърсената площадка числеността им превишава 2 пъти тази в контролата. Числеността на "dauer" ларвите и при двете отчитания е по-ниска в замърсената площадка в сравнение с контролата. В качествено отношение групата е отрицателно повлияна, по-силно през есента, когато в контролата са установени 16 рода (14 вида), а в замърсента площадка са 8 рода (7 вида) - Таблица 22.

3.2.3.2. Фунгифаги и техните гилдии

Фунгифагите в замърсената площадка имат значително по-висока численост (3-4.6 пъти) отколкото в контролата и при двете отчитания, като и в тази група положително е повлияна само гилдията на общите опортюнисти (Fu_2), а всички, хранещи се с хифи на гъби К-стратези (Fu_3, Fu_4) са елиминирани в замърсента площадка (Таблица 22).

Таблица 18. Относителна численост (%, av±s.e., n=3) на родовете нематоди и техните гилдии (Г), общ брой родове в контролата и замърсената площадка през пролетта и есента. Различните главни букви показват достоверните различия между сезоните на една и съща площадка, а малките - между площадките от един и същи сезон, P<0.05

Родове	**Г**	**Контрола+As**		**Тежки метали +As**	
		пролет	есен	пролет	есен
Mesorhabditis	**Ba1**	1.24±0.31	1.50±1.09	2.12±1.09	0.67±0.34
Panagrolaimus	**Ba1**	0.28±0.15	0.18±0.09	1.16±0.49	0.33±0.13
Pristionchus	**Ba1**	-	0.26±0.26	-	-
Rhabditidae +DL	**Ba1**	7.35±0.68	9.81±6.51	1.05±0.25	1.81±0.81
Acrobeles	**Ba2**	0.08±0.08	0.37±0.18	2.98±1.38	0.13±0.07
Acrobeloides	**Ba2**	0.89±0.21a	0.66±0.39a	6.44±1.11b	2.55±1.34b
Anaplectus	**Ba2**	0.04±0.04	0.09±0.09	0.16±0.12	-
Ceratoplectus	**Ba2**	0.23±0.23	0.18±0.09	-	-
Cervidellus	**Ba2**	0.17±0.10	-	0.41±0.22	-
Chiloplacus	**Ba2**	2.78±1.71a	5.05±1.76a	11.87±1,20b	14.76±7.64b
Eucephalobus	**Ba2**	6.14±1.02a	5.97±1.56a	0.68±0.68b	0.07±.07b
Eumonhystera	**Ba2**	0.55±0.28	0.47±0.25	1.29±0.56	-
Plectus	**Ba2**	3.30±0.34Aa	0.83±0.18B	1.53±0.27Ab	0.54±0.27B
Tylocephalus	**Ba2**	-	-	3.30±1.12	1.05±0.87
Aulolaimus	**Ba3**	0,34±0.20	0.09±0.09	-	-
Cylindrolaimus	**Ba3**	0.68±0.39	0.29±0.29	-	-
Prismatolaimus	**Ba3**	0.94±0.72	0.39±0.39	-	-
Alaimus	**Ba4**	2.16±0.74a	0.84±0.50a	-	-
Paramphidelus	**Ba4**	0.11±0.11	0.18±0.09	0.03±0.03	-
Aphelenchoides	**Fu2**	1.16±0.58Aa	0.28±0.01Ba	5.92±1.65Ab	1.98±0.55Bb
Aphelenchus	**Fu2**	5.58±0.33a	4.00±1.10a	11.92±0.83b	19.76±3.93b
Ditylenchus	**Fu2**	0.47±0.36a	0.77±0.63a	4.84±0.61b	6.82±2.29b
Diphterophora	**Fu3**	1.57±0.55	1,32±0.66	-	-
Doryllium	**Fu4**	1.90±±1.49	0.09±0.09	-	-
Eudorylaimus	**Om4**	0.22±0.22	1.40±0.45	0.03±0.03	-
Microdorylaimus	**Om4**	0.34±0.20a	1.32±0.80	15.23±3.14Ab	0.77±0.66B
Thonus	**Om4**	3.28±1.09a	3.85±1.00a	1.82±1.08b	0.14±0.14b
Aporcelaimellus	**Om5**	0.97±0.38	1.82±0.13	3.06±1.86	2.34±1.43
Tripyla	**Ca3**	1.00±0.57	0.69±0.69	-	-
Anatonchus	**Ca4**	1.13±0.56	1.26±0.50	-	-
Clarkus	**Ca4**	2.20±±0.47A	0.81±0.29B	-	-
Mylonchulus	**Ca4**	0.31±0.17	0.91±0.57	-	-
Prionchulus	**Ca4**	-	0.09±0.09	-	-

