

УДК 574.4:631.468:[504.5:669.2/.8]+502.05

BAIT-LAMINA TEST В ОЦЕНКЕ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ: ВЫБОР ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЭКСПОНИРОВАНИЯ

© 2020 г. Е. Л. Воробейчик^а, *, И. Е. Бергман^а

^аИнститут экологии растений и животных УрО РАН, Россия 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

*e-mail: ev@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 16.03.2020 г.

После доработки 30.03.2020 г.

Принята к публикации 16.04.2020 г.

Измерение трофической активности почвенных сапрофагов по степени потребления ими приманки из растительного материала, bait-lamina test, используют при решении многих задач функциональной экологии. Для получения несмещенных оценок важен правильный выбор длительности экспонирования приманки, для чего необходим анализ временной зависимости величины ее потребления. Для техногенно загрязненных почв ранее такой анализ не проводили. Мы сравнили два участка елово-пихтового леса в районе воздействия многолетних выбросов Среднеуральского медеплавильного завода — фоновый (30 км от предприятия) и сильно загрязненный тяжелыми металлами (1 км). Трофическую активность оценивали на 3, 6, 9, 12 и 15-е сутки. Характер зависимости доли потребленной приманки от длительности ее экспонирования кардинально различается между фоновым (четкая линейная связь в интервале от 3 до 12 сут) и загрязненным (связь отсутствует) участками, что обусловлено не только разницей в обилии, но и в составе сообществ сапрофагов. Влияние загрязнения максимально проявляется на 9-й день экспонирования, отклонения от этого срока более чем на два дня нежелательны как в большую, так и в меньшую сторону. Следует осторожно принимать расчетные преобразования исходных величин: с помощью линейной интерполяции допустимо пересчитывать активность на фоновом участке для приведения ее к длительности экспонирования на загрязненном, но не наоборот.

Ключевые слова: трофическая активность, здоровье почвы, разложение органического вещества, почвенная фауна, почвенные беспозвоночные, сапрофаги, детритофаги, дождевые черви, энхитреиды, лесная подстилка, тяжелые металлы, промышленное загрязнение, медеплавильный завод, южная тайга

DOI: 10.31857/S0367059720050133

Оценка трофической активности почвенных сапрофагов при помощи пластин с приманкой из растительного материала, bait-lamina test (BLT) [1], — популярный метод, неоднократно рекомендованный к включению в системы показателей здоровья почв как один из немногих доступных и простых инструментов функциональной экологии почвенных животных [2–4]. Начиная с 1990-х годов BLT широко используют в разных областях, в том числе в оценке техногенно загрязненных почв [5–8]. В экотоксикологических работах его применение регламентировано международным стандартом [9]. В последнее время интерес к BLT особенно вырос в связи с важностью учета вклада почвенных сапрофагов в деградацию органического вещества при прогнозировании последствий глобальных изменений климата для цикла углерода [10].

Несмотря на простоту метода, его применение наталкивается на многочисленные “подводные

камни”. Поэтому оправдано внимание исследователей к различным методическим вопросам, например подбору оптимального состава приманки [11] или красителей для ее контрастирования [12]. Один из наиболее важных методических аспектов BLT — выбор длительности экспонирования, поскольку от этого могут сильно зависеть результаты сравнения разных вариантов эксперимента. Например, выводы о влиянии шахт по добыче урана на трофическую активность сапрофагов не совпадали для 7 и 14 дней экспонирования [13].

В авторском варианте метода Von Törne [1] предлагал экспонировать пластины от 13 ч до 5 сут, упоминая даже 4 ч. В дальнейшем, как правило, практиковали более длительное экспонирование: в умеренном климате — от 7–10 до 14–20 дней, в тропиках — 4–8 дней [14]. Впрочем использовали и значительно более длительные сроки — 32–33 дня [15, 16], 40–42 [16, 17], 66 [18] и даже 90 дней [19]. Международный стандарт рекомен-

дует выбирать длительность экспонирования на основе рекогносцировочных экспериментов так, чтобы в контрольном варианте потребление приманки в слое почвы с максимальной трофической активностью было не ниже 30% [9]. Далеко не все следуют этой рекомендации, а выбирают длительность по аналогии с другими работами. Лишь несколько публикаций было специально посвящено анализу зависимости трофической активности от длительности экспонирования приманки в лабораторных [20, 21] и натурных [22, 23] экспериментах.

Безусловно, длительность не может быть универсальной: ее следует выбирать исходя из локальных условий, поскольку результаты BLT зависят как от обилия сапрофагов, так и от многих факторов среды, особенно влажности и температуры почвы [10, 20, 22]. Наиболее сложную задачу представляет сравнение местообитаний, контрастных либо по обилию сапрофагов, либо по внешним условиям. Именно такая задача возникает при оценке техногенно загрязненных почв, когда необходимо сравнивать участки с высоким и очень низким обилием сапрофагов, причем с разным составом потребителей приманки. Насколько нам известно, для такой ситуации вопрос о выборе длительности экспонирования ранее специально не рассматривали.

Поскольку из-за фиксированного начального количества приманки BLT оценивает относительную скорость ее потребления, ошибочный выбор длительности экспонирования может приводить к смещению оценок — их завышению или занижению. Если такие смещения неодинаковы для разных участков или вариантов эксперимента, то велик риск ошибочных выводов при их сравнении. При высокой активности сапрофагов слишком длительное экспонирование занизит скорость. Например, если приманка будет полностью потреблена уже в середине периода экспонирования, то вторую половину срока будут экспонироваться пустые пластины, соответственно скорость окажется заниженной вдвое, поскольку величина потребления приманки соотносится с длительностью всего периода. Если экспонирование слишком короткое, то разницу между сравниваемыми вариантами можно не выявить из-за того, что она еще не успела “проявиться” в силу стохастичности процесса потребления приманки. Таким образом, возникает задача выбора оптимального срока экспонирования.

Не менее важен вопрос о форме временной зависимости потребления приманки. Если такая зависимость линейна, то найденные при разных сроках значения трофической активности могут быть стандартизованы путем приведения к единой размерности. В противном случае такие

преобразования некорректны и также могут быть причиной ошибочных выводов.

