

*На правах рукописи*

ТИУНОВ Алексей Владимирович

**МЕТАБИОЗ В ПОЧВЕННОЙ СИСТЕМЕ:  
ВЛИЯНИЕ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ НА СТРУКТУРУ И  
ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПОЧВЕННОЙ БИОТЫ**

Специальность: 03.00.16 – экология

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук**

**Москва – 2007**

Работа выполнена в лаборатории почвенной зоологии  
и экспериментальной энтомологии  
Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
Л.О. Карпачевский

доктор биологических наук, профессор  
Б.Д. Абатуров

доктор биологических наук, профессор  
В.Г. Мордкович

Ведущее учреждение: Московский Педагогический  
Государственный Университет

Защита диссертации состоится 29 мая 2007 г. в 14 часов на заседании Диссертационного совета Д 002.213.01 при Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу:

119071, Москва, В-71, Ленинский проспект, дом 33.

Телефон/факс: (495) 952-35-84

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2007 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Т. П. Крапивко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность проблемы.**

Почвенные сообщества отличаются высоким таксономическим разнообразием и сложностью экологических взаимодействий (Ghilarov 1977; Wardle 2002). Особенности почвы как среды обитания определяют приоритетную важность биоценологических связей, осуществляемых путем модификации состояния среды (Гиляров 1949, 1965; Swift et al. 1979). Этот тип экологических отношений носит название метабиоз (Garrè 1887; Waid 1999). Метабиотические взаимодействия играют ключевую роль в функционировании и формировании структуры экосистем (Беклемишев 1951; Стебаев 1979; Jones et al. 1994; Смирнова 1998; Стриганова 2006), однако они до сих пор чрезвычайно слабо изучены как в качественном, так и в количественном отношении.

Дождевые черви относятся к наиболее известным, хорошо изученным и хозяйственно важным представителям почвенной фауны. Огромный вклад дождевых червей в формирование структуры почвы и развитие почвенного профиля был показан еще в классических работах исследователей 19 века (Hänsen 1877; Darwin 1881; Müller 1887; Высоцкий 1899). Влияние дождевых червей на микробную активность почвы и продуктивность растений исследовалось в сотнях экспериментов (Зражевский 1957; Атлавините 1975; Козловская 1976; Lee 1985; Edwards and Bohlen 1996), тем не менее, механизмы и закономерности этого влияния остаются недостаточно понятными (Doube and Brown 1998; Scheu 2003; McLean et al. 2006). Проблема особенно актуальна в связи с развитием зоологических методов мелиорации почв (Гиляров 1976, 1979; Edwards and Bater 1992; Baker et al. 2006) и широким распространением вермикультивирования органических отходов (Lofs-Holmin 1985; Морев 1990; San Zhenjun 2004; Тиунов 2004).

Дождевые черви являются типичными представителями функциональной группы средообразователей или "экосистемных инженеров", прямой вклад которых в метаболизм (дыхание) почвенного сообщества относительно невелик (Persson and Lohm 1977; Petersen and Luxton 1982), а основная экологическая роль состоит в модификации среды обитания других компонентов почвенной биоты (Brussaard 1998; Lavelle and Spain 2001; Wardle 2002). Однако системное количественное описание закономерностей и механизмов влияния средообразующей деятельности дождевых червей и других крупных почвенных беспозвоночных на функционирование отдельных групп и всего комплекса почвенной биоты остается в зачаточном состоянии. Это связано с разнообразием форм средообразования, трудностью формализации и измерения напряженности метабиотических связей, а также существенной разницей в методологии исследований средообразующей деятельности живых организмов и их биотических отношений.

**Целью** работы является выявление основных закономерностей и механизмов влияния средообразующей деятельности дождевых червей на структуру и функционирование почвенных сообществ.

Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

§ На примере дождевых червей проанализировать основные формы влияния крупных почвенных беспозвоночных на другие компоненты гетеротрофной почвенной биоты.

§ Выявить особенности состава, функционирования и динамики микробного населения зоогенных почвенных структур разного масштаба (копролиты и стенки нор дождевых червей) в разных типах почвы. Оценить характер преобразования среды в зоогенных структурах.

§ Выявить механизмы влияния животных на состав и функционирование микробного населения в зоогенных почвенных структурах. Оценить (в том числе экспериментально) относительную значимость трофических и метабиотических механизмов.

§ Оценить влияние зоогенной мозаичности почвенного покрова на пространственное распределение и таксономическую структуру ключевых групп почвенного населения: бактерий, микромицетов, нематод, простейших, представителей мезо- и макрофауны.

#### **Научная новизна.**

На примере модельного вида *L. terrestris* впервые проведено комплексное исследование влияния крупных почвенных беспозвоночных-средообразователей на популяции всех основных функциональных и размерных групп почвенного населения – от бактерий и микромицетов до насекомых и олигохет. Установлены основные механизмы формирования микробного и животного населения в зоогенных почвенных структурах, создаваемых дождевыми червями.

Впервые дана сравнительная количественная оценка значимости трофических и метабиотических механизмов воздействия дождевых червей на микробные сообщества. Это позволило существенно скорректировать традиционные представления о влиянии дождевых червей на микробную активность почвы. В частности, установлено, что прохождение почвы и опада через кишечный тракт дождевых червей не оказывает существенного воздействия на общее обилие и таксономический состав микроорганизмов.

Дана количественная оценка степени механического разрушения растительных остатков в кишечнике дождевых червей. Показано, что увеличение содержания подвижных форм азота и высокая активность (дыхание) микроорганизмов в свежих копролитах модельного вида *L. terrestris* на 50-65% определяется механическим измельчением растительных остатков. Впервые показа-

но, что размер частиц влияет на характер зависимости скорости деструкции растительных остатков от их разнообразия (числа видов в смеси).

Показано, что химические и микробиологические свойства стенок нор дождевых червей определяются преимущественно транслокацией органического вещества с поверхности почвы в минеральные горизонты. Таксономический состав бактерий, микромицетов и нематод в стенках нор неспецифичен, существенно различается в разных биоценозах, и определяется в основном свойствами почвы и растительного опада.

Установлено, что концентрация органического вещества вокруг нор дождевых червей влияет на пространственное распределение почвенных беспозвоночных, однако влияние зоогенной мозаичности почвенного покрова на таксономическую структуру животного населения почвы невелико.

### **Основные положения, выносимые на защиту.**

Влияние дождевых червей на другие компоненты почвенной биоты осуществляется комплексом взаимосвязанных механизмов, относительная значимость которых поддается количественной оценке. Обилие, таксономический состав и активность микробного и животного населения зоогенных почвенных структур, формируемых дождевыми червями (норы, копролиты), определяется действием ограниченного набора ключевых факторов: измельчением растительных остатков и перемешиванием их с минеральной почвой в кишечнике, вовлечением органического вещества в минеральную почву в форме выстилки нор, перераспределением растительных остатков на поверхности почвы.

Изменения состава и обилия микробных сообществ почвы и опада при прохождении через кишечник дождевых червей в незначительной степени определяются собственно трофическим воздействием. Обилие и таксономический состав микроорганизмов в копролитах червей можно с большой точностью предсказать на основании соответствующих параметров в потребляемых субстратах.

Стенки нор дождевых червей отличаются от окружающей почвы по химическому составу, ферментативной активности, а также по обилию, активности и таксономическому составу микробного населения. Параметры микробной активности в стенках нор весьма стабильны во времени. Состав микробного населения стенок нор неспецифичен и существенно различается в разных типах почвы и на разных глубинах. Увеличение обилия почвенных животных вокруг нор *L. terrestris* не сопровождается существенными перестройками таксономической структуры сообщества.

**Теоретическое и прикладное значение работы.** Понимание основных закономерностей функционирования детритного блока экосистем невозможно без комплексного исследования всех типов взаимодействий между компонентами почвенной биоты. Разрабатываемый в работе подход позволяет запол-

нить лауну между исследованиями средообразующей деятельности почвенных организмов и биотических отношений в почве, и интегрировать нетрофические отношения в общие количественные представления о функционировании экосистем. Результаты работы позволяют в значительной степени пересмотреть принятые представления о ключевых механизмах влияния дождевых червей и других крупных почвенных беспозвоночных на микробную активность, интенсивность процессов трансформации органического вещества и плодородие почвы.

Практическое значение работы определяется использованием дождевых червей для зоологической мелиорации почв, и широким распространением культивирования дождевых червей для переработки органических отходов и получения органических удобрений. Результаты работы позволили предложить ряд методов оптимизации процесса вермикомпостирования. Кроме того, результаты работы важны для предсказания и предотвращения нежелательных последствий инвазии чужеродных видов дождевых червей.

**Публикации и апробация работы.** По теме диссертации опубликовано 52 научные работы, включая 30 статей в рецензируемых российских и международных научных журналах. Материалы диссертации были доложены на IX, X, XII и XIII Всесоюзных и Всероссийских совещаниях по почвенной зоологии; на XI, XII, XIII и XIV Международных коллоквиумах по почвенной зоологии; V, VII, и VIII Международных симпозиумах по экологии дождевых червей; IX Европейском экологическом конгрессе; III и IV Съездах Докучаевского общества почвоведов; на научно-практических конференциях (Киев 1991, Екатеринбург 1993, Владимир 2004); на многочисленных тематических конференциях и семинарах, а также на межлабораторном коллоквиуме ИПЭЭ РАН.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, двух обзорных глав, методов, семи глав с изложением результатов экспериментальных исследований и их обсуждением, заключения и выводов. Рукопись на 294 страницах включает 52 рисунка и 54 таблицы. Список литературы содержит 618 работ, в том числе 498 на иностранных языках.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1. Концепция метабиоза. Метабиотические отношения в почве

Термин "метабиоз" (от греческого *metá* - после, через, между) был предложен швейцарским микробиологом Гарре (Garrè 1887)<sup>1</sup>. В настоящей работе

---

<sup>1</sup> Этот же термин был использован В.В. Хлебниковым (1910) для обозначения [экологических] отношений "в которых из послесуществования какой-нибудь жизнью другой жизни для этой первой вытекают отношения выгоды".