Таблица 18. Продължение

Родове	**Г**	**Контрола+As**		**Тежки метали + As**	
		пролет	есен	пролет	есен
Boleodorus	**Pl2**	0.11±0.11	0.26±0.26	-	-
Coslenchus	**Pl2**	2.43±0.57	0.18±0.09	4.79±2.43	1.13±0.94
Filenchus	**Pl2**	14.64±0.31Aa	7.01±3.33Ba	0.10±0.1b	- b
Gracilacus	**Pl2**	-	-	-	0.20±0.20
Malenchus	**Pl2**	0.08±0.08	-	0.13±0.08	-
Paratylenchus	**Pl2**	0.15±0.10a	-	4.04±1.66b	0.48±0.25b
Tylenchus	**Pl2**	0.33±0.33	0.28±0.01	0.10±0.10	-
Helicotylenchus	**Pl3**	20.09±3.05a	33.22±15.61a	1.96±1.96b	0.59±0.33b
Mesocriconema	**Pl3**	2.12±1.23	0.28±0.16	-	-
Merlinius	**Pl3**	1.86±0.46	4.65±2.52	5.44±0.99	9.07±3.08
Pratylenchus	**Pl3**	2,02±1.29Aa	6.99±2.84Ba	7.53±0.72Ab	33.34±11.15Bb
Zygotylenchus	**Pl3**	0.98±0.45	0.56±0.17	-	1.46±1.35
Axonchium	**Pl5**	0.23±0.11	-	-	-
Longidorus	**Pl5**	0.44±0.44	-	-	-
Oxydirus	**Pl5**	7.12±4.02	0.64±0.07	0.06±0.06	-
Общ бр.р./сезон		43	40	28	21
Общ бр.р./площадка		45		30	

3.2.3.3. Нематоди с растително хранене

Нематодите, които се хранят с растения имат по-висока численост в контролата през пролетта в сравнение със замърсената площадка, но различията не са значителни. Повишена е само числеността на гилдията на Pl_2 , Pl_3 не са променени, а растително-хранещите се К-стратези (Pl_5) са силно редуцирани или не са установени в замърсената площадка. По-високо е таксономичното богатство на тази група в контролата (10-13 рода; 9-11 вида) в сравнение със замърсената площадка (7-9 рода; 6 вида) - Таблица 22.

3.2.3.4. Нематоди със смесено хранене и хищни

Числеността на смесено хранещите се нематоди през пролетта в замърсената площадка е значително по-висока (6.5 пъти) отколкото в контролата, като това се дължи на повишената численост на нематодите от вида *M. miser* (Om_4) и по-слабо повишена численост на *Aporcelaimellus obrusicaudatus* (Om_5) в сравнение с контролата. Относителният дял на нематодите със смесено хранене през пролетта е около 20%, като само относителния дял на *M. miser* е 15%. И двата вида се отнася към К- стратезите. При есенното отчитане числеността на гилдията (Om_4) намалява (4.7 пъти), а тази на (Om_5) се повишава (1.8 пъти) в замърсената площадка в сравнение с контролата.

Като цяло, числеността на хищните нематоди в контролата не е висока и са представени с 4-5 рода (3-4 вида), като в замърсената площадка тези нематоди не са установени по време на изследването (Таблица 22).

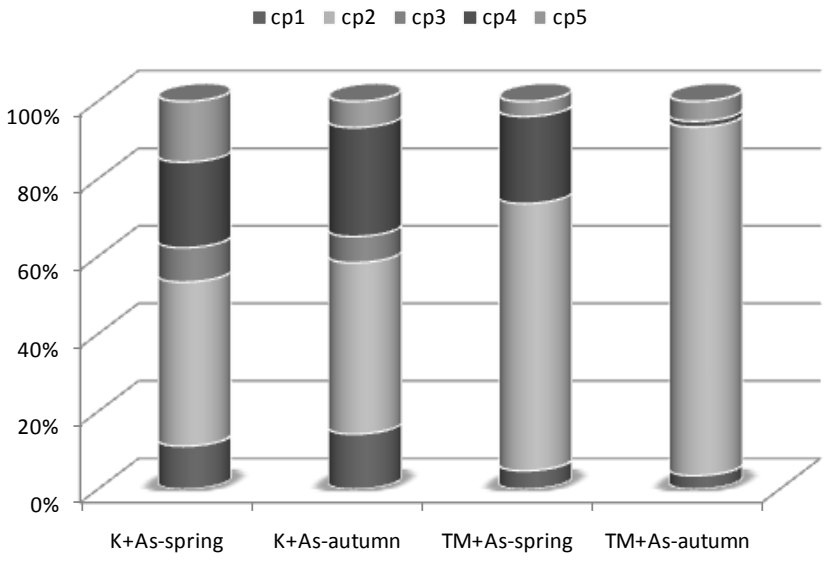
3.2.3.5.Трофичните групи и гилдии като индикатори на условията в детритните трофични вериги

Таблица 19. Списък на установените видове нематоди и общ брой в контролата (К+As) и замърсената с тежки метали площадка (ТМ+As) и гилдиите (Г) към които се отнасят.