Цель нашей работы — анализ характера зависимости степени потребления приманки почвенными сапрофагами от длительности ее экспонирования на фоновой и сильно загрязненной территории. Мы тестируем гипотезу о линейной форме такой связи, по крайней мере в пределах определенного временного интервала, причем как на фоновых, так и на загрязненных участках, предполагая, что загрязнение влияет только на угол наклона прямой. Кроме того, мы решаем задачу нахождения оптимального срока для BLT, при котором различия между фоновыми и загрязненными участками проявляются наиболее сильно.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Район исследований. Работа выполнена в южной тайге, в районе воздействия многолетних атмосферных выбросов Среднеуральского медеплавильного завода, на двух участках елово-пихтового леса: фоновом (30 км к западу от источника выбросов) и загрязненном (1 км).

Многолетнее (с 1940 г.) поступление с атмосферными выбросами тяжелых металлов (Cu, Pb, Cd, Zn, Fe и др.) и металлоидов (As) вблизи завода привело к многократному (на один–два порядка величин) превышению их фонового содержания в верхних почвенных горизонтах (табл. 1). Сочетание столь высоких концентраций с подкислением среды из-за выбросов оксидов серы и азота, причем в условиях естественно слабокислых почв, вызвало особенно драматичные последствия для наземных экосистем, неоднократно описанные ранее [24–30]. Фоновый участок характеризует относительно ненарушенное состояние лесных экосистем, загрязненный — крайние варианты их техногенной дигрессии. Важные для интерпретации результатов показатели почв, растительности и почвенной фауны приведены в табл. 1.

Хотя с 2010 г., вследствие реконструкции предприятия, выбросы почти прекратились, вблизи завода пока не произошло ни снижения содержания металлов в почве [26], ни восстановления растительности [24]. Вместе с тем из-за нормализации кислотности [26] в последние годы началось восстановление сообществ почвенных беспозвоночных: в частности, дождевые черви [30, 31] и связанный с ним европейский крот [32] продвинулись ближе к заводу. Впрочем они пока отсутствуют на исследованном в данной работе загрязненном участке.

Измерения в поле. Для BLT использовали стандартные приманочные пластины — полоски из твердого пластика длиной 12 см с 16 отверстиями диаметром 1.5 мм (расположены через каждые 5 мм), которые предварительно заполняли при-

Таблица 1. Характеристика участков

Показатель	Участок		Источник информации
	фоновый	загрязненный	
Местоположение, ландшафт	N 56°47'51", E 59°25'03", 455 м над ур. м., 30 км от завода. Елово-пихтовый лес на водоразделе рек Большая Талица и Белый Атиг	N 56°50'37", E 59°52'44", 370 м над ур. м., 1 км от завода. Елово-пихтовый лес в нижней части восточного склона Шайтанского увала	[27]
Характер древостоя	Состав: <i>Abies sibirica</i> — 50%, <i>Picea obovata</i> — 20%, <i>Populus tremula</i> — 20%, <i>Betula</i> spp. — 10%. Возраст — 100 лет. Запас — 413 м ³ /га	Состав: <i>Picea obovata</i> — 50%, <i>Abies sibirica</i> — 30%, <i>Betula</i> spp. — 10%, <i>Salix</i> spp. — 10%. Возраст — 77 лет. Запас — 113 м ³ /га	[29]
Характер травяно-кустарничкового яруса	60.8 видов на ПП, доминанты: <i>Oxalis acetosella</i> , <i>Dryopteris</i> spp., <i>Calamagrostis arundinacea</i> , <i>Aegopodium podagraria</i> , <i>Ajuga reptans</i>	6.8 видов на ПП, абсолютно доминирует <i>Agrostis capillaris</i>	[24, 27]
Тип почвы	Albic Retisol (Cutanic)	Stagnic Retisol (Cutanic, Toxic)	[26]
Доминирующая форма гумуса	Dysmull	Eumor	[25]
Мощность подстилки, см	1.5	5.0	[25]
Содержание в подстилке*, мкг/г:			
Cu	37.3	3484.3	[25]
Pb	67.3	2462.5	[25]
Cd	2.4	16.6	[25]
pH водный подстилки	5.9	4.9	[25]
Обилие, экз/м ² :			
дождевые черви	377.5	0**	[30]
энхитреиды	1005.3	4.1	[30]
диплоподы	11.3	3.4	[30]
гастроподы	337.4	0.4	[30]
проволочники	58.3	71.7	[30]
личинки длинноусых двукрылых	103.8	34.2	[30]
коллемболы	35333	12376	[34]

Примечание. ПП — пробная площадь, * — кислоторастворимые формы, ** — обилие для удаления 1 км от завода, где проводился BLT (в цитируемой работе приведено обилие для удаления 1–2 км).

манкой — влажной пастой из смеси порошка листьев крапивы и микрокристаллической целлюлозы (в соотношении 3 : 7). Заполненные приманкой пластины сушили при комнатной температуре в течение двух суток.

Измерения трофической активности проведены в первой половине вегетационного сезона 2019 г.: начало — 29 мая, завершение — 13 июня. По данным ближайшей метеостанции (г. Ревда) среднесуточная температура воздуха в этот период (совокупно в мае—июне) составила 13.4°C, сумма осадков — 91 мм, что близко к климатической норме (последние 60 лет) — 12.9°C и 119 мм соответственно.

На каждом участке было заложено по 4 микроплощадки размером 25 × 25 см. Место размещения микроплощадок выбирали случайно, расстояние между ними в пределах участка составило 15–25 м. На каждой микроплощадке было установлено по 25 пластин в узлах регулярной сетки с шагом 5 см, всего — 200 пластин.

В месте установки пластины предварительно делали надрезы острым ножом в подстилке и гумусовом горизонте. Пластины устанавливали строго вертикально, верхнее отверстие соответствовало глубине 0.5 см от поверхности подстилки. Пластины безвозвратно извлекали на 3, 6, 9, 12 и 15-е сутки. С каждой микроплощадки в каж-

дый срок случайным образом (использовали генератор случайных чисел, реализованный в Microsoft Excel) извлекали по 5 пластин. Далее пластины просматривали в лаборатории, визуально оценивая степень перфорирования каждого отверстия, т.е. степень потребления приманки сапрофагами, по пятибалльной шкале: 0 — не тронуто; 0.25 — съедено примерно 25% площади; 0.5 — 50%; 0.75 — 75%; 1 — перфорировано полностью. Такая дробная шкала, в отличие от традиционной двухбалльной, позволяет интерпретировать получаемые усредненные значения не просто как условный показатель трофической активности сапрофагов, а как скорость потребления ими приманки.