мы используем термин в следующем понимании: *метабиоз есть форма экологических связей, при которых один организм (видовая популяция) влияет на другой организм (видовую популяцию) посредством преобразования среды обитания*. В таком понимании этот краткий термин максимально широко охватывает вполне определенный класс явлений и не включает двусмысленного понятия "инженерия" (см. ниже). Несмотря на долгую историю термина, он не нашел широкого применения в общей экологии, и используется редко, главным образом микробиологами. Попытку реактивации термина в почвенной биологии недавно предпринял Дж. Вайд (Waid 1997; 1999).

Основные характеристики метабиотических связей таковы:

- (1) Метабиотические взаимодействия осуществляются посредством модификации кондиционирующим видом среды обитания зависимых видов.
- (2) Мерой напряженности метабиотических взаимодействий служит не степень модификации среды, но изменения популяционных параметров зависимых видов.
- (3) Метабиотические связи могут действовать как при тесном соседстве, так и на большом удалении участников в пространстве или во времени.
- (4) Метабиотические связи могут быть диффузными или связывать вполне определенные пары или группы участников. Воздействие кондиционирующего вида на зависимые неизбирательно, хотя зависимые виды часто вырабатывают специальные адаптации к определенным модификациям среды.
- (5) Положительное или отрицательное обратное влияние зависимых видов на кондиционирующий возможно, но не имеет принципиального значения для характеристики связи.

Все без исключения живые организмы модифицируют среду обитания других видов, и тем самым влияют на них. Сила метабиотических связей может варьировать от неизмеримо малой до определяющей само существование зависимого вида. Выделение "важных" и "неважных" метабиотических связей неизбежно зависит от объекта и задачи конкретного исследования. Практически удобным подходом является замена субъективной оценки "важный – неважный" статистически решаемой задачей "достоверный – недостоверный".

Близко к понятию метабиоза примыкает концепция "инженерной деятельности" (ecosystem engineering; Jones et al. 1994, Wright et al. 2006). Однако ее основной смысл заключается не в описании или измерении влияния одного вида на другой посредством модификации среды, а последовательное рассмотрение двухэтапного процесса: вначале влияния "инженера" на среду (=средообразование), а затем влияние модифицированной среды на другие организмы (Wright and Jones 2006).

Важность метабиотических отношений в почве определяется рядом обстоятельств, в том числе насыщенностью живыми организмами, пространст-

венной ограниченностью обитаемого слоя, большим количеством активных средообразователей на всех трофических уровнях, и физическими свойствами среды, которые способствуют длительной фиксации биогенных структур. Кроме того, в почве преобладают детритные пищевые цепи, что снижает важность регуляторных функций трофических взаимодействий (Laakso and Setälä 1999; Wardle 2002; Setälä 2002; Moore et al. 2004).

Исследование средообразующей деятельности почвенных животных и ее значения для функционирования почвенных сообществ и динамики почвенных процессов началось задолго до появления концепций экосистемного инжинеринга и даже метабиоза (Darwin 1837, 1881; Докучаев 1900; Димо и Гордеев 1905; Димо 1916; Вернадский 1939; Гиляров 1939, 1949; Graff 1983). Живое вещество почвы, продукты жизнедеятельности живых организмов, органическое вещество на разной стадии деструкции и, наконец, минеральная фракция делимы только теоретически или аналитически. В силу этого любая модификация почвенной среды сопровождается прямым воздействием на живые организмы. Тем не менее, под термином "средообразование" обычно подразумевается физическое преобразование абиотических или мертвых компонентов почвенного покрова (минеральная почва, подстилка, растительные остатки).

К наиболее активным средообразователям обычно относят самых крупных представителей почвенной фауны, радикально преобразующих физическое состояние почвенной среды своей локомоторной, строительной или пищевой активностью. Одна из наиболее распространенных форм средообразования – потребление пищи (почвы и органических остатков) и формирование самых обильных и четко выраженных зоогенных структур почвы: экскрементов или копролитов. При прохождении через кишечник животных почва и растительные остатки подвергаются физической трансформации, воздействию пищеварительных ферментов и ферментов кишечной микрофлоры, происходит ассимиляция питательных веществ, экскреция продуктов обмена, увлажнение, и другие процессы. Однако у дождевых червей пищеварительный тракт выполняет не только трофическую, но и локомоторную функцию. При передвижении сквозь плотный субстрат животные в буквальном смысле "проедают" свои ходы (Dexter 1978; Martin 1982; Kretzschmar 1991). При этом пропускаемый через пищеварительный тракт материал может вообще не содержать питательных веществ. Таким образом, для почвенных сапрофагов пропускание субстрата через кишечник не обязательно связано с питанием этим субстратом. Даже при питании пища как таковая часто составляет очень небольшую долю поглощаемого материала. Стратегия питания многих видов почвенных сапрофагов, в том числе дождевых червей, состоит в быстром пропускании через кишечник больших объемов субстрата и ассими-

ляции лишь наиболее легкоусвояемой фракции (Bolton and Phillipson 1976; Cortez et al. 1989; Tiunov and Scheu 2004).

В этой работе мы называем трофическими те связи и процессы, которые сопряжены непосредственно с питанием и ассоциированными физиологическими функциями (пищеварение, ассимиляция, экскреция продуктов обмена и пр.). Другие формы воздействия на живые и косные компоненты почвы, проходящие через кишечник дождевых червей (механическое разрушение без существенного изменения химического состава, перемешивание разных субстратов и т.д.) рассматриваются как нетрофические.

## **Глава 2. Влияние дождевых червей на основные группы гетеротрофного почвенного населения (обзор литературы)**

В главе дается краткий обзор экологии дождевых червей разных морфо-экологических групп и особенностей биологии основного модельного объекта – норного червя *Lumbricus terrestris* L. Основное место уделено анализу опубликованных данных по влиянию дождевых червей на другие компоненты почвенной биоты. Это влияние осуществляется комплексом взаимосвязанных механизмов, среди которых можно выделить следующие основные факторы:

1. Прямые взаимодействия.

1.1. **Трофические связи.** Микроорганизмы, простейшие и более крупные почвенные животные составляют важный компонент пищи дождевых червей (Стриганова 1980; Lavelle 1981; Bonkowski and Schaefer 1997; Pokarzhevskii et al. 1997; Dalby et al. 1998). Сами черви являются пищевым объектом (и промежуточным хозяином паразитов) широкого спектра хищных и всеядных животных (Грюнталь и Сергеева 1989; Judas 1989; Черенков и др. 1995).

1.2. **Экскреция** мукуса, продуктов азотного обмена и других метаболитов может стимулировать или подавлять микробную активность в кишечнике, копролитах и на стенках нор дождевых червей (Martin et al. 1986; Lavelle 1988; Стриганова и др. 1988; Scheu 1991; Schrader 1995), а также привлекать разнообразных хищников и комменсалов (Morris and Pivnick 1991; Salmon 2001).

1.3. Показаны **конкурентные** отношения между разными видами дождевых червей, а также между червями и энхитреидами (Abbot 1980; Huhta and Viberg 1999; Lowe and Butt 1999; Uvarov et al. 2002). Эндогеиные черви могут конкурировать за легкодоступный углерод с сапротрофными микроорганизмами (Tiunov and Scheu 2004) и коллемболами (Richter et al. 2004).

1.4. **Форезия.** Черви могут принимать участие в распространении бактерий (Henschke et al. 1989; Heijnen and Marinissen 1995), микоризных и фитопатогенных грибов (Gange 1993; Toyota and Kimura 1994), нематод (Shapiro et al. 1993), а также семян растений (Willems and Huijsmans 1994; Milcu et al. 2006).

1.5. Прямое **физическое воздействие.** Предполагается, что во многих случаях влияние дождевых червей на почвенные грибы определяется физическим на-

рушением мицелиальной сети (McLean and Parkinson 2000; Tuffen et al. 2002). Отрицательное влияние дождевых червей на панцирных клещей может быть связано с фактором беспокойства (Migge 2001; Maraun et al. 1999, 2003).

2. Метабиотические воздействия.

2.1. Дождевые черви принимают активное участие в **развитии почвенного профиля**, модифицируя условия жизни всех обитателей почвы. Количественные аспекты этого широкомасштабного влияния дождевых червей на почвенную биоту пока мало исследованы (Всеволодова-Перель и Сиземская 1989; Migge-Kleian et al. 2006; Frelich et al. 2006).

2.2. **Измельчение** растительных остатков повышает микробную активность, влияет на состав микроорганизмов, изменяет качество пищевых ресурсов и условия жизни обитателей подстилки (Satchell 1967; Swift et al. 1979; Стриганова 1980; Lee 1985).

2.3. Деятельность червей (особенно эндогейных и норных) влияет на **структуру** минеральной почвы (размер и прочность агрегатов, распределение порового пространства и т.д.). Это отражается на активности и обилии микроорганизмов, микрофитофагов и более крупных почвенных животных (Marinissen and Bok 1988; Clarholm 1995; Стриганова 2000; Görres et al. 2001).

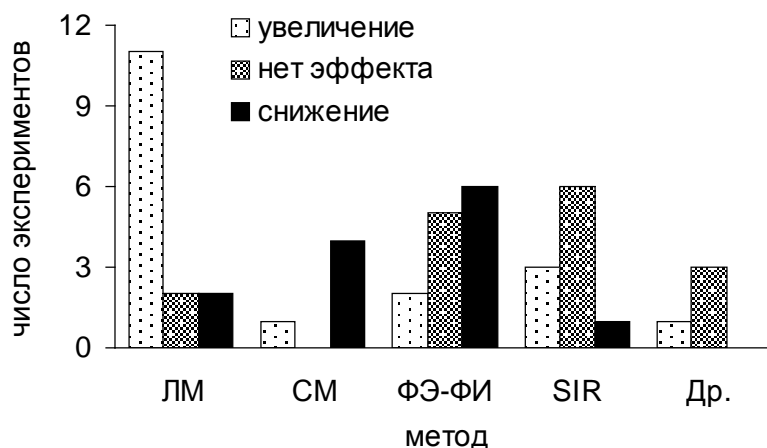
2.4. Норы червей формируют систему **макропор** и полостей, которые обеспечивают аэрацию и дренаж влаги, облегчают рост корней и передвижение (активное и пассивное) почвенных животных и микроорганизмов (Edwards and Lofty 1980; Lee 1985; Joergensen et al. 1998; Salmon et al. 2005).