ВИДОВЕ	**Г**	**К+As**		**ТМ+As**	
		пролет	есен	пролет	есен
Mesorhabditis spiculigera (Steiner, 1936)	**Ba1**	+	+	+	+
Panagrolaimus subelongatus (Cobb, 1914)	**Ba1**	-	+	+	+
Pristionchus lheritieri (Maupas, 1919)	**Ba1**	-	+	-	-
Acrobeles ciliatus Linstow, 1877	**Ba2**	+	+	+	-
Acrobeloides nanus (de Man, 1880)	**Ba2**	+	+	+	+
Anaplectus granulosus (Bastian, 1865)	**Ba2**	-	+	+	-
Ceratoplectus armatus (Butschli, 1873)	**Ba2**	+	-	-	-
Cervidellus serratus (Thorne, 1937)	**Ba2**	+	-	+	-
*Chiloplacus symmetricus (*Thorne, 1925)	**Ba2**	+	+	+	+
Eucephalobus mucronatus (Kozlowska &Wasilewska,1963)	**Ba2**	+	+	+	+
Eucephalobus oxyuroides (de Man, 1876)	**Ba2**	+	+	-	-
Eumonhystera dispar (Bastian, 1865)	**Ba2**	-	-	+	-
Eumonhystera filiformis (Bastian, 1865)	**Ba2**	+	-	-	-
Plectus geophilus de Man, 1880	**Ba2**	-	-	+	-
Plectus parietinus Bastian, 1865	**Ba2**	-	-	+	+
Plectus parvus Bastian, 1865	**Ba2**	+	+	+	-
Tylocephalus auriculatus (Bütschli, 1873)	**Ba2**	-	-	+	+
Tylocephalus cephalatus (Cobb, 1893)	**Ba2**	-	-	+	-
Aulolaimus filiformis (Timm, 1957)	**Ba3**	+	-	-	-
Aulolaimus oxycephalus de Man, 1880	**Ba3**	+	+	-	-
Cylindrolaimus communis de Man 1880	**Ba3**	+	+	-	-
Prismatolaimus intermedius (Bütschli, 1873)	**Ba3**	+	-	-	-
Alaimus primitivus de Man, 1880	**Ba4**	+	-	-	-
Alaimus sp.	**Ba4**	+	+	-	-
Paramphidelus sp.	**Ba4**	-	+	-	-
Aphelenchoides composticola Franklin, 1957	**Fu2**	+	-	+	+
Aphelenchoides sp.	**Fu2**	+	-	+	+
Aphelenchus avenae Bastian, 1865	**Fu2**	+	+	+	+
Ditylenchus myceliophagus Goodey, 1958	**Fu2**	+	+	+	+
Ditylenchus sp1	**Fu2**	+	+	+	+
Ditylenchus sp2	**Fu2**	-	-	+	+
Diphterophora communis de Man 1880	**Fu3**	+	+	-	-
Doryllium minor Jairajpuri, 1963	**Fu4**	+	-	-	-
Boleodorus volutus Lima & Siddiqi, 1963	**Pl2**	-	+	-	-
Coslenchus costatus (de Man, 1921)	**Pl2**	+	+	+	+
Filenchus vulgaris (Brzeski, 1963)	**Pl2**	+	+	+	-
Gracilacus steineri (Golden, 1961)	**Pl2**	-	-	-	+
Paratylenchus nanus Cobb, 1923	**Pl2**	+	-	+	-
Tylenchus sp.	**Pl2**	+	-	-	-

Таблица 19. Продължение

ВИДОВЕ	**Г**	**К+As**		**ТМ+As**	
		пролет	есен	пролет	есен
Helicotylenchus digonicus Perry, 1959	**Pl3**	-	+	+	+
Helicotylenchus vulgaris Yuen, 1964	**Pl3**	+	+	-	-
Merlinius microdorus (Geraert, 1966)	**Pl3**	+	+	+	+
Mesocriconema curvaum (Raski, 1952)	**Pl3**	+	-	-	-
Pratylenchus neglectus (Rensch, 1924)	**Pl3**	+	+	+	+
Zygotylenchus guevarai (Tobar Jiminez, 1963)	**Pl3**	+	+	-	+
Longidorus profundorum Hooper, 1966	**Pl5**	+	-	-	-
Oxydirus sp.	**Pl5**	+	+	-	-
Eudorylaimus sp.	**Om4**	+	+	-	-
Eudorylaimus subdigitalis Tjepkema,Ferris&Ferris,1971	**Om4**	-	+	-	-
Microdorylaimus miser (Thorne & Swanger, 1936)	**Om4**	+	+	+	+
*Thonus ettersbergensis (*de Man, 1885)	**Om4**	+	+	-	+
Thonus sp.	**Om4**	+	+	-	-
Aporcelaimellus obtusicaudatus (Bastian, 1865)	**Om5**	+	+	+	+
Tripyla filicaudata de Man, 1880	**Ca3**	+	+	-	-
Anatonchus hortensis Andrássy, 1973	**Ca4**	+	+	-	-
Clarkus papillatus (Bastian, 1865)	**Ca4**	-	+	-	-
Mylonchulus striatus (Thorne, 1924) Schneider, 1939	**Ca4**	+	+	-	-
Prionchulus punctatus (Cobb, 1917)	**Ca4**	-	+	-	-
Брой видове/ сезон		42	38	28	22
Брой видове/ площадка		**51**		**31**	