Анализ данных. Трофическую активность рассматривали как для всей пластины в целом (т.е. 16 отверстий, 8.0 см глубиной), так и отдельно по 4 последовательным слоям (т.е. по 4 отверстия в каждом 2-см слое). Различия между участками, слоями и сроками экспонирования оценивали с помощью трехфакторного ANOVA, между сроками экспонирования и микроплощадками в пределах каждого участка — двух двухфакторных ANOVA, между отдельными сроками — нескольких однофакторных ANOVA. В необходимых случаях применяли поправку на неоднородность дисперсии (метод Уайта), а для величины потребления приманки использовали угловое преобразование долей. Связь трофической активности с длительностью экспонирования аппроксимировали линейной регрессией. Величину эффекта относительно фоновой территории рассчитывали как отношение откликов ($\log \text{Response Ratio}$, натуральный логарифм); значимыми считали эффекты, для которых 95%-ный доверительный интервал не включал ноль. Учетной единицей во всех случаях была микроплощадка, т.е. среднее значение по 5 пластинам. Поскольку расстояния между пластинами в пределах микроплощадки существенно (в 300–500 раз) меньше расстояний между микроплощадками в пределах участка, микроплощадки корректно рассматривать как независимые повторности. Статистический анализ выполнен в среде вычислений R 3.6.3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В среднем по всем слоям трофическая активность на загрязненном участке была значимо ниже, чем на фоновом (трехфакторный ANOVA: $F_{1;120} = 223.7, p \leq 0.001$). Однако для разных слоев различия между участками не были одинаковыми, так же как и между участками в разные сроки: значимы взаимодействия “участок $\times$ слой” ($F_{3;120} = 33.6; p \leq 0.001$) и “участок $\times$ срок” ($F_{4;120} = 8.8, p < 0.001$). Эту ситуацию хорошо визуализируют доверительные интервалы величин эффектов: для слоя I загрязненный участок значимо отли-

чался от фонового во все сроки, слоя II — только для 9, 12 и 15 дней, слоя III — только для 9 и 12 дней, а для слоя IV различия между участками во все сроки были незначимы (рис. 1).

Для всех слоев величина эффекта изменялась во времени нелинейно: вначале увеличивалась, а затем уменьшалась. Максимальные различия между участками, вне зависимости от слоя, отмечены для 9 дней экспонирования: при этой длительности активность на фоновом участке была выше, чем на загрязненном для пластины целиком в 21 раз, в слое I — в 81 раз, в слое II — в 14 раз, в слое III — в 13 раз, в слое IV — в 5 раз.

На фоновом участке доля потребленной приманки закономерно увеличивалась во времени, тогда как на загрязненном зависимость отсутствовала (см. рис. 1). В первом случае влияние срока экспонирования было статистически значимо для всех слоев, во втором — незначимо (табл. 2).

На фоновом участке временную зависимость трофической активности можно удовлетворительно аппроксимировать прямой: для пластины целиком скорректированный R^2 равен 0.63, коэффициент наклона — 3%/день, $p < 0.01$. Хотя пяти точек во времени недостаточно для строгого анализа формы зависимости, очевиден ее выход на плато на последних сроках экспонирования: трофическая активность для 12 и 15 дней значимо не различалась (однофакторные ANOVA) как для пластины целиком, так и по отдельным слоям ($p = 0.318\text{--}0.992$).

В противоположность различиям между сроками экспонирования влияние пространственной неоднородности было статистически значимо на загрязненном, но не на фоновом участке (кроме двух нижних слоев) (см. табл. 2). Взаимодействие факторов “срок $\times$ микроплощадка” во всех случаях незначимо, т.е. доля потребленной приманки зависела (на фоновом участке) или не зависела (на загрязненном) от времени одинаково на всех микроплощадках.

Коэффициент вариации, оценивающий степень пространственной неоднородности в масштабе десятков метров, был существенно (в 2–8 раз) больше на загрязненном участке по сравнению с фоновым (рис. 2). На фоновом участке он уменьшался во времени, а на загрязненном был стабильно высок.

На фоновом участке трофическая активность резко убывала с глубиной во все сроки экспонирования: например, для 9 дней активность в слое II была в 1.7 раза ниже по сравнению со слоем I, в слое III — в 6.1 раза, в слое IV — в 8.4 раза. Коэффициент наклона прямой, аппроксимирующей временную зависимость, также закономерно уменьшался с глубиной: в слое I он составлял 4.4%/день ($p < 0.01$), в слое II — 3.8%/день ($p < 0.01$), в слое III — 2.2%/день ($p < 0.01$), в слое IV — 1.4%/день ($p = 0.027$). В этом же направлении снижалась и на-