2.5. Деятельность червей влияет на степень **гетерогенности среды** и характер пространственного размещения пищевых и иных ресурсов. Это отражается на разнообразии и функционировании почвенной биоты (Jegou et al. 1998; Sulkaiva and Huhta 1998; Crooks 2002; Hewitt et al. 2005).

2.6. **Погребение** растительных остатков способствует уменьшению толщины подстилки, повышению микробной активности в минеральных горизонтах, а также дезактивации (но и длительному сохранению покоящихся стадий) фитопатогенных грибов и насекомых (Hirst and Stedman 1962; Kennel 1990; Laing et al. 1986; Frelich et al. 2006).

Метабиотическое влияние дождевых червей на функционирование почвенной биоты более значимо, чем прямое (Brussaard 1998; Lavelle and Spain 2001; Meysman et al. 2006). Однако формы и механизмы метабиотических связей весьма разнообразны и очень плохо исследованы, особенно в количественном отношении. Несмотря на значительный объем накопленных данных, существующие представления об общих закономерностях влияния дождевых червей на таксономический состав, обилие и активность других компонентов почвенной биоты весьма неполны и часто противоречивы. В частности, традиционные представления об увеличении обилия микроорганизмов в копролитах

червей по сравнению с почвой (Козловская 1976; Satchell 1983) далеко не всегда соответствуют действительности (Рис. 2.1).



**Рис. 2.1.** Оценка влияния прохождения почвы или опада через пищеварительный тракт дождевых червей на общее обилие микроорганизмов зависит от метода исследования. Собственные и литературные данные. ЛМ: люминесцентная микроскопия; СМ: световая микроскопия; ФЭ-ФИ: фумигация-экстракция или фумигация-инкубация; SIR: субстратно-индуцированное дыхание. Многочисленные работы с применением метода посева (не показано на рисунке) фиксируют увеличение числа КОЕ почти в 100% случаях.

### Глава 3. Основные методы

Работа базируется на экспериментальном материале, собранном в течение 20 лет в рамках нескольких исследовательских проектов. Многие исследования были проведены в сотрудничестве с зоологами и микробиологами МГУ, МПГУ, Университетов Гёттингена и Дармштадта. Результаты этих исследований отражены в совместных публикациях. **Полевые исследования** и сбор материала для лабораторных экспериментов проводили главным образом в окрестностях Малинской биогеоценологической станции ИПЭЭ РАН (около 30 км к югу от Москвы). Почвенный и растительный покров Малинской станции подробно описаны (Дылис 1971). Основные работы вели в 110-130 летнем липовом лесу на дерново-подзолистой почве. Кроме того, в окрестностях биостанции работы проводили в сложной дубраве и смешанном елово-широколиственном лесу. Исследования проводили также в буковом лесу на перегнойно-карбонатной почве (Göttinger Wald) в Нижней Саксонии, ФРГ (Schaefer 1991). Численность *L. terrestris* во всех перечисленных биогеоценозах довольно высока. В окрестностях Малинской биостанции она достигает 30-35 экз. на м<sup>2</sup>; в буковом лесу – около 20 экз. на м<sup>2</sup> (Черенков и др. 1995; Tiunov and Scheu 1999; Тиунов и Кузнецова 2000). **Лабораторные эксперимен-**

ты проводили в ИПЭЭ РАН и в Институте зоологии Гёттингенского университета. В длительных экспериментах (главы 6 - 8) использовали почву верхнего минерального горизонта (глубина 3-8 см), из липового или букового леса, и взрослых *L. terrestris*, собранных методом формалиновой экстракции (Raw 1959). Пищей для дождевых червей служил перезимовавший липовый или буковый опад. Эксперименты проводили в плоских контейнерах из прозрачного пластика (камеры Эванса) с внутренними размерами 650 (высота) × 310 × 10 мм. Контейнеры были заполнены просеянной через сито 4 мм почвой до высоты 500 мм, на поверхность почвы был помещен опад. Контейнеры содержали в темноте при постоянной температуре 15°C. В кратковременных экспериментах червей содержали в стеклянных или пластиковых контейнерах емкостью от 1 до 10 литров.

**Химические анализы.** Общее содержание углерода и азота определяли с помощью элементного анализатора. Содержание подвижных форм азота определяли по Кьельдалю паровой отгонкой и титрованием (Keeney and Nelson 1982). Минеральный фосфор определяли колориметрически с молибденовым реактивом (Olsen and Sommers 1982). Для определения **размера частиц опада** в копролитах червей пробу материала разводили в теплой воде до получения однородной взвеси. Около 0.2 мл взвеси отбирали широкой пипеткой и помещали на предметное стекло. Размер частиц был измерен с помощью окуляр-микрометра при 100× увеличении. Мерой величины фрагмента служило произведение его наибольшей длины на наибольшую ширину (мм<sup>2</sup>).

**Определения биомассы и активности микроорганизмов.** Для прямого подсчета числа бактериальных клеток, длины грибного мицелия, и объема микроорганизмов применяли два варианта метода **люминесцентной микроскопии** (Звягинцев 1991; Scheu and Parkinson 1994). Грибной мицелий окрашивали калькофлюором белым, бактериальные клетки – акридином оранжевым. Эти красители окрашивают как живые, так и мертвые клетки. Микроскопию проводили при увеличении 1000× (бактерии) и 400× (грибы). Длину мицелия оценивали по числу пересечений линий окулярной сетки (Olson 1950). Объем бактериальных клеток и диаметр грибного мицелия измеряли с помощью программы анализа видеоизображения после дополнительного увеличения (общее увеличение для бактерий 5400×, для грибов 2100×).

Метод **фумигации-инкубации** (Jenkinson and Powlson 1976) применяли главным образом для калибровки других методов. Основным методом определения микробной биомассы в почве и других субстратах был метод **субстратно-индуцированного дыхания** (SIR, Anderson and Domsch 1978). Достоверная корреляция (как правило,  $r > 0.800$ ) между оценкой микробной биомассы методом SIR и другими методами была показана в ряде специальных исследований (West et al. 1986; Kaiser et al. 1992; Beck et al. 1997), и подтверждена на-

шими собственными данными (Tiunov and Scheu 2000). При проведении анализов мы следовали модифицированному протоколу с использованием автоматического многоканального респирометра с электролитической компенсацией (Scheu 1992). Микробную биомассу ( $C_{\text{мик}}$ , мкг г<sup>-1</sup>) вычисляли как  $38 \times \text{IRR}^1$  (мкл O<sub>2</sub> г<sup>-1</sup> час<sup>-1</sup>) (Beck et al. 1997). **Базальное дыхание** определяли как среднее потребление кислорода (мкл или мкг O<sub>2</sub> г<sup>-1</sup> час<sup>-1</sup>) субстратом без добавления глюкозы. В ряде экспериментов интенсивность дыхания измеряли абсорбционным методом по количеству выделяемого CO<sub>2</sub> (Alef 1995).

**Доступность основных биогенных элементов для микроорганизмов** оценивали по динамике микробного дыхания после добавления углерода, азота и фосфора в комбинациях C, C+N, C+P, C+N+P (Scheu 1987; Tiunov and Scheu 1999). Углерод вносили в виде раствора глюкозы, азот и фосфор в виде растворов (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, при соотношении C:N:P равном 10:2:1. В качестве снимаемого показателя использовали кумулятивное или максимальное дополнительное (превышающее IRR) дыхание в течение 18-40 часов после внесения глюкозы. Респираторная реакция на внесение C+P позволяет судить о доступности азота, а реакция на внесение C+N – о доступности фосфора. Как наши, так и литературные данные (Duah-Yentumi et al. 1998; Vesterdal 1998; Demetz and Insam 1999) показывают, что метод позволяет весьма точно оценить доступность N и P для почвенных микроорганизмов.

**Определение таксономического состава микробных сообществ.** Таксономический состав сапротрофного **бактериального комплекса** оценивали методом посева из разведений от 1:1000 до 1:1000000 на ряд стандартных сред. Определение бактерий проводили до родового уровня (Добровольская и др. 1989; Williams et al. 1989). Численность бактерий выражали в КОЕ (колониеобразующие единицы) на г почвы. Относительное обилие рассчитывали как долю таксона (%) от общего числа колоний. Таксономический состав **почвенных микромицетов** оценивали методом отмывания почвы (Parkinson and Williams 1961; Gams and Domsch 1967). Метод предполагает удаление из субстрата спор и конидий грибов, и выделение преимущественно активно растущего грибного мицелия. Отмытые органические частицы размером 200-400 мкм помещали на чашки Петри с сусло-агаром или средой Чапека. Из каждой пробы сеяли от 50 до 65 частиц. Грибы определяли до видового или родового уровня. Относительное обилие таксона оценивали как долю (%) заселенных им частиц от общего количества полученных изолятов. Для выделения дрожжей использовали сериальные разведения.

**Учеты почвенных животных.** Почвенных **простейших** учитывали методом разведения (Darbyshire et al. 1974). Суспензию почвы в питательной

---

<sup>1</sup> Initial Respiratory Response, респираторная реакция почвы на внесение глюкозы.