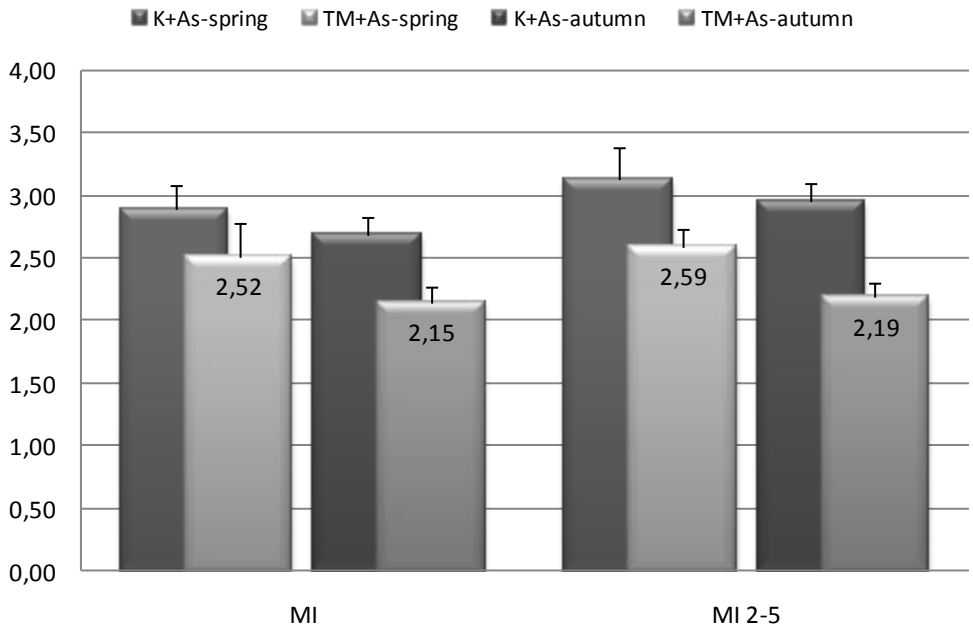
Фиг. 18 Относителна численост на colonizer-persister (c-p) групите на свободно-живеещите нематоди в контролната (K+As) и замърсената с тежки метали (TM+As) площадка през пролетта и есента.

Таблица 20. Численост (ind 100 g^{-1}dw; av±s.e., n=3) и таксономично богатство: родове/видове (g(spp) на нематодните с-р групи и стойности на екологичните показатели: разнообразие на родовете (H'); изравненост на родовете (E) и концентрация на доминиране (C); Channel index (CI), индекс на обогатяването (EI) и структурен индекс (SI) в контролната и замърсената с тежки метали площадка - пролет и есен. Различните главни букви показват достоверност на различията между вземанията в една и съща площадка, а различните малки букви- между площадките при едно и също вземане, P<0.05.

	ПРОЛЕТ		ЕСЕН	
	К+As	**ТМ+As**	**К+As**	**ТМ+As**
Ср1 (численост)	40±15	43±16	32±24	9±4
Ср1 - g(spp)	2(1)	2(2)	3(3)	2(2)
Ср2 (численост)	154±49Аа	612±15в	81±18В	232±100
Ср2 - g(spp)	12(14)	12(18)	11(10)	9(11)
Ср3 (численост)	34±13	-	12±2	-
Ср3 - g(spp)	5(6)	-	4(4)	-
Ср4 (численост)	91±45Аа	205±47Ав	46±3В	6±4В
Ср4 - g(spp)	9(9)	4(1)	11(11)	2(2)
Ср5 (численост)	49±23	37±22	12±1	14±8
Ср5- g(spp)	1(1)	1(1)	1(1)	1(1)
r-стратези - g(spp)	14(15)	14(20)	14(13)	11(13)
К-стратези g(spp)	**15(16)**	**5(2)**	**16(16)**	**3(3)**
H' (родове)	2.85±0.08A	2.67±0.04A	2.44±0.38B	1.90±0.08B
E (родове)	0.75±0.02A	0.79±0.01A	0.65±0.10B	0.61±0.03B
C (родове)	0.09±0.01	0.09±0.01	0.20±0.11	0.23±0.04
Channel index (CI)	24.27±4.71a	63.52±9.30b	36.18±21.89a	79.21±4.08b
EI	58.24±7.53a	42.24±5.74b	53.64±15.64a	43.24±4.43b
SI	73.8±4.4a	60.0±11.2b	76.7±5.3a	24.9±17.8b

Таблица 22. Численост (ind $100g^{-1}$ dw, av±s.e., n=3), брой родове и видове (g/spp) на трофичните групи нематоди и техните гилдии (ТГ/Г) в контролната (К+As) и замърсената с тежки метали (ТМ+As) площадка през пролетта и есента.