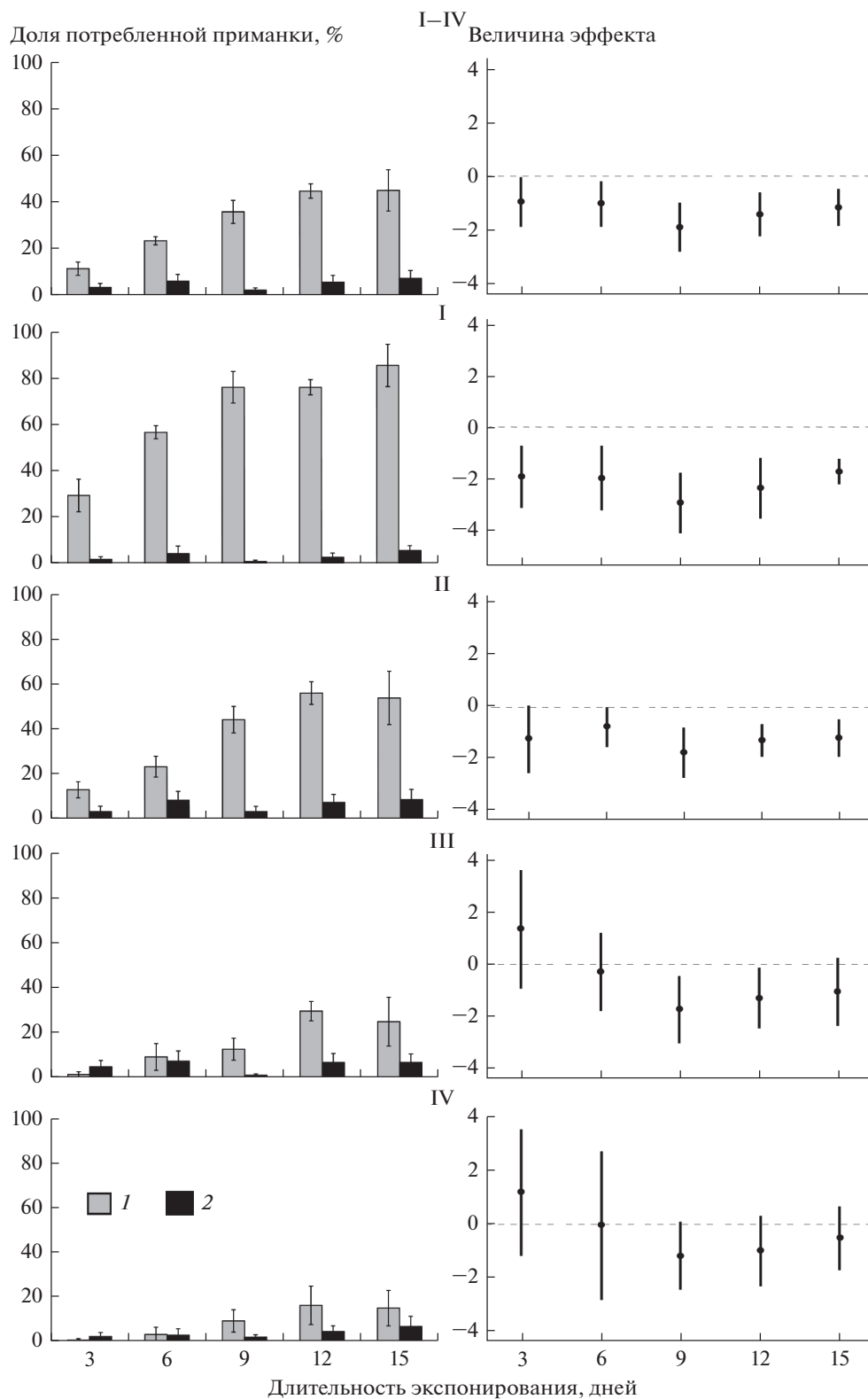


Рис. 1. Трофическая активность почвенных сапрофагов (слева, доля потребленной приманки, % от исходного) и величина эффекта (справа, логарифм отношения откликов) в зависимости от длительности экспонирования приманки. Участки: 1 – фоновый, 2 – загрязненный; I–IV – слои: I – 1–4 отверстия (0.5–2.0 см от поверхности подстилки), II – 5–8 (2.5–4.0 см), III – 9–12 (4.5–6.0 см), IV – 13–16 (6.5–8.0 см), I–IV – 1–16 (0.5–8.0 см, т.е. пластина полностью). Планки погрешностей: для трофической активности – ошибка среднего, для величины эффекта – 95%-ный доверительный интервал. Учетная единица – микроплощадка ($n = 4$).

Таблица 2. Результаты двухфакторных ANOVA для различий между сроками экспонирования и микроплощадками на фоновом и загрязненном участках

Слой	Участок и источник изменчивости					
	фоновый			загрязненный		
	время (Т), $df_{\text{factor}} = 1$	микроплощадка (Р), $df_{\text{factor}} = 3$	$T \times P$, $df_{\text{factor}} = 3$	время (Т), $df_{\text{factor}} = 1$	микроплощадка (Р), $df_{\text{factor}} = 3$	$T \times P$, $df_{\text{factor}} = 3$
I–IV	37.9 (<0.001)	2.6 (0.100)	0.4 (0.764)	3.6 (0.084)	22.5 (<0.001)	1.1 (0.391)
I	28.5 (<0.001)	1.1 (0.379)	0.2 (0.901)	2.9 (0.116)	7.4 (0.004)	0.9 (0.448)
II	31.8 (<0.001)	1.7 (0.226)	1.1 (0.370)	3.0 (0.110)	9.9 (<0.001)	0.5 (0.690)
III	20.1 (<0.001)	3.6 (0.047)	1.0 (0.439)	0.1 (0.716)	20.6 (<0.001)	0.1 (0.983)
IV	18.0 (<0.001)	5.9 (0.011)	2.4 (0.117)	4.0 (0.070)	11.5 (<0.001)	1.1 (0.406)

Примечание. Приведен F-критерий Фишера, в скобках – достигнутый уровень значимости; df_{factor} – число степеней свободы фактора; $df_{\text{error}} = 12$. Для доли потребленной приманки использовано угловое преобразование. Слой: I – 1–4 отверстия (0.5–2.0 см от поверхности подстилки), II – 5–8 (2.5–4.0 см), III – 9–12 (4.5–6.0 см), IV – 13–16 (6.5–8.0 см), I–IV – 1–16 (0.5–8.0 см, т.е. пластина полностью).

дежность линейной аппроксимации: в слое I скорректированный R^2 был равен 0.65, в слое II – 0.58, в слое III – 0.37, в слое IV – 0.20. На загрязненном участке вертикальная стратификация трофической активности не выражена: во всех слоях значения близки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основной результат нашей работы заключается в выводе о кардинальном различии характера динамики потребления приманки на фоновом и загрязненном участках. В первом случае трофическая активность была линейно связана с длительностью экспонирования в интервале от 3 до

12 сут, во втором – связь отсутствовала. Это логично связать с изменением не только обилия, но и состава сообществ сапрофагов под действием загрязнения.