среде последовательно разводили и после инкубации отмечали присутствие голых амёб, жгутиковых и инфузорий. Численность простейших рассчитывали по таблицам (Rowe et al. 1977). **Нематод** экстрагировали модифицированным методом водных воронок Бермана на высокоградиентном эклекторе (Alphei 1995). После приготовления препаратов половозрелых нематод идентифицировали до родового уровня. На основании родовой принадлежности нематод относили к одной из шести основных трофических групп: бактериофаги, микофаги, потребители корневых волосков, паразиты растений, всеядные, хищники (Yeates et al. 1993). **Микроартропод** (коллемболы и панцирные клещи) экстрагировали с помощью воронок Тулльгрена (Гиляров 1975), или на высокоградиентном эклекторе (Kempson et al. 1963). Экстрагированных животных заключали в постоянные препараты с жидкостью Фора. Почвенную **макрофауну** (=мезофауна по Гилярову 1941) учитывали ручной разборкой почвенных проб (Гиляров 1975).

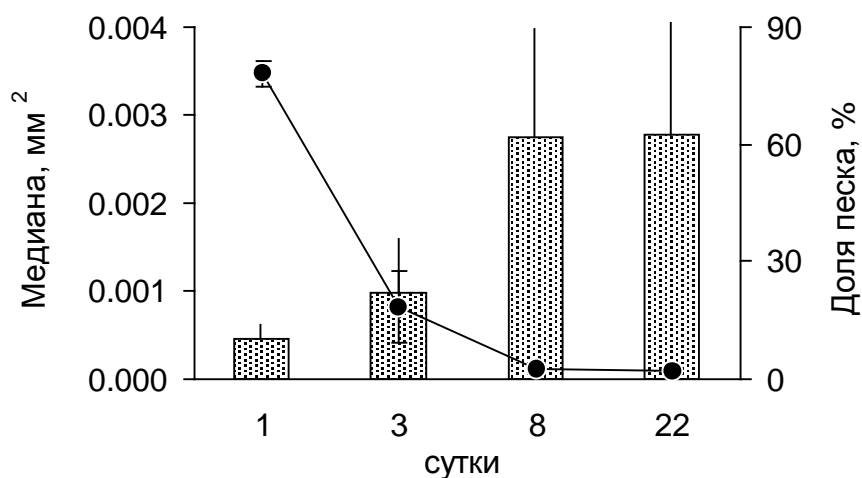
**Статистическая обработка.** Основным методом статистического анализа был дисперсионный анализ (ANOVA). Как правило, перед анализом первичные данные подвергали логарифмической или иной трансформации (Krebs 1989; Sokal and Rohlf 1995). Для множественного сравнения средних использовали критерий достоверно значимой разницы (Tukey's HSD), для сравнения двух выборок - *t*-тест Стьюдента. При малом количестве повторностей, или невозможности удовлетворить допущения дисперсионного анализа, применяли непараметрические тесты.

Для оценки достоверности различий в составе и структуре доминирования многовидовых сообществ был применен метод ординации, разработанный Ю.Г. Пузаченко (Пузаченко и Санковский 1992; Пузаченко и Кузнецов 1998) в несколько упрощенной форме (Tiunov and Scheu 2000; 2005). На основе относительного обилия таксонов подсчитывали матрицу сходства (дистанций или корреляции) между отдельными пробами. Матрицу сходства обрабатывали с помощью многомерного непараметрического шкалирования. Оптимальное количество базовых осей определяли путем сравнения реальной и теоретически ожидаемой величины стресса. Полученные координаты точек в многомерном пространстве были использованы для оценки величины и достоверности различий между априори заданными группами проб (напр. вариантами опыта) с помощью дискриминантного анализа. В тех случаях, когда дискриминантный анализ подтверждал наличие достоверных различий между группами, вычисляли непараметрическую корреляцию между относительным обилием отдельных видов в пробах и координатами этих проб по достоверным каноническим осям. В необходимых случаях характер распределения этих видов дополнительно исследовали с помощью дисперсионного анализа, его пермутационной версии (Anderson 2001, 2004), или непараметрических аналогов (U-test, Kruskal-Wallis ANOVA). За уровень достоверности принят  $p < 0.05$ .

## Глава 4. Механическое разрушение растительного опада в кишечнике дождевых червей

Деятельность подстилочных и норных дождевых червей играет ключевую роль в механическом разрушении и измельчении растительного опада. Изменение размера частиц органического вещества приводит к модификации качества пищевых ресурсов и условий жизни практически всех обитателей почвы и подстилки. Однако степень физической модификации растительных остатков при питании дождевых червей до сих пор не получила полной количественной оценки.

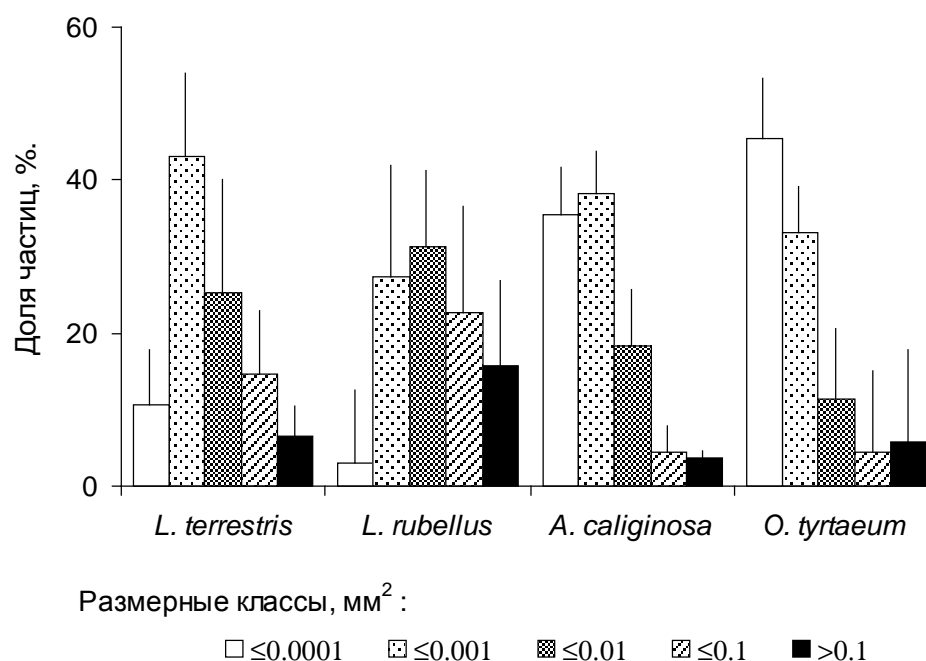
В лабораторном эксперименте при содержании *L. terrestris* в смеси крупных ( $>4 \text{ см}^2$ ) фрагментов липового опада и промытого песка средний размер органических частиц в копролитах составлял  $0.035 \text{ мм}^2$  (медиана  $0.46 \cdot 10^{-3} \text{ мм}^2$ ). При переносе животных в опад без песка размер частиц опада увеличился по мере снижения доли минеральной фракции в копролитах (Рис. 4.1).



**Рис. 4.1.** Размер частиц опада (колонки) и массовая доля минеральной фракции (линия) в копролитах *L. terrestris*, собранных 1, 3, 8 и 22 дня после переноса *L. terrestris* из смеси опада с песком в чистый липовый опад. Вертикальные линии показывают стандартное отклонение,  $n = 5$ .

Дождевые черви не обладают склеротизированным ротовым аппаратом, поэтому растительный материал попадает в пищевод относительно крупными фрагментами. Основное измельчение происходит в мускульном желудке при участии минеральных частиц. Подстилочные и норные черви предпочитают смесь почвы и опада чистому опад, и могут активно выбирать и заглатывать минеральные частицы (Heine and Larink 1993; Doube et al. 1997). Отрицательная корреляция ( $r = -0.802$ ,  $p < 0.01$ ) между количеством песка и размером органических частиц в копролитах свидетельствует о том, что минеральные части-

цы играют ключевую роль в процессе измельчения опада. Можно было бы ожидать, что часть песчинок удерживается (подобно гастролитам позвоночных) в мускульном желудке на продолжительный срок, но наши данные не подтверждают этого. Полное очищение пищеварительного тракта от минеральных частиц происходит за 4-5 суток.



**Рис. 4.2.** Доля органических частиц разного размера в копролитах четырех видов дождевых червей (полевые сборы). Вертикальные линии показывают стандартное отклонение,  $n = 5$ .

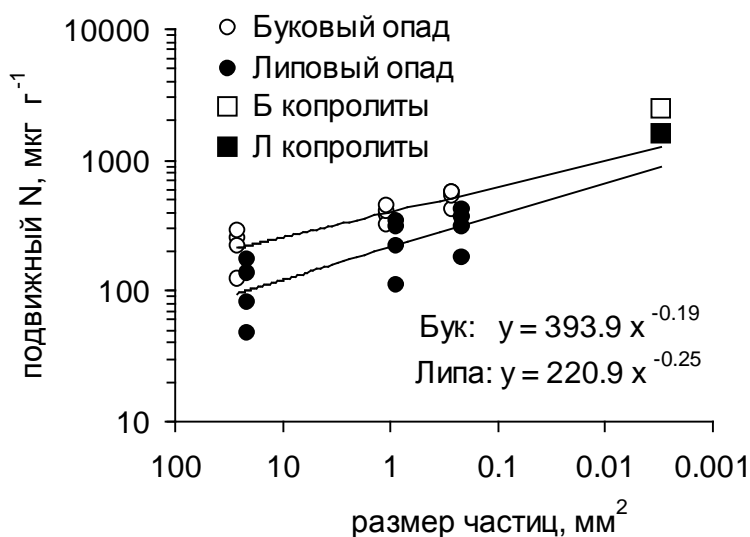
В копролитах *L. terrestris* и других видов дождевых червей, собранных в полевых условиях, также преобладали мелкие ( $< 0.01$  мм<sup>2</sup>) фрагменты органического материала (Рис. 4.2). Средний размер органических частиц был достоверно выше в копролитах подстилочных червей *Lumbricus rubellus* (0.098 мм<sup>2</sup>), чем в копролитах *L. terrestris* (0.044 мм<sup>2</sup>) и двух эндогеичных видов, *Aporrectodea caliginosa* и *Octolasion tyrtaeum* (0.019 и 0.021 мм<sup>2</sup>, соответственно).