ТГ/Г	**ПРОЛЕТ**				**ЕСЕН**			
	Контрола+As		ТМ+As		Контрола+As		ТМ+As	
	числ.	g(spp)	числ.	g(spp)	числ.	g(spp)	числ.	g(spp)
Ba_1	40±18	2	43±19	2	32±30	3	9±5	2
DL	20±9		8±1		22±15		4±3	
Ba_2	105±46	9	342±22	9	59±19	8	108±79	6
Ba_3	15±9	3	-	-	3±3	3	-	-
Ba_4	17±7	2	0.4±0.4	1	4±3	2	-	-
Ba	**197±79A**	**16(16)**	**394±41A**	**12(14)**	**120±70B**	**16(14)**	**122±87B**	**8(7)**
Fu_2	49±14	3	270±34	3	22±8	3	124±43	3
Fu_3	13±8	1	-	-	6±3	1	-	-
Fu_4	18±19	1	-	-	0.4±0.4	1	-	-
Fu	**80±42Aa**	**5(7)**	**270±34Ab**	**3(6)**	**27±12Ba**	**5(4)**	**124±43Bb**	**3(6)**
Pl_2	187±97	6	110±52	5	45±18	4	10±8	3
Pl_3	178±47	5	178±31	3	198±57	5	192±78	4
Pl_5	45±26	2	1±1	1	4±0	1	-	-
Pl	**410±170**	**13(11)**	**288±83**	**9(6)**	**247±75**	**10(9)**	**202±86**	**7(6)**
Om_4	31±20	3	205±57	3	28±5	3	6±5	2
Om_5	6±3	1	37±27	1	8±1	1	14±10	1
Om	**37±22a**	**4(5)**	**242±84Ab**	**4(2)**	**36±6**	**4(7)**	**19±15B**	**3(3)**
Ca_3	6±4	1	-	-	3±4	1	-	-
Ca_4	25±14	3	-	-	13±5	4	-	-
Ca	**31±17a**	**4(3)**	**- b**	**-**	**16±9a**	**5(4)**	**- b**	**-**
Fu/Fu+Ba	0.28±0.05a		0.40±0.04b		0.25±0.13a		0.59±0.13b	



Фиг.19. Индекси на зрялост (MI, MI_{2-5}) на групата на свободно-живеещите нематоди в контролната (K+As) и замърсената с тежки метали (TM+As) площадка при отчитане през пролетта и есента.

Съотношението на фунгифагите към бактериално-хранещи се нематоди (Fu/Fu+Ba) в замърсената площадка (0.40-0.59) е по-високо в сравнение с контролата (0.25-0.28). В замърсената площадка Индексът на потока на веществата (CI=64-79%) е много по-висок отколкото в контролата (25-36%), а Индексът на обогатяването (EI, 41-43%) има по-ниски стойности в сравнение с контролата (54-58%) - Таблица 20. Структурният индекс (SI) има по-ниски стойности в замърсената площадка в сравнение с контролата и при двете отчитания, като пролетното повишение на числеността на *M. miser* води до отчитане на високи стойности на този индекс в замърсената площадка (Таблица 20).

3.3. Обсъждане

3.3.1. Таксономично богатство

Промените в нематодните съобщества под влияние на замърсяването с тежки метали са преди всичко в качествено отношение: обедняване както по отношение на видовете (39%), така и на родовете нематоди (33%) и по-ниско таксономично разнообразие на съобществата в сравнение с контролата, което е наблюдавано също и от Байчева (1976) за района на МК "Кремиковци" и от Samaliev and Baicheva (1998) за района на КЦМ, Пловдив. Редица автори съобщават намаляване на таксономичното богатство и разнообразие (H') на нематодните съобщества в почви, замърсени с тежки метали (Popovici, 1994; Yeates et al., 1995, 2003; Chen et al., 2009; Šalamún et al., 2012).

По-голямото таксономично богатство на нематодните съобщества в контролата се дължи преди всичко на големия брой субрецеденти, като всички родове (17рода), които не са намерени в замърсената площадка, а само в контролата, се отнасят именно към тази група. Контролната площадка съдържа Cu, Zn, Pb и Cd в концентрации под ПДК, а

концентрацията на As е 3.6 пъти над ПДК. Някои от тежките метали и As в този район имат относително висок (1-2 пъти ПДК) педогенен и геогенен произход (Curchod, 2005). Това замърсяване може да е причина за големия брой субрецеденти в по-слабо замърсената площадка, които при по-високите концентрации на тежките метали в замърсената площадка са елиминирани.

3.3.2. Индекси на зрялост и съотношение на r- и K-стратезите в нематодните съобщества

Високата степен на доминиране (69 - 90%) и високото таксономично богатство на общите опортюнисти (cp 2) в замърсената площадка е показател за голямата толерантност на тези нематоди към замърсяване с тежки метали. Popovici and Korthals, 1995 при сходни изследвания установяват повишаване на делът на cp2 до 91% в силно замърсена с тежки метали почва, а Bert et al. (2009) дава стойности над 60% за тази група.