Состав потребителей приманки. В экосистемах умеренного климата основными потребителями приманки считают дождевых червей и энхитреид, в существенно меньшей степени – микроартропод (коллембол и орибатид) [11, 20, 33]. Помимо упомянутых групп, экспериментально доказано также потребление приманки мокрицами [1]. Хотя других сапрофагов специально не тестировали, потенциальными потребителями могут быть диплоподы, гастроподы, личинки ряда семейств жесткокрылых (Elateridae и др.) и длинноусых

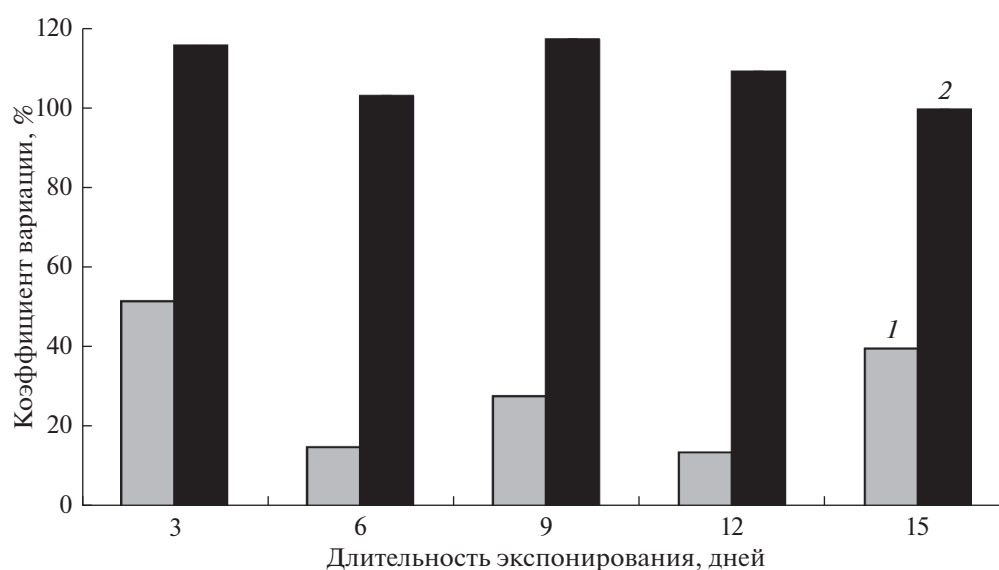


Рис. 2. Коэффициент вариации трофической активности для приманочной пластины целиком при разных сроках экспонирования. Участки: 1 – фоновый, 2 – загрязненный. Учетная единица – микроплощадка ($n = 4$).

двукрылых (Diptera, Nematocera: Tipulidae, Limoniidae, Bibionidae, Sciaridae, Chironomidae, Cecidomyiidae и др.).

Мокрицы в темных лесах района наших исследований отсутствуют. В отношении микроартропод мнения противоречивы: при высокой численности коллембол (108–375 тыс. экз/м²) в мезокосмах была обнаружена прямая связь между их обилием и величиной потребления приманки для 15–25 дней экспонирования [11], но при низкой (1.4–12.7 тыс. экз/м²) – связь отсутствовала даже на 60-й день [21]. В другом лабораторном эксперименте при 14-дневном экспонировании приманка оставалась абсолютно нетронутой и при более высокой численности коллембол (34–49 тыс. экз/м²) [20]. В натурных экспериментах также не обнаружили связи результатов ВЛТ ни с обилием коллембол, ни орибатид [33]. По данным Н.А. Кузнецовой [34], обилие коллембол на загрязненных участках района наших исследований составляло 12 тыс. экз/м². При такой численности заметное участие этой группы в потреблении приманки на загрязненной территории при 3–15 днях экспонирования маловероятно.

Загрязнение почвы металлами в районе воздействия выбросов рассматриваемого медеплавильного завода негативно влияет на все группы сапрофагов, но наиболее сильно – на дождевых червей (см. табл. 1). На фоновой территории они доминируют среди крупных беспозвоночных, тогда как вблизи завода исчезают [30, 35]. Обилие других потенциальных потребителей приманки (энхитреиды, диплоподы, гастроподы) на загрязненной территории сильно снижено, но они не исчезли полностью. В отношении энхитреид, занимающих промежуточное положение между мезо- и микрофауной, необходимо подчеркнуть, что наше заключение касается только крупных особей (более 2 мм), учитываемых при ручном разборе проб. Для района исследований мы не располагаем результатами влажной выгонки энхитреид в составе микрофауны, численность которых может составлять десятки тысяч особей на 1 м² [36]. Впрочем по аналогии с территориями вблизи других медеплавильных заводов, где оценивали численность энхитреид влажной выгонкой [36, 37], можно ожидать, что обилие и этой размерной группы сильно снижено на загрязненном участке. С другой стороны, пространственное распределение энхитреид может быть очень неравномерным, особенно в условиях загрязнения [37], поэтому нельзя исключить их локально высокой плотности вблизи пластин.

Личинки жуков-щелкунов и длинноусых двукрылых (за исключением Tipulidae и Limoniidae) – это единственные группы среди крупных сапрофагов, обилие которых не сильно снижено или даже увеличено вблизи завода [30, 35]. Особо сле-

дует оговорить возможную роль в потреблении приманки личинок щелкунов (проволочников). С одной стороны, специфика строения их ротового аппарата не позволяет считать эту группу потребителей приманки *sensu stricto*: наличие “оральных фильтров” обуславливает питание исключительно жидкостью, которую личинки выдавливают из корней и других субстратов мощными режущими мандибулами [38]. С другой стороны, по нашим неформализованным наблюдениям, при достаточном увлажнении почвы приманка в отверстиях пластин очень мягкая (“кашеобразная”), поэтому нельзя исключить ее чисто механическое повреждение или даже выдавливание из отверстий при попытках проволочников отжать из нее жидкость. Дополнительным аргументом в пользу этого может быть характерное для проволочников активное поисковое поведение и интенсивные перемещения в почве, в которых основную роль играет головная капсула [38]. По современным представлениям для большинства щелкунов на личиночной стадии характерна полифагия, в том числе детритофагия [39], хотя ранее часть видов считали исключительно фитофагами, а часть – зоофагами. Доминирующие в районе исследований виды (*Athous subfuscus* и *Dalopius marginatus*) [35] также отнесены к полифагам [39].

Таким образом, на основании документированных изменений структуры сообществ крупных почвенных беспозвоночных, произошедших под действием загрязнения, можно предположить, что на сравниваемых участках приманку потребляют разные группы сапрофагов: на фоновой территории – дождевые черви и энхитреиды, на загрязненной – личинки длинноусых двукрылых, проволочники и, возможно, мелкие энхитреиды. Участие на загрязненной территории крупных энхитреид, диплопод и гастропод нельзя исключить полностью, но оно менее вероятно из-за их очень низкого обилия.