## Глава 5. Влияние механического разрушения опада на подвижность азота, микробную активность, и скорость деструкции

Многие химические и микробиологические особенности копролитов дождевых червей и других почвенных животных могут являться следствием изменения физической структуры почвы и опада в кишечнике, прежде всего механического разрушения растительных остатков (Satchell 1967; Swift et al. 1979; Стриганова 1980; Lee 1985). Особого внимания заслуживает влияние механического разрушения растительных остатков на минерализацию азота, поскольку

ку повышение подвижности биогенных элементов в копролитах признается одним из основных механизмов положительного воздействия дождевых червей на продуктивность растений (Edwards and Bohlen 1996; Scheu 2003).

Мы провели ряд лабораторных экспериментов, целью которых было оценить влияния механического измельчения опада на подвижность соединений азота, и сопоставить эффект измельчения с интенсивностью минерализации азота в кишечнике дождевых червей. Эксперименты показали, что механическое разрушение растительного опада приводит к существенному повышению эффективности экстракции подвижного азота (экстракция 1%  $KAl(SO_4)_2$  в течение четырех часов). Зависимость экстрагируемости подвижного азота от размера частиц достаточно хорошо описывается степенной функцией ( $r^2 = 0.560$  и  $0.770$  для липового и букового опада соответственно). Медианный размер частиц опада в копролитах *L. terrestris* (в отсутствие минеральной почвы) составляет менее  $0.003 \text{ мм}^2$ . Согласно нашим расчетам, в свежих копролитах *L. terrestris* доля подвижного азота, освобожденного из опада благодаря его механическому разрушению, составляет около 50% от общего содержания подвижного азота (Рис. 5.1).



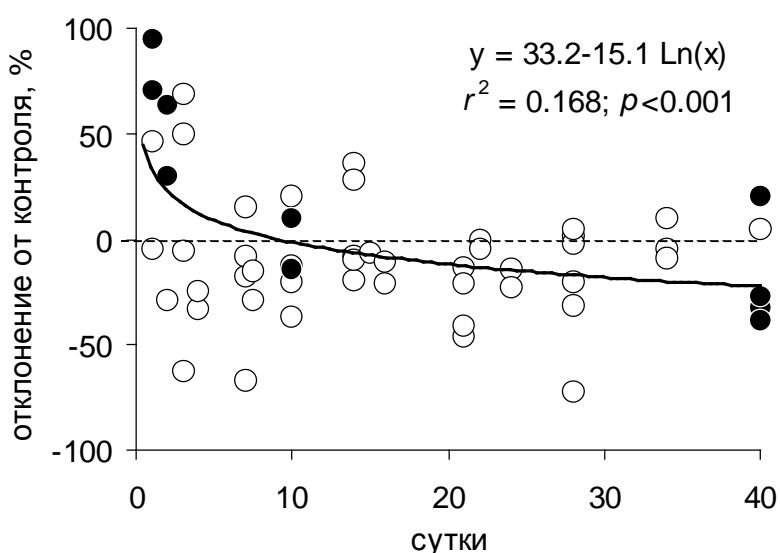
**Рис. 5.1.** Содержание подвижного азота ( $\text{мкг г}^{-1}$  сухого веса) в липовом и буковом опаде в зависимости от медианы размера частиц, а также в свежих копролитах *L. terrestris*. Л и Б копролиты получены, соответственно, при питании липовым и буковым опадом. Линии показывают степенную регрессию.

Сравнение содержания подвижного азота в копролитах *L. terrestris* при питании разными субстратами подтверждает этот вывод<sup>1</sup>. Увеличение (по

<sup>1</sup> При расчетах мы допускали, что уровень азотной экскреции червей примерно одинаков при питании разными субстратами, и не снижается при голодании, в данном случае при питании минеральной почвой (Christensen 1987).

сравнению с пищей) содержания  $N_{\text{мин}}$  в свежих копролитах *L. terrestris* при питании минеральной почвой, липовым и буковым опадом составило  $128 \pm 23$ ,  $347 \pm 37$  и  $375 \pm 9$  мкг  $N \text{ г}^{-1}$  сырого веса соответственно. Содержание  $N_{\text{мин}}$  в копролитах из почвы можно принять за максимально возможный уровень экскреции, из чего следует, что основная доля (60-65%) общего прироста содержания подвижного азота в копролитах при питании опадом не связана с экскрецией продуктов азотного обмена. Скорее всего, эта доля еще выше, поскольку уровень азотной экскреции *L. terrestris* существенно меньше использованного при расчетах (Binet and Trehen 1992). Таким образом, характерное для копролитов дождевых червей увеличение подвижности азота, относимое обычно на счет экскреции и/или стимуляции микробной минерализации азота в кишечнике (Needham 1957; Scheu 1987; Тиунов 1989) можно (по крайней мере для подстилочных и норных видов) более чем наполовину объяснить физическим воздействием на пищевые субстраты.

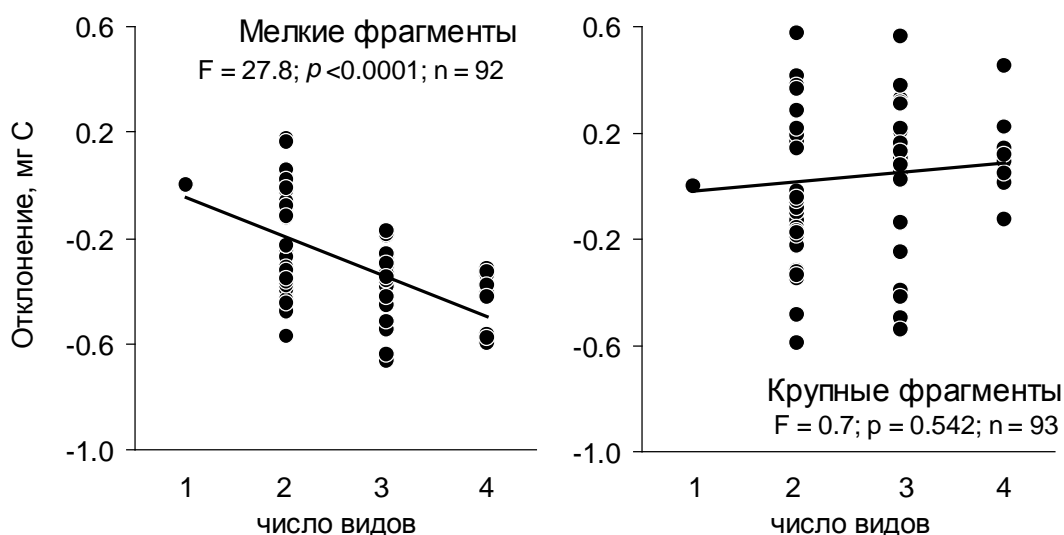
Анализ литературных данных и собственные эксперименты показывают, что измельчение растительных остатков сопровождается увеличением микробного дыхания, которое, однако, обычно снижается ниже исходного уровня в течение нескольких дней или недель (Рис. 5.2). Очень похожая динамика микробного дыхания характерна и для копролитов *L. terrestris* (см. Рис. 6.1). Таким образом, резкое увеличение микробного дыхания в свежих копролитах дождевых червей и его последующее снижение также можно в большой степени связать с механическим измельчением опада в кишечнике.



**Рис. 5.2.** Изменения микробного дыхания в механически измельченных растительных остатках при кратковременной (менее 50 суток) инкубации (в ряде случаев в смеси с почвой) по данным разных авторов. Контроль – дыхание в исходных материалах. Темные точки – собственные данные.

В процессе питания дождевых червей происходит перемешивание разных видов растительных остатков в кишечнике. Характер и механизмы влияния разнообразия (числа видов) растительного опада на скорость его деструкции остаются предметом дебатов (Gartner and Cardon 2004; Hättenschwiler et al. 2005; Wardle 2006). Проведенные до настоящего времени эксперименты, за немногими исключениями (Hättenschwiler and Gasser 2005), не учитывали деятельность почвенной макрофауны. Между тем, в естественных условиях биохимическая деструкция опада предваряется его механическим разрушением почвенными животными.

Мы показали, что связь между разнообразием опада и скоростью его деструкции зависит от размера частиц. При смешивании крупных фрагментов четырех видов растительного опада (осина, ольха, дуб, сосна) деструкция несколько ускорялась с увеличением разнообразия. В механически измельченном опаде скорость деструкции уменьшалась с увеличением числа видов в смеси. Данная зависимость была наиболее четко выражена на ранних, самых активных стадиях деструкции (Рис. 5.3). Механизмы этого явления пока непонятны. Общая потеря веса опада за весь срок эксперимента (140 суток) была более тесно связана с его разнообразием в случае крупных ( $r = 0.415$ ,  $p < 0.0001$ ), чем в случае мелких фрагментов ( $r = -0.187$ ,  $p = 0.079$ ).



**Рис. 5.3** Отклонение ( $\text{мг С-CO}_2 \text{ г}^{-1} \text{сутки}^{-1}$ ) дыхания смесей опада от ожидаемого в зависимости от числа видов в смеси и размера фрагментов (43 суток эксперимента). Ожидаемое дыхание вычислялось на основе дыхания четырех видов опада в монокультуре.

Согласно гнездовому (nested) дисперсионному анализу, как потеря веса, так и интенсивность дыхания, в большей степени зависели от свойств отдельных видов опада или конкретных комбинаций видов в смеси. Однако до 10-

15% общей дисперсии может быть объяснено разнообразием видов растительных остатков. Таким образом, перемешивание разных видов растительных остатков оказывает влияние на скорость деструкционных процессов в почве, но сила и даже направление этого влияния зависит от деятельности почвенных макроорганизмов – механических деструкторов опада.