К-стратезите в замърсената площадка са отрицателно повлияни преди всичко в качествено отношение, като се отчита силно намаляване на таксономичното им богатство (81-88% за видовете и 67-81% за родовете) в замърсената площадка в сравнение с контролата. Селективното отстраняване на К-стратезите в резултат от замърсяването, може да се счита като съществена промяна в качеството и типа на съобществото, тъй като са отстранени най-специализираните, специфичните за дадено местообитание видове, които са представители на местната, автохтонна фауна. В количествено отношение, делът на групата на К-стратезите е силно намален само през есента. През пролетта е отчетен необичайно висок дял (26%), който се дължи на повишената численост на *M. miser*. Нематодите от този вид се отнасят към К-стратезите, но притежават и някои характеристики на r-стратези: малки размери, висока колонизационна способност и висока численост.

Нематодите от вида *A. obtusicaudatus* (cp5) не показват чувствителност към замърсяването в условията на нашия експеримент. За нематодите от двата вида (*M. miser*. и *A. obtusicaudatus*) се съобщава, че имат способност да се хранят с едноклетъчни водорасли, които се развиват в най-повърхностния почвен слой (Ettema and Bongers, 1993; Bongers and Bongers, 1998; Bongers, 1999). Поради неравномерното разпределение на замърсителите в необработваемите площи е възможно оцеляването им и в замърсени с тежки метали почви, като периодично, при подходящи условия, като например отмиване на замърсителите от най-повърхностния слой, те могат да достигнат висока численост. Не може обаче да се изключи и възможността нематодите от двата вида да проявяват толерантност към наличните концентрации на изследваните замърсители.

Индексите на зрялост (MI и MI_{2-5}) имат по-ниски стойности в замърсената площадка в сравнение с контролата и при двете отчитания, като наблюдаваните големи сезонни вариации в стойностите на тези индекси намаляват индикаторните им възможности. Интерпретирането на високите стойности на индексите на зрялост противоречи на ниското таксономичното богатство на К-стратезите в замърсената площадка.

Замърсената площадка в нашето изследване съдържа концентрации на Pb, As и Zn, които надвишават съответо 9.5, 5.6 и 2 пъти ПДК. По-ниските стойности на индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) на групата на свободно-живеещите нематоди и силно намаленото таксономично богатство на К-стратезите в замърсената площадка в сравнение с контролата, показват че не само общите, но и биологично достъпните концентрации на тежки метали в тази площадка надвишават нивото над което се наблюдава силно неблагоприятно действие върху нематодните съобщества.

3.3.3. *Трофична структура на нематодните съобщества*

3.3.3.1 Микробиално хранещите се нематоди като индикатори за влиянието на тежките метали върху детритната трофична верига

Нематодите, хранещи се с хифи на гъби и с бактерии са положително повлияни от високите концентрации на тежките метали в замърсената площадка. От двете трофични групи, единствено гилдиите на общите опортюнисти (Fu_2, Ba_2) повишават числеността си в замърсената площадка. И двете гилдии включват най-толерантните към тежките метали нематоди, които се използват като индикатори за наличие на базални условия в детритните вериги (Ferris et al., 2001). Съотношението на фунгифаги към бактериално хранещи се нематоди (Fu/Fu+Ba) в замърсената площадка е значително по-високо отколкото в контролата и при двете отчитания, което вероятно показва по-голям дял на гъбите при разграждане на веществата в силно замърсени почви и предимно бактериално разграждане в по-слабо замърсената площадка. Индексът на обогатяването (EI) и Индексът на потока на веществата (CI) също показват по-висок дял на гъбно разграждане в замърсената площадка и предимно бактериално разграждане в контролата.

Zhang et al. (2008) и Pen-Mouratov et al. (2010) отчитат намаляване на съотношението на хранещите се с бактерии нематоди към фунгифагите в екосистеми в близост до металургични предприятия, а Korthals et al. (1996_a) и Nagy et al. (2004) съобщават сходни резултати за влиянието съответно на Cd и Cu в условията на моделен полски опит.

3.3.3.2. *Нематоди, хранещи се с растения*

Нематодите, хранещи се с растения доминират в нематодните съобщества в контролата и в замърсената площадка през есента. Тази група е представена по-добре, както количествено така и с по-голямо таксономично богатство в контролата в сравнение със замърсената площадка. Байчева (1976) и Samaliev and Baicheva (1998) дават данни за доминиране на растително-паразитните нематоди в нематодните съобщества при сходни изследвания, проведени в тревни площадки в непосредствена близост съответно до МК "Кремиковци" и до КЦМ, гр. Пловдив.