Вертикальная стратификация. Различия вертикального распределения трофической активности на фоновых и загрязненных участках соответствуют разному характеру вертикальной стратификации беспозвоночных. На фоновой территории абсолютно доминируют (90% по численности) эпигейные виды червей (главным образом *Perelia diplo-tetratheca*), а эндогейные виды (*Aporrectodea rosea*, *Perelia tuberosa*) менее обильны [35]. Это определяет значительно более высокую трофическую активность в лесной подстилке и верхних слоях гумусового горизонта по сравнению с нижними. На загрязненной территории большинство беспозвоночных обитает исключительно в лесной подстилке [40], которая не дифференцирована на подгоризонты и представляет собой относительно однородный слой из сохранившего исходную структуру растительного опада без видимых следов зоогенной трансформации [25]. Ее мощность в

среднем равна 5 см (до 8–11 см) [25], т.е. почти все отверстия приманочных пластин приурочены именно к этому горизонту. Именно поэтому на загрязненном участке нет резкого убывания трофической активности с увеличением глубины расположения отверстий.

Форма временной зависимости. Наша исходная гипотеза о линейной форме зависимости между величиной потребления приманки и длительностью экспонирования подтвердилась только для фоновой территории (см. рис. 1 и табл. 2). В лабораторных экспериментах с энхитреидами и нативной почвенной фауной такая же линейная форма (в диапазоне от 3 до 14 дней) была установлена для оптимальной температуры и влажности почвы, но при менее благоприятных условиях зависимость отличалась от линейной [20]. Аналогичный вывод можно сделать и по результатам BLT в трех природных зонах: в интервале от 3 до 14 дней зависимость была линейной в неморальных ельниках, оптимальных по условиям увлажнения для крупных почвенных сапрофагов [22, 23], но в менее благоприятных местообитаниях — в засушливых биотопах на побережье Черного моря или в холодных переувлажненных лесах на побережье Белого моря — она отличалась от линейной [22]. Прослеживается аналогия между загрязненными участками и неблагоприятными для почвенных беспозвоночных местообитаниями естественного генезиса.

Наличие в фоновых условиях четко выраженного линейного участка в зависимости трофической активности от длительности экспонирования может свидетельствовать об однородности во времени процессов, которые лежат в основе BLT. Величина потребления приманки в локальной точке размещения пластины — это результирующая двух составляющих: наличия потребителей в ближайшей окрестности пластины в момент ее установки и средней по времени дистанции их перемещения. В свою очередь вероятность присутствия потребителей возле пластины в момент установки определяется их обилием и неравномерностью распределения в пространстве. Средняя дистанция перемещения зависит от размеров организмов, их специфики в отношении локомоции и поискового поведения, плотности и порозности почвы, ее влажности, наличия других доступных для потребления субстратов и многих других факторов. Другими словами, начальный период экспонирования — это “моментальный снимок” пространственного распределения потребителей приманки, а в дальнейшем, из-за перемещения животных, эти “снимки”, накладываясь друг на друга, формируют обобщенную оценку трофической активности.

Исходя из такой модели можно заключить, что на фоновой территории обилие сапрофагов высо-

кое и они относительно равномерно распределены в пространстве, поскольку уже на третий день зафиксировано значительное потребление приманки. Кроме того, высокое обилие сочетается с большой подвижностью беспозвоночных, о чем свидетельствует четко выраженное линейное увеличение потребления приманки от 3-го к 9-му дню. На загрязненной территории резко снижены и обилие сапрофагов (нулевое или чрезвычайно низкое потребление приманки в начальный период), и средняя дистанция их перемещений (отсутствие зависимости потребления приманки от времени). В свою очередь небольшая величина средней дистанции может быть следствием уменьшения и размеров сапрофагов (из-за изменения их состава), и их двигательной активности. Кроме того, отсутствие зависимости потребления приманки от времени также может быть следствием низкой плотности и/или высокой агрегированности беспозвоночных в пространстве, о чем свидетельствуют высокие значения коэффициентов вариации (см. рис. 2). Наша экспериментальная схема не позволяет строго разделить все эти составляющие — для этого необходимы специальные исследования.

Выход на плато зависимости потребления приманки от времени после 12 дней экспонирования (см. рис. 1) может быть следствием не только исчерпания субстрата для потребления, но и потери приманкой аттрактивности для беспозвоночных. Для верхнего 2-см слоя правдоподобно первое объяснение, поскольку в нем потребление приманки превышает 80%. Однако в нижележащих слоях потребление существенно меньше. Поскольку для них 15-й день также не отличается от 12-го дня, это косвенно свидетельствует о справедливости второй причины, но может быть следствием большой пространственной неоднородности потребления приманки (см. табл. 2). Для выявления причин насыщения временной зависимости также необходимы специальные исследования.

Методические следствия. Основное методическое следствие наших результатов заключается в возможности выбора оптимального срока для BLT. Максимальные различия между загрязненными и фоновыми участками, т.е. наиболее выраженное влияние загрязнения на трофическую активность сапрофагов, обнаружено при 9-дневном экспонировании. Следовательно, длительность экспонирования следует выбирать вблизи от этой величины, по крайней мере в диапазоне 7–11 дней. Отклонение от него как в большую, так и в меньшую сторону увеличивает риск ошибки второго рода при проверке статистических гипотез, т.е. можно сделать ошибочное заключение об отсутствии влияния загрязнения на трофическую активность.

Другой методический аспект связан с вопросом о допустимости приведения к единой размерности результатов BLT, выполненных при неодинаковых сроках экспонирования. Такую процедуру с помощью линейной интерполяции выполняют достаточно часто: например, при реальной длительности от 7 до 10 дней скорость выразили в %/7 дней [41], от 15 до 43 дней — в %/10 дней [11], от 33 до 42 дней — в %/28 дней [16]. Корректность такого преобразования полностью определяется тем, “попадают” ли реальный и интерполированный сроки на линейный участок временной зависимости. В нашем случае интерполяция корректна, во-первых, только для фоновой территории, во-вторых, только в диапазоне от 3 до 12 дней. Это означает, что при необходимости можно пересчитывать значения для фонового участка, но не для загрязненного, причем только убедившись в принадлежности срока экспонирования линейному участку, а не выходу на плато.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Характер зависимости доли потребленной приманки от длительности экспонирования кардинально различается между фоновой территорией, где зарегистрирована четкая линейная связь, и загрязненными участками, где связь отсутствует. Это обусловлено не только разницей в обилии, но и в составе сообществ почвенных сапрофагов.