## **Глава 6. Обилие и активность микроорганизмов в копролитах дождевых червей *L. terrestris***

В процессе питания дождевые черви потребляют растительные остатки и минеральную почву, которые смешиваются в их пищеварительном тракте. Таким образом, микробная активность в копролитах формируется под влиянием (а) собственно прохождения почвы или опада через кишечник и (б) смешивания в кишечнике минеральной почвы и растительных остатков. Чтобы различить эти два типа воздействия, мы сравнивали реальные показатели микробной активности в копролитах *L. terrestris* с "ожидаемыми", рассчитанными на основании соответствующих показателей в почве и подстилке, и массовой доле этих компонентов в копролитах. Массовая доля опада в копролитах (К) рассчитывалась согласно простой модели смешивания:

$$K = (C_{\text{копролиты}} - C_{\text{почва}}) / (C_{\text{опад}} - C_{\text{почва}}),$$

где  $C_{\text{копролиты}}$ ,  $C_{\text{почва}}$  и  $C_{\text{опад}}$  – соответственно содержание углерода в копролитах и исходных субстратах.

Свежие (1-суточные) и инкубированные в течение 5, 10 и 100 суток копролиты *L. terrestris* были получены в длительном лабораторном эксперименте, в котором животных содержали в четырех комбинациях почвы и опада:

Вариант **ЛЛ**: опад липы ( $C_{\text{орг}}$  35.2%,  $C_{\text{мик}}$  13.6 мг г<sup>-1</sup>) и почва из липового леса ( $C_{\text{орг}}$  2.2%,  $C_{\text{мик}}$  0.5 мг г<sup>-1</sup>).

Вариант **ЛП**: опад липы и почва из букового леса ( $C_{\text{орг}}$  7.4%,  $C_{\text{мик}}$  0.9 мг г<sup>-1</sup>).

Вариант **БП**: опад бука ( $C_{\text{орг}}$  37.4%,  $C_{\text{мик}}$  13.2 мг г<sup>-1</sup>) и почва из букового леса.

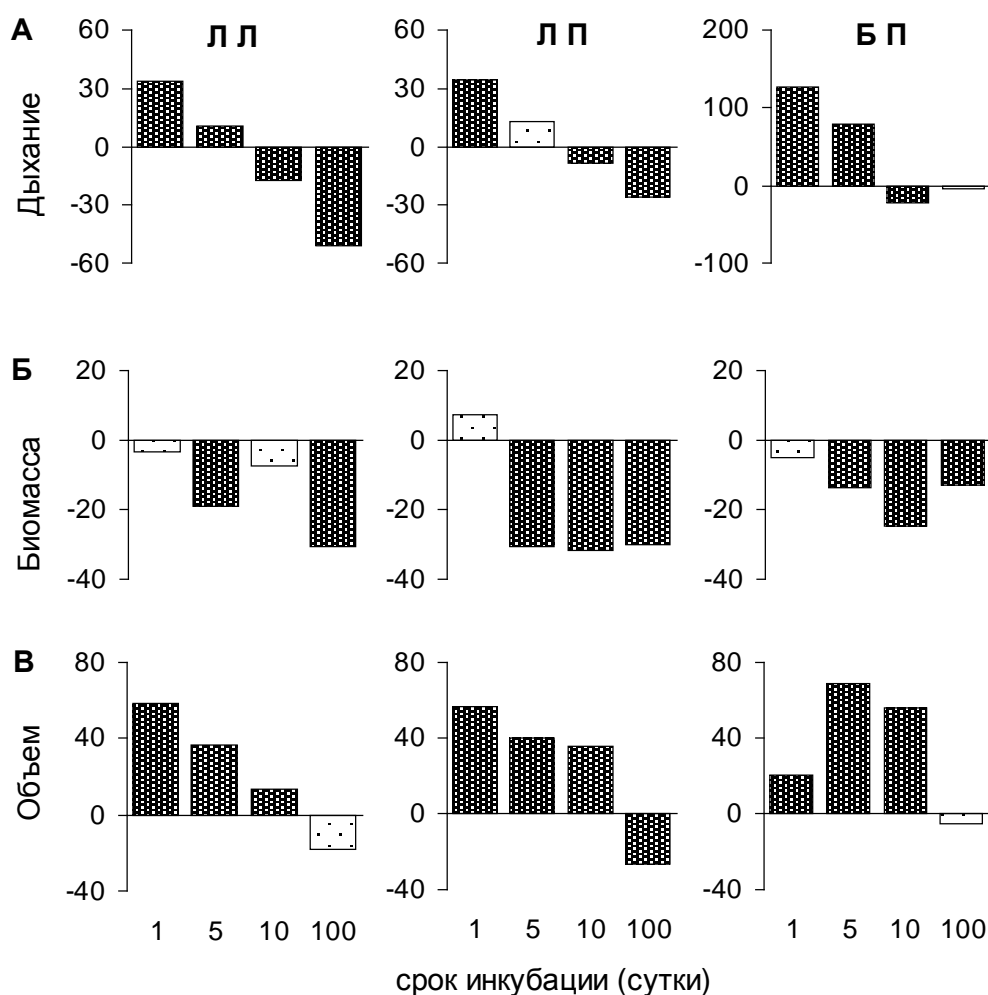
Вариант **П**: почва из букового леса без опада.

Показатели микробной активности в свежих копролитах очень сильно различались в разных вариантах опыта (для всех параметров микробной активности  $F > 50.0$ ;  $p < 0.001$ ). Например, микробная биомасса в копролитах из варианта **ЛЛ** составляла  $2.3 \pm 0.3$  мг  $C_{\text{мик}}$  г<sup>-1</sup>, против  $1.5 \pm 0.1$  в варианте **БП**. Примерно в такой же степени различались микробное дыхание и суммарный объем микроорганизмов.

Основные параметры микробной активности в копролитах зависели, прежде всего, от массовой доли растительного материала, и в существенно меньшей степени от общего содержания органического углерода (Табл. 6.1). В этой ситуации единственным способом адекватной оценки влияния прохождения опада и почвы через кишечник червей на микробные популяции явилось сравнение реальных и ожидаемых показателей микробной активности.

**Таблица 6.1.** Линейная корреляция ( $r^2$ ) между показателями микробной активности и содержанием органического углерода и массовой долей опада в свежих копролитах *L. terrestris*. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.001$ ;  $n = 15-20$ ; ns = недостоверно.

	Содержание углерода	Доля опада
Базальное дыхание	0.514 **	0.966 **
Микробная биомасса	0.651 **	0.953 **
Объем грибного мицелия	0.005 ns	0.450 **
Объем бактериальных клеток	0.191 ns	0.266 *
Суммарный микробный объем	0.004 ns	0.610 **



**Рис. 6.1.** Разница (в %) между реальными и ожидаемыми показателями базального дыхания (А), микробной биомассы (Б) и объема микробных клеток (В) в копролитах *L. terrestris* после 1, 5, 10 и 100-суточной инкубации в почве. Светлые столбики: реальные и ожидаемые показатели не отличаются (t-тест,  $n = 5$ ,  $p < 0.05$ ). Ожидаемые показатели соответствуют микробной активности в смеси почвы и опада с тем же содержанием органического углерода, что и копролиты червей. ЛЛ: почва липняка + липовый опад; ЛП: почва букового леса + липовый опад; БП: почва и опад из букового леса.

Разница между реальными и ожидаемыми показателями в копролитах не превышала 120% для базального дыхания и вообще отсутствовала для микробной биомассы (Рис. 6.1), хотя почва и опад по уровню микробной активности отличались на один-два порядка. Кроме того, сравнение реальных и ожидаемых показателей выявило, что влияние прохождения пищи через кишечник дождевых червей на микробную активность было сходным в разных вариантах эксперимента (Табл. 6.2). Таким образом, ключевые характеристики микробной активности в копролитах определяются, прежде всего, свойствами потребляемых червями субстратов.

Слабое влияние собственно трофического воздействия *L. terrestris* на микробную активность особенно отчетливо видно в более простых (но хуже отражающих естественную ситуацию) вариантах опыта, в которых черви питались почвой без опада (вариант II) и опадом без добавления почвы (дополнительные эксперименты). Прохождение этих субстратов через кишечник червей не сопровождалось достоверными изменениями микробной биомассы ( $F_{1,10}=3.5$ ;  $p=0.092$  в почве;  $F_{1,10}=1.84$ ;  $p=0.205$  в опаде бука и  $F_{1,12}=0.07$ ;  $p=0.796$  в опаде липы). Прямое микроскопическое измерение микробного объема в свежих копролитах в основном подтверждает, что влияние прохождения пищи через кишечник на общий объем микробных клеток невелико.

**Таблица 6.2.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния вида пищевых субстратов и срока инкубации на разницу между реальными и ожидаемыми показателями микробной активности в копролитах *L. terrestris*. Факторы: Вариант опыта (ЛЛ, ЛП, БП) и Возраст копролитов (инкубация в течение 1, 5, 10 и 100 суток).

	Вариант опыта	Возраст копролитов	Вариант × Возраст	% SS
Базальное дыхание	24.2**	46.3**	5.6**	82.1
Микробная биомасса	3.1 ns	18.3**	5.1**	65.6
Объем мицелия	0.9 ns	38.5**	7.8**	77.4
Объем бактерий	7.8*	9.1**	3.4*	56.9
Общий микробный объем	3.0 ns	51.9**	7.4**	81.1
Отношение объема грибов и бактерий	8.5**	0.1 ns	4.7**	48.4

Приведены значения F-критерия. \* $p < 0.01$ ; \*\* $p < 0.001$ ; ns = недостоверно. % SS = доля объясненной дисперсии.

Похожие результаты были получены в ряде экспериментов с эндогейными и эпигейными видами червей (напр. Daniel and Anderson 1992; Scheu 1987; Scullion et al. 2003; см. также Рис. 2.1). В то же время доступность для микроорганизмов азота и фосфора очень сильно увеличивалась при прохождении почвы или опада через кишечник червей ( $p < 0.001$ ), что также соответствует литературным данным (Sharpley and Syers 1976, 1977; Parkin and Berry 1994).

Кратковременная инкубация копролитов в почве ведет к весьма существенным изменениям микробной активности. Базальное дыхание и микробная биомасса очень резко снижались в первые дни инкубации, аналогично менялся и микробный объем в вариантах ЛЛ и ЛП (Рис. 6.1). Снижение микробной активности при инкубации копролитов можно связать преимущественно с уменьшением доступности углерода, азота и фосфора для микроорганизмов.