3.3.3.3. Смесено-хранещи се и хищни нематоди

В контролната площадка смесено хранещите се нематоди имат относително нисък дял, а в замърсената площадка през пролетта делът им значително се повишава, което се дължи основно на *M.miser* и на *A. obtusicaudatus.*

От всички трофични групи с най-голяма чувствителност към тежки метали в нашето изследване е групата на хищните нематоди, като и в контролата числеността им е относително ниска, а в замърсената площадка не са намерени и при двете отчитания. Popovici (1994), Korthals et al. (1996_a) и Zhang et al. (2007) също не намират тази група при високи нива на замърсяване с тежки метали.

Отсъствието на хищните нематоди от нематодните съобщества е важен показател за токсичността на тежките метали, които и в по-ниски концентрации в контролната площадка, вероятно също са причина за по-слабата представеност на групата.

3.4. Обобщение

Намаленото таксономично богатство на нематодните съобщества; елиминирането на К-стратезите и на хищните нематоди; намалените Индекси на зрялост и Структурен индекс на групата на свободно живеещите нематоди в силно замърсената площадка в сравнение с по-слабо замърсената, показва по-силна хронична токсичност на Pb, As и Zn в концентрации, които надвишават съответно 9.5, 5.6 и 2 пъти техните ПДК.

По-високите стойности на Индекса на потока (CI), по-ниските стойности на Индекса на обогатяването (EI), високото съотношение на фунгифаги към бактериално хранещи се, както и незначителния дял на Rhabditidae "dauer" ларви са индикации за по-голям дял на гъбно разграждане на веществата в по-силно замърсените почви в сравнение с по-слабо замърсените, в които бактериалното разграждане има по-голям дял.

Намирането на *Microdorylaimus miser* във висока численост през пролетта в замърсената площадка и на *Aporcelaimellus obtusicaudatus* във всички площадки и отчитания, са индикации за толерантност на тези нематоди и/или ниска биологична достъпност на микроелементите в техните микроместообитания в тази площадка.

IV. ИЗВОДИ

1. Качествените показатели на нематодните съобщества са най-чувствителните индикатори за оценка на токсичността и биологичната достъпност на тежките метали при всички проведени изследвания.
2. Намаляването на нематодното разнообразие в замърсени с тежки метали почви е свързано със селективното елиминиране на видовете на свободно живеещите К-стратези при всички проведени изследвания.
3. Видове К-стратези, които се считат за индикатори на почвено замърсяване с тежки метали, са установени в относително висока численост в силно замърсени почви: *Microdorylaimus miser* в района на МК"Кремиковци", *Mesodorylaimus bastiani* в района на КЦМ АД, гр. Пловдив и *Aporcelaimellus obtusicaudatus* в двата района.
4. Индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) отчитат силна токсичност и висока биологична достъпност на Zn, Cu и комбинацията на Zn+Cu в концентрации около и под ПДК в моделния полски опит и ниска токсичност и биологична достъпност на Pb и Cd в концентрации 3 -5 х ПДК и на Zn и Cu в концентрации около и под ПДК в площадките със средно ниво на замърсяване в района на КЦМ, гр. Пловдив.
5. Индексите на зрялост (MI, MI_{2-5}) варират значително в една от силно замърсените площадки от районите на КЦМ, гр. Пловдив и замърсената площадка в района на МК"Кремиковци" в резултат от наличието на толерантни единични видове К-стратези и дават индикации за големи колебания в биологичната достъпност на тежките метали в тези площадки.
6. Гилдиите на хищните К-стратези (Ca_{3-5}) проявяват висока чувствителност към почвеното замърсяване с тежки метали при всички проведени изследвания и могат да се използват като добър индикатор за оценка на хроничната токсичност на тежките метали.
7. Повишеното съотношение на нематоди фунгифаги към бактериално хранещи се в почви, замърсени с тежки метали при всички проведени изследвания е добър индикатор за по-голямото пропорционално участие на гъбите отколкото на бактериите в процесите на разграждане на веществата в замърсените почви.

V. ПРИНОСИ

V.1. Приноси с научен характер:

- Дават се данни за промените на нематодните съобщества на ниво вид, което позволява по-цялостно използване на качествените им показатели при оценка на хроничната токсичност на тежките метали.
- Предлага се таксономичното богатство на свободно живеещите К-стратези да се използва като допълнителен и по- чувствителен индикатор за оценка на хроничната токсичност на тежките метали наред с числеността им.
- Предлага се Индексите на зрялост и Структурния индекс, които отчитат само числеността на К-стратезите, да се интерпретират заедно с данните за таксономичното им богатство.
- Намирането на толерантни К-стратези в силно замърсени почви: *Microdorylaimus miser* в района на МК"Кремиковци"; *Mesodorylaimus bastiani* в района на КЦМ АД, гр. Пловдив и *Aporcelaimellus obtusicaudatus* в двата района налага корекции на индикаторната им стойност.
- Предлага се използването на гилдиите на хищните К-стратези ($Ca_{3,4,5}$) като по-добър индикатор за почвено замърсяване с тежки метали в сравнение с трофичната им група (Са).
- Дават се данни за потенциала на растенията-хиперакумулатори на тежки метали да оказват въздействие върху токсичността на тежките метали за нематодите.