Из наших результатов вытекают два важных методических следствия. Во-первых, длительность экспонирования влияет на выводы о величине и статистической значимости различий между фоновой и загрязненной территориями. Различия между сравниваемыми участками максимально проявляются при сроке 9 дней, поэтому именно вблизи него, т.е. в диапазоне 7–11 дней, целесообразно выбирать продолжительность BLT. Отклонения от этого интервала как в большую, так и меньшую сторону нежелательны: при большей длительности занижается скорость потребления приманки на фоновой территории, при меньшей сильно сказывается стохастичность процессов на загрязненных участках, обусловленная низким обилием сапрофагов и неравномерностью их пространственного распределения. Во-вторых, следует осторожно применять расчетные преобразования исходных значений трофической активности с целью их приведения к единой размерности: допустимо пересчитывать фоновые значения для приведения к сроку экспонирования на загрязненном участке, но не наоборот.

Необходимо подчеркнуть, что в нашей работе трофическая активность почвенных сапрофагов не была лимитирована климатическими факторами, поскольку погодные условия оказались близки к климатической норме. Кроме того, именно на начало вегетационного периода, когда были

проведены измерения, обычно приходится пик обилия крупных почвенных беспозвоночных. Следовательно, сделанные выводы касаются именно такой ситуации, и необходима их верификация для не столь оптимальных условий, например засушливых или холодных периодов. Важно также оценить воспроизводимость результатов в других типах растительных сообществ и других природных зонах, помимо исследованных южно-таежных ельников.

С одной стороны, наши результаты касаются частного случая — загрязненных территорий вблизи конкретного медеплавильного завода. Однако, с другой стороны, сильно загрязненные тяжелыми металлами территории по степени влияния на функциональную активность почвенной фауны аналогичны другим негативным видам антропогенных воздействий. В любом случае в нашей работе продемонстрирована важность и перспективность “инкорпорирования” времени в BLT: это позволяет не только избежать смещений, но и получить дополнительную информацию (например, длительность лаг-периода, угол наклона прямой, время выхода зависимости на плато), которая может быть полезной в оценке здоровья почв.

Мы признательны В.С. Микрюкову, К.Б. Гонгальскому и А.И. Ермакову за обсуждение и комментарии к тексту рукописи. Мы с благодарностью вспоминаем Андрея Дмитриевича Покаржевского (1946–2006), который в середине 2000-х познакомил нас с перспективами и тонкостями bait-lamina test. Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН, анализ данных и подготовка рукописи завершены при поддержке РФФИ (проект № 19-29-05175). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Von Törne E. Assessing feeding activities of soil-living animals. 1. Bait-lamina-tests // *Pedobiologia*. 1990. V. 34. № 2. P. 89–101.
2. Firbank L.G., Bertora C., Blankman D. et al. Towards the co-ordination of terrestrial ecosystem protocols across European research infrastructures // *Ecology and Evolution*. 2017. V. 7. № 11. P. 3967–3975.
3. Griffiths B.S., Römbke J., Schmelz R.M. et al. Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function // *Ecol. Indicators*. 2016. V. 69. P. 213–223.
4. Ritz K., Black H.I.J., Campbell C.D. et al. Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development // *Ecol. Indicators*. 2009. V. 9. № 6. P. 1212–1221.
5. Boshoff M., De Jonge M., Dardenne F. et al. The impact of metal pollution on soil faunal and microbial activity