Снижение микробной активности в "старых" копролитах предполагает, что присутствие в почве дождевых червей далеко не всегда приводит к общему повышению микробной активности почвы. Это подтверждают данные некоторых опубликованных экспериментов (Wolters and Joergensen 1992; Devliegher and Verstraete 1995; Zhang and Hendrix 1995).

Сравнение данных из варианта П нашего эксперимента с данными по микробной активности и динамике минеральных форм азота в копролитах эндогеиных червей *Aporrectodea caliginosa* (Scheu 1987, 1987; Тиунов 1989, 1991, 1993) показывает, что эндогеиные и норные черви при питании минеральной почвой оказывают на нее сходное воздействие. С другой стороны, при питании растительным опадом параметры микробной активности близки в копролитах *L. terrestris* и подстилочного вида *L. rubellus* (Scullion et al. 2003). Таким образом, влияние дождевых червей разных морфо-экологических групп на микробную активность почвы (биомасса, дыхание) и на динамику минеральных форм азота по-видимому мало специфично.

## **Глава 7. Формирование таксономического состава микробного сообщества в копролитах дождевых червей**

Механизмы формирования микробных сообществ в копролитах дождевых червей обычно обсуждаются в контексте переваривания, подавления или стимуляции отдельных видов микроорганизмов в кишечнике (Стриганова и др. 1988; Striganova 1995; Brown 1995; Бызов 2005). Высокая селективность питания червей редко принимается во внимание (Martin and Marinissen 1993; Schönholzer et al. 1999). Закономерности формирования микробных сообществ в копролитах подстилочных и норных червей в естественных условиях питания (в которых черви потребляют как растительные остатки, так и минеральную почву) никогда не исследовались. В настоящей главе пути формирования таксономического состава микроорганизмов в копролитах *L. terrestris* рассматриваются преимущественно на примере сапротрофных микромицетов.

Материал для анализа микробных сообществ в копролитах *L. terrestris* был получен в лабораторных и полевых экспериментах. В лабораторном эксперименте (см. главу 6) анализировали почву, опад и копролиты из следующих вариантов: (П) почва из букового леса, (БП) почва из букового леса + опад бука, и (ЛП) почва из букового леса + опад липы. "Старые" копролиты были получены путем 100-дневной инкубации в почве из букового леса. Был проведен

также ряд дополнительных экспериментов, в которых *L. terrestris* кормили разными видами растительного опада. Сбор полевого материала был проведен в липовом лесу. Были исследованы верхний слой минеральной почвы (0-2 см, "Почва"); липовый опад ("Опад"); и кучки опада над устьем нор *L. terrestris*. Опад из кучек был разобран на две фракции: опад из устья норы ("Н-Опад") и копролиты червей ("Копролиты").

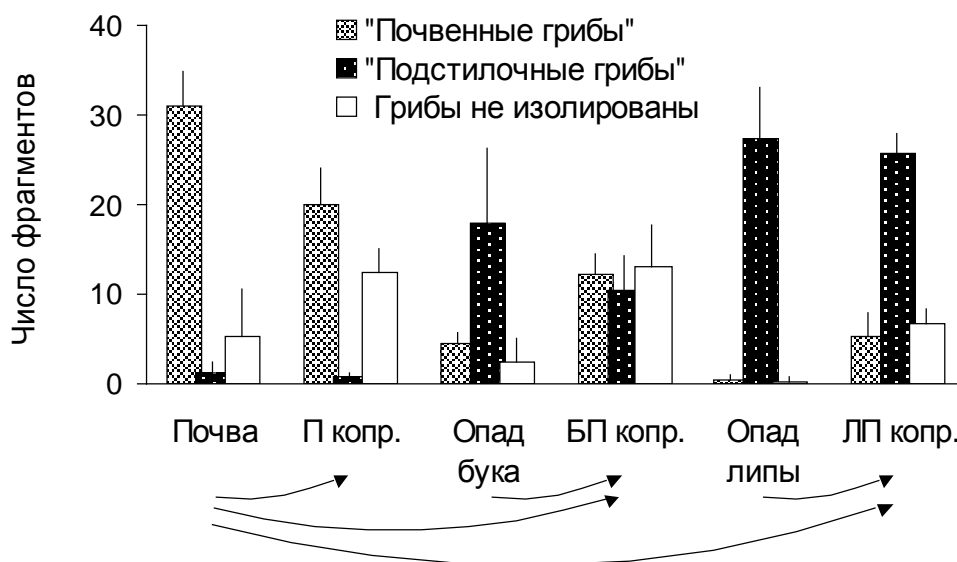
Эксперименты показали, что прохождение минеральной почвы или растительного опада через кишечник *L. terrestris* оказывает слабое влияние на состав и структуру доминирования грибных сообществ. В варианте II лабораторного эксперимента только у 4 из 37 выделенных видов грибов относительное обилие достоверно изменилось в копролитах по сравнению с почвой. Суммарное обилие этих видов в почве составляло менее 10%. При кормлении *L. terrestris* липовым опадом структура грибного сообщества также практически не отличалась в опаде и копролитах (дискриминантный анализ:  $p > 0.350$ ), хотя относительное обилие некоторых таксонов изменилось. Ни один из доминирующих в опаде видов микромицетов ( $>1.5\%$  относительного обилия) не исчез в копролитах. Аналогичные результаты были получены и при кормлении *L. terrestris* другими видами опада.

Сообщество микромицетов в копролитах червей при питании почвой и опадом представляло собой смесь "подстилочных" и "почвенных" видов, причем их относительное обилие зависело от массовой доли почвы и опада в копролитах (Рис. 7.1, 7.2). Таким образом, основным механизмом формирования грибного сообщества копролитов является, по-видимому, перемешивание в пищеварительном тракте растительного опада и минеральной почвы. Прохождение пищи через кишечник сопровождалось изменением относительного обилия некоторых видов грибов. Однако эти изменения были невелики и за очень немногими исключениями недостоверны.

Считается, что мицелий грибов может составлять важный компонент пищи дождевых червей (Dash et al. 1984, 1986; Edwards and Fletcher 1988; Tiwari et al. 1990; Doube and Brown 1998). Черви, по-видимому, являются слишком крупными животными для того, чтобы иметь возможность эффективно выбирать из почвы грибной мицелий, и тем более мицелий определенных видов грибов. Однако состав грибного сообщества в потенциальных пищевых субстратах влияет на их привлекательность для дождевых червей (Cooke 1983; Moody et al. 1995; Марфенина и Ищенко 1997; Bonkowski et al. 2000).

В нашем эксперименте прохождение почвы и опада через кишечник *L. terrestris* привело к значительному увеличению числа незаселенных грибами органических фрагментов в копролитах (Рис. 7.1) и к уменьшению (как правило, формально не достоверному) обилия отдельных видов. По приблизительной оценке доля таких "чувствительных" видов составляла 8-10, 20-25 и 10-15% от общего обилия микромицетов в почве, липовом и буковом опаде, соот-

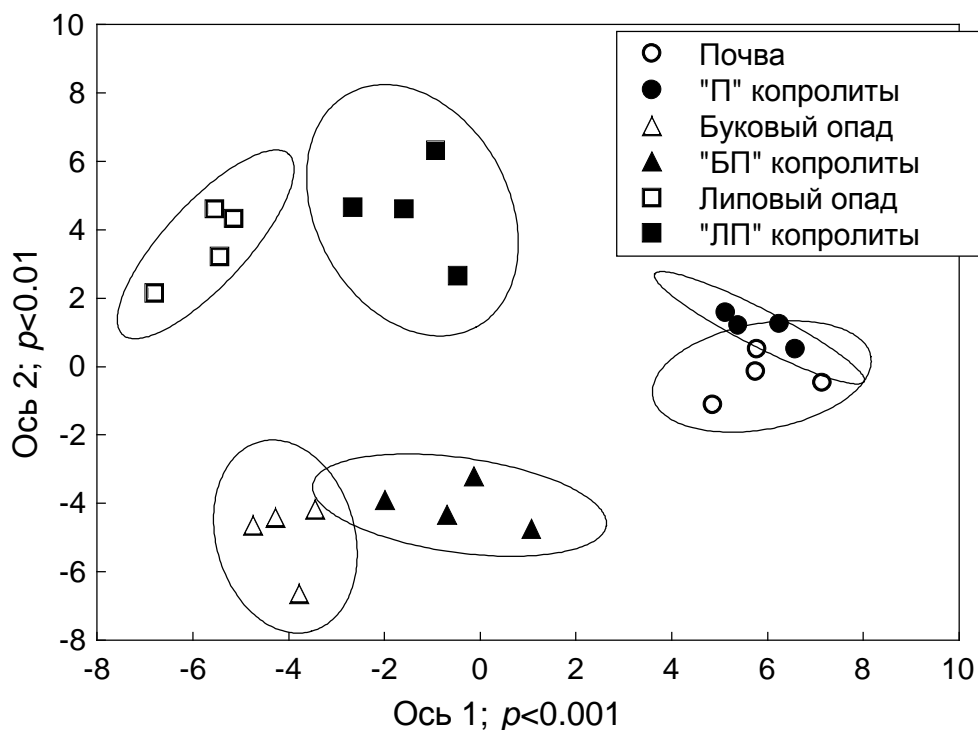
ветственно. Большая часть этих грибов относится к темноокрашенным ранним колонизаторам опада и к мукоровым грибам. Именно эти группы микромицетов, или заселенные ими субстраты, обычно предпочитают в качестве пищевых объектов как дождевыми червями, так и почвенными микроартроподами (Марфенина и Ищенко 1997; Shaw 1992; Maraun et al. 1998, 2003; Schneider and Maraun 2005).