V.2. Приноси с научно-приложен характер:

- Данните от това изследване могат да послужат при оценка на риска от замърсяване с тежки метали за околната среда и човешкото здраве в райони около големи източници на замърсяване.
- Нематодните съобщества могат да се използват като ценен индикатор за токсичността и биологичната достъпност на тежките метали и да се включат при разработване на биомониторингови програми за опазване на почвата от замърсяване и устойчивото й ползване.

VI. Публикации по дисертационния труд

VI.1. Публикации в списания с IF

- **Georgieva, S. S.,** S. P. McGrath, D. J. Hooper, B. S. Chambers. 2002. Nematode communities under stress: the long-term effects of heavy metals in soil treated with sewage sludge. Applied Soil Ecology, 20, 27-42, DOI: 10.1016/S0929-1393(02)00005-7. IF = 2.2, Цитирания - 76 (Harzing's Publish or Perish)

VI.2. Публикации в реферирано списание

- **Georgieva, S. S.,** J. Atanassova, N. Dinev. 2015. Metal hyperaccumulation in *Cardaria draba* (L.) Desv. (Brassicaceae) and heavy metal effects on the nematodes and a weevil associated with the plant roots in sites near a non-ferrous metal smelter in Bulgaria. Soil Science, Agrochemistry and Ecology, (in press).

VI.3. Участие в международен симпозиум

- **Georgieva, S. S.,** E. G. Vassileva, N. Dinev. 2006. Soil nematode assemblages in grass ecosystems exposed to heavy metal pollution for the last 40 years. XXVIII International Symposium of European Society of Nematologists, 5-9 VI, Blagoevgrad.

Soil Nematode Communities in Biological Assessment of Soil Heavy Metal Pollution

Summary

The structure of the nematode communities were studied in sites with different levels of soil heavy metal contamination under field experimental conditions, as well as in sites near big sources of heavy metal pollution. The model field experiment is situated at ADAS Gleadthorpe Research Center, North Nottinghamshire, UK where the long-term effects of four increasing concentrations of Ni, Zn+Ni, Cu, Zn+Cu and Zn on the nematode communities in soil treated with sewage sludge were studied. Nematode communities chronically exposed for more than 50 years to Pb, Cd, Zn and Cu soil contamination were also studied in five sites with low, medium, high and extreme level of heavy metal pollution in the vicinity of a non-ferrous metal plant (KCM AD) near Plovdiv. In addition two sites with low and high contamination with Pb, As and Zn were studied in the area of Gorni Bogrov, near metallurgical plant "Kremikovtsi".

In total, 106 species were identified during the study and there were negative correlations of the species richness and the soil heavy metal concentrations. Nematode diversity loss with selective removal of the K-strategic species, as well as removal of carnivorous K-species were found to be the most profound toxic effects of: Zn, Zn+Cu and Cu around or below their maximum permissible concentrations (MPC) under field experiment; Pb, Cd, Zn and Cu at concentrations 22-57x, 25-44x, 1.4-8x and 1.3x, respectively their MPC in sites with high and extreme level of contamination near KCM and high concentration of Pb (9.5x), As (5.6x) and Zn (2x) above their MPC in the contaminated site near Kremikovtsi. The Maturity indices (MI,MI_{2-5}) indicated strong toxicity and high bioavailability of Zn, Zn+Cu and Cu at concentrstions around or below their MPC under field experiment and low toxicity and bioavailability of Pb and Cd in concentrations 3-5x their MPC and Zn and Cu around and below their MPC in sites with medium level of contamination near KCM. Species from the indicator guilds $Om_{4,5}$ were found in high abundance at some of the samplings in highly contaminated soil: *Microdorylaimus miser* in contaminated site near Kremikovtsi, *Mesodorylaimus bastiani* in highly contaminated site near KCM and *Aporcelaimellus obtusicaudatus* at both sites, which indicated relative tolerance to the present heavy metal contamination and resulted in high variation in Maturity indices in these sites. The increase in the the fungal to bacterial feeders ratio in highly contaminated sites indicated the possible increase in the relative importance of the fungi and decrease of bacteria in the decomposition processes in the heavy metal contaminated soil.

The mustard weed *Cardaria draba* (L.) Desv. had well established monoculture perennial stand in the site with high level of heavy metal contamination near KCM and was able to accumulate Pb (> 100 $\mu g\ g^{-1}$) and Cd (> 20 $\mu g\ g^{-1}$) in shoots above the accumulation level. The vegetation in this site most probably contributed to the homogenization of the heavy metals in the top soil layer and affected both the toxicity and bioavailability of the contaminants to the nematodes during the vegetation period of the plants in this site. The heavy metal hyperaccumulation in *C. draba* of Pb (> 1000 $\mu g\ g^{-1}$) and Cd (> 100 $\mu g\ g^{-1}$) in the most polluted site near KCM inserts a serious risk for the heavy metal transfer along the food chain and is an additional threat for the human and animal health in the area.