- in two grassland ecosystems // *Environ. Res.* 2014. V. 134. P. 169–180.
6. *Filzek P.D.B., Spurgeon D.J., Broll G.* et al. Metal effects on soil invertebrate feeding: Measurements using the bait lamina method // *Ecotoxicology*. 2004. V. 13. № 8. P. 807–816.
 7. *Niemeyer J.C., Nogueira M.A., Carvalho G.M.* et al. Functional and structural parameters to assess the ecological status of a metal contaminated area in the tropics // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012. V. 86. P. 188–197.
 8. Гонгальский К.Б., Филимонова Ж.В., Покаржевский А.Д., Бутковский Р.О. Различия реакции герпетобионтов и геобионтов на воздействие Косогорского металлургического комбината (Тульская область) // *Экология*. 2007. № 1. С. 55–60.
 9. Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms — Bait-lamina test. ISO 18311. Geneva: International Organization for Standardization, 2016. 16 p.
 10. *Thakur M.P., Reich P.B., Hobbie S.E.* et al. Reduced feeding activity of soil detritivores under warmer and drier conditions // *Nature Climate Change*. 2018. V. 8. № 1. P. 75–78.
 11. *Helling B., Pfeiff G., Larink O.* A comparison of feeding activity of collembolan and enchytraeid in laboratory studies using the bait-lamina test // *Appl. Soil Ecol.* 1998. V. 7. № 3. P. 207–212.
 12. *Eisenhauer N., Wirsch D., Cesarz S.* et al. Organic textile dye improves the visual assessment of the bait-lamina test // *Appl. Soil Ecol.* 2014. V. 82. P. 78–81.
 13. *André A., Antunes S.C., Gonçalves F.* et al. Bait-lamina assay as a tool to assess the effects of metal contamination in the feeding activity of soil invertebrates within a uranium mine area // *Environ. Pollut.* 2009. V. 157. № 8–9. P. 2368–2377.
 14. *Römcke J., Höfert H., Garcia M.V.B.* et al. Feeding activities of soil organisms at four different forest sites in Central Amazonia using the bait lamina method // *J. Trop. Ecol.* 2006. V. 22. № 3. P. 313–320.
 15. *Niklińska M., Klimek B.* Dynamics and stratification of soil biota activity along an altitudinal climatic gradient in West Carpathians // *J. Biol. Res.* 2011. V. 16. P. 177–187.
 16. *Rozen A., Sobczyk T., Liszka K.* et al. Soil faunal activity as measured by the bait-lamina test in monocultures of 14 tree species in the Siemianice common-garden experiment, Poland // *Appl. Soil Ecol.* 2010. V. 45. № 3. P. 160–167.
 17. *Niemeyer J.C., de Santo F.B., Guerra N.* et al. Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment // *Chemosphere*. 2018. V. 198. P. 154–160.
 18. *Hamel C., Schellenberg M.P., Hanson K.* et al. Evaluation of the “bait-lamina test” to assess soil microfauna feeding activity in mixed grassland // *Appl. Soil Ecol.* 2007. V. 36. № 2–3. P. 199–204.
 19. *Welsch J., Songling C., Buckley H.L.* et al. How many samples? Soil variability affects confidence in the use of common agroecosystem soil indicators // *Ecol. Indicators*. 2019. V. 102. P. 401–409.
 20. *Gongalsky K.B., Persson T., Pokarzhevskii A.D.* Effects of soil temperature and moisture on the feeding activity of soil animals as determined by the bait-lamina test // *Appl. Soil Ecol.* 2008. V. 39. № 1. P. 84–90.
 21. *Van Gestel C.A.M., Kruidenier M., Berg M.P.* Suitability of wheat straw decomposition, cotton strip degradation and bait-lamina feeding tests to determine soil invertebrate activity // *Biol. Fertility Soils*. 2003. V. 37. № 2. P. 115–123.
 22. *Gongalsky K.B., Pokarzhevskii A.D., Filimonova Z.V., Savin F.A.* Stratification and dynamics of bait-lamina perforation in three forest soils along a north-south gradient in Russia // *Appl. Soil Ecol.* 2004. V. 25. № 2. P. 111–122.
 23. Гонгальский К.Б., Покаржевский А.Д., Савин Ф.А., Филимонова Ж.В. Пространственное распределение животных и изменчивость трофической активности, измеренной при помощи bait-lamina test, в дерново-подзолистой почве под ельником // *Экология*. 2003. № 6. С. 434–444.
 24. Воробейчик Е.Л., Трубина М.Р., Хантемирова Е.В., Бергман И.Е. Многолетняя динамика лесной растительности в период сокращения выбросов медеплавильного завода // *Экология*. 2014. № 6. С. 448–458.
 25. *Korkina I.N., Vorobeichik E.L.* Humus Index as an indicator of the topsoil response to the impacts of industrial pollution // *Appl. Soil Ecol.* 2018. V. 123. P. 455–463.
 26. Воробейчик Е.Л., Кайгородова С.Ю. Многолетняя динамика содержания тяжелых металлов в верхних горизонтах почв в районе воздействия медеплавильного завода в период снижения его выбросов // *Почвоведение*. 2017. № 8. С. 1009–1024.
 27. *Dulya O.V., Bergman I.E., Kukarskih V.V.* et al. Pollution-induced slowdown of coarse woody debris decomposition differs between two coniferous tree species // *Forest Ecology and Management*. 2019. V. 448. P. 312–320.
 28. *Mikryukov V.S., Dulya O.V.* Contamination-induced transformation of bacterial and fungal communities in spruce-fir and birch forest litter // *Appl. Soil Ecol.* 2017. V. 114. P. 111–122.
 29. Бергман И.Е., Воробейчик Е.Л. Влияние выбросов медеплавильного завода на формирование запаса и разложение крупных древесных остатков в елово-пихтовых лесах // *Лесоведение*. 2017. № 1. С. 24–38.
 30. Воробейчик Е.Л., Ермаков А.И., Гребенников М.Е. Начальные этапы восстановления сообществ почвенной мезофауны после сокращения выбросов медеплавильного завода // *Экология*. 2019. № 2. С. 133–148.
 31. Воробейчик Е.Л., Ермаков А.И., Нестеркова Д.В., Гребенников М.Е. Крупные древесные остатки как микростации обитания почвенной мезофауны на загрязненных территориях // *Изв. РАН. Сер. биологическая*. 2020. № 1. С. 85–95.
 32. Воробейчик Е.Л., Нестеркова Д.В. Техногенная граница распространения крота в районе воздействия медеплавильного завода: смещение в период сокращения выбросов // *Экология*. 2015. № 4. С. 308–312.

33. Förster B., Van Gestel C.A.M., Koolhaas J.E. et al. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) – an instrument for testing potentially harmful substances: Effects of carbendazim on organic matter breakdown and soil fauna feeding activity // *Ecotoxicology*. 2004. V. 13. № 1–2. P. 129–141.
34. Кузнецова Н.А. Население почвообитающих коллембол в градиенте загрязнения хвойных лесов выбросами Среднеуральского медеплавильного завода // *Экология*. 2009. № 6. С. 439–448.
35. Воробейчик Е.Л., Ермаков А.И., Золотарев М.П., Тунева Т.К. Изменение разнообразия почвенной мезофауны в градиенте промышленного загрязнения // *Rus. Entomol. J.* 2012. V. 21. № 2. P. 203–218.
36. Kapusta P., Sobczyk L. Effects of heavy metal pollution from mining and smelting on enchytraeid communities under different land management and soil conditions // *Sci. Total Environ.* 2015. V. 536. P. 517–526.
37. Salminen J., Haimi J. Horizontal distribution of copper, nickel and enchytraeid worms in polluted soil // *Environ. Pollut.* 1999. V. 104. № 3. P. 351–358.
38. Стриганова Б.Р. Закономерности строения органов питания личинок жесткокрылых. М.: Наука, 1965. 128 с.
39. Самойлова Е.С. Трофическая экология личинок жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) // *Успехи современной биологии*. 2018. Т. 138. № 1. С. 95–111.
40. Воробейчик Е.Л., Ермаков А.И., Гребенников М.Е. и др. Реакция почвенной мезофауны на выбросы Среднеуральского медеплавильного комбината // *Биологическая рекультивация и мониторинг нарушенных земель: Мат-лы междунар. научн. конф. Екатеринбург, 2007. С. 128–148.*
41. Larink O., Sommer R. Influence of coated seeds on soil organisms tested with bait lamina // *Eur. J. Soil Biol.* 2002. V. 38. № 3–4. P. 287–290.