**Рис. 7.1.** Число органических фрагментов, заселенных "почвенными" и "подстилочными" видами грибов, в почве, двух видах опада, и в свежих копролитах *L. terrestris*. Копролиты были получены в микрокосмах с почвой (П), почвой и буковым опадом (БП), с почвой и липовым опадом (ЛП). Вертикальные линии показывают стандартное отклонение,  $n = 4$ . Массовая доля растительного опада в копролитах составляла 5.6 и 18.3% в вариантах БП и ЛП, соответственно.

Для копролитов червей в вариантах со смешанным питанием была характерна высокая численность грибов рода *Trichoderma*. Несмотря на то, что увеличение обилия отдельных видов не достигало уровня достоверности, суммарное обилие *Trichoderma* spp увеличилось значительно, особенно в варианте с липовым опадом (с 38.8 до 53.9%).

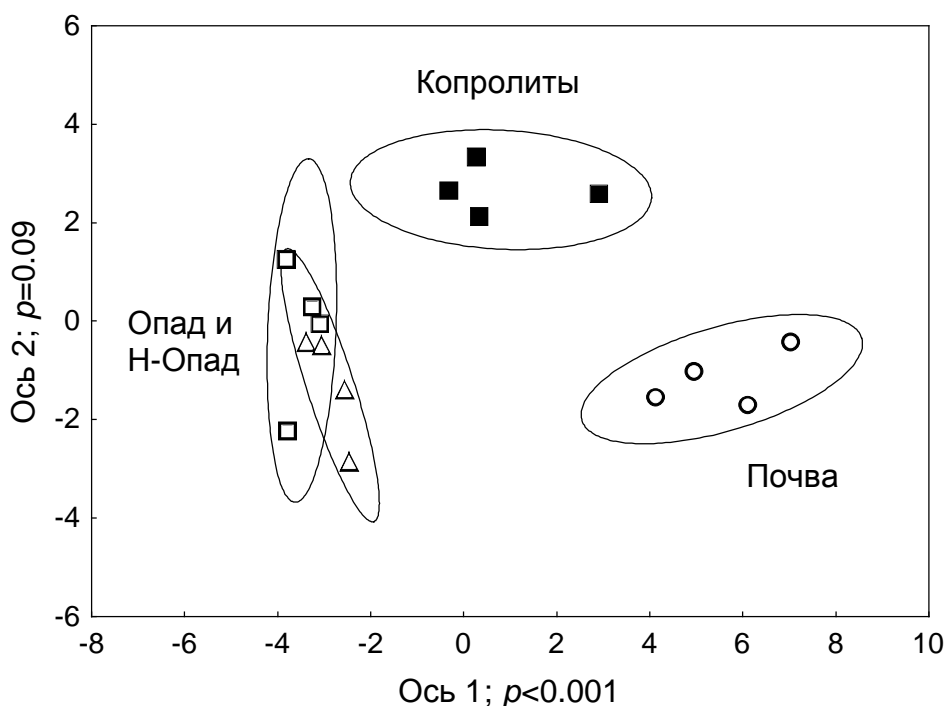
При инкубации копролитов в почве произошла существенная перестройка структуры сообщества микромицетов. В частности, относительное обилие *Trichoderma* spp. снизилось почти в два раза, а обилие "почвенных" грибов, таких как *Absidia* и *Penicillium* spp. возросло. Однако отличия копролитов (в случае смешанного питания) от вмещающей почвы остались весьма существенными и статистически достоверными по использованному критерию.



**Рис. 7.2.** Ординация сообщества микромицетов в почве, подстилке, и копролитах дождевых червей в осях канонического анализа. Эллипсы ограничивают область 95% вероятности,  $n = 4$ . Лабораторный эксперимент.

В полевом эксперименте сообщество микромицетов в копролитах также состояло из смеси почвенных и подстилочных видов (Рис. 7.3). Мы не обнаружили видов, которые были бы выделены только из копролитов, и наоборот, все обильные ( $>4\%$ ) в почве или подстилке виды были обнаружены и в копролитах. В то же время в копролитах, по сравнению с подстилкой, было резко снижено обилие темноокрашенных ранних колонизаторов опада (*Alternaria*, *Cladosporium*). Вероятно, эти виды микромицетов действительно перевариваются или ингибируются в кишечнике дождевых червей (Стриганова и др. 1988; Moody et al. 1996). Однако возраст копролитов, собранных в полевых условиях, не был известен. Не исключено, что на формирование комплекса микромицетов в копролитах оказывала влияние трофическая активность микофагов, численность которых высока в зоне норы *L. terrestris*.

В отличие от лабораторного эксперимента, в полевых условиях обилие грибов рода *Trichoderma* было довольно невелико в копролитах (в сумме  $<5\%$ ). Большие различия таксономического состава сообщества грибов в копролитах *L. terrestris*, как в разных вариантах лабораторного эксперимента, так и в полевом опыте, можно рассматривать как свидетельство неспецифичности сообщества микромицетов в копролитах, и его зависимости от состава сообщества в потребляемых субстратах.



**Рис. 7.3.** Ординация сообщества мицелиальных микромицетов в почве, опаде, опаде из устья нор (Н-Опад) и копролитах дождевых червей. Эллипсы ограничивают область 95% вероятности,  $n = 4$ . Полевой эксперимент.

Большинство видов почвенных и подстилочных микромицетов способно пережить прохождение через кишечник *L. terrestris*, хотя это может сопровождаться снижением их абсолютного или относительного обилия. Таким образом, дождевые черви могут быть важными агентами распространения грибов и других микроорганизмов в почве. Этот вопрос многократно исследовался экспериментально (напр. Reddell and Spain 1991; Pattinson et al. 1997), в частности в связи с возможностью распространения дождевыми червями патогенных и генетически модифицированных микроорганизмов (Henschke et al. 1989; Heijnen and Marinissen 1995; Thorpe et al. 1996; Joergensen et al. 1998). Форические связи дождевых червей и грибов могут ускорять колонизацию поступающего на поверхность почвы растительного опада почвенными грибами, и способствовать проникновению подстилочных грибов глубоко в почвенные горизонты. Весьма вероятно, что в лесных экосистемах умеренного климата масштабная форическая деятельность *L. terrestris* и других норных дождевых червей не дублируется в полной мере другими механизмами.

## Глава 8. Свойства почвы и микробная активность в стенках нор дождевых червей

Питаясь и передвигаясь в почве, дождевые черви создают систему нор, объем которых может составлять более одного процента от общего объема верхних горизонтов почвы, а площадь поверхности – нескольких квадратных

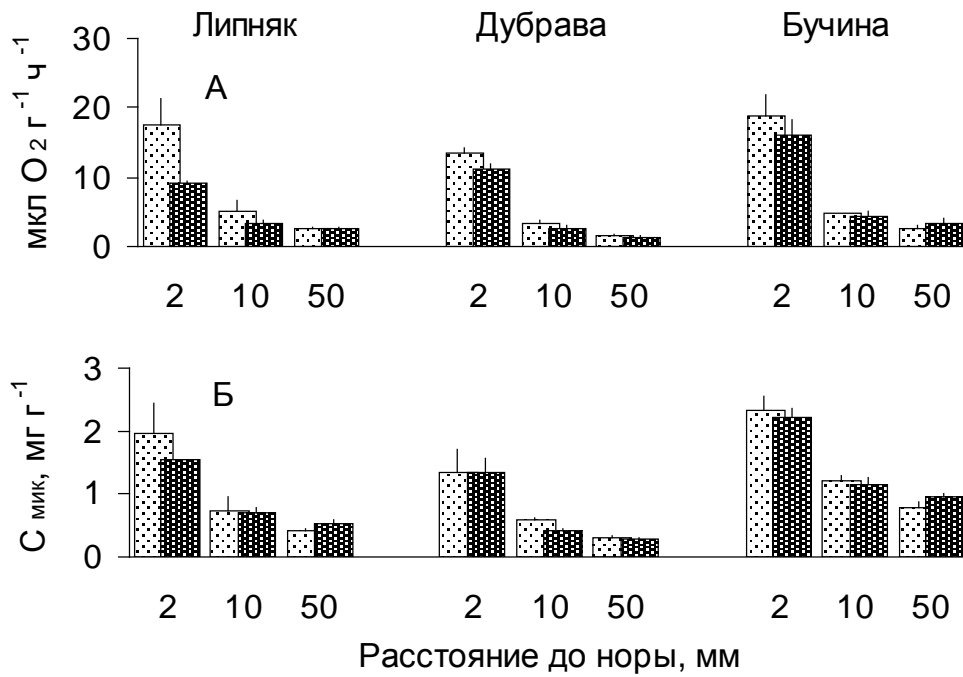
метров на 1 м<sup>2</sup> поверхности почвы (Димо 1938; Kretzschmar 1978, 1982). Еще в 1970-х годах было отмечено, что, по сравнению с окружающей почвой, в стенках нор дождевых червей микробная активность резко повышена (Loquet et al. 1977; Bouché 1980). Продолжительность существования индивидуальной норы зависит от вида червя и положения норы в почвенном профиле (Lighthart 1997). Для эндогеяных червей характерно постоянное перемещение в почве, при этом вновь вырытые ходы вскоре заполняются копролитами (Kretzschmar 1983). Однако лабораторные и полевые наблюдения показывают, что как эндогеяные, так и почвенно-подстилочные виды червей пользуются частью своих нор на протяжении длительного времени (Martin 1982; Shipitalo et al. 1988). Норные виды, такие как *L. terrestris*, постоянно обитают в глубоких субвертикальных норах; по нашим наблюдениям время существования индивидуальной норы может достигать шести лет.

Мы провели серию комплексных исследований влияния стенок нор дождевых червей *L. terrestris* на разные компоненты почвенной биоты, по преимуществу в полевых, но также и в лабораторных условиях (Тиунов 1993а, 1993б, 2003; Полянская и Тиунов 1996; Тиунов и др. 1997, 2001; Звонкова и Тиунов 1997; Тиунов и Кузнецова 2000; Tiunov and Scheu 1999; Tiunov 2000, Tiunov et al. 2001; Tiunov and Dobrovolskaya 2002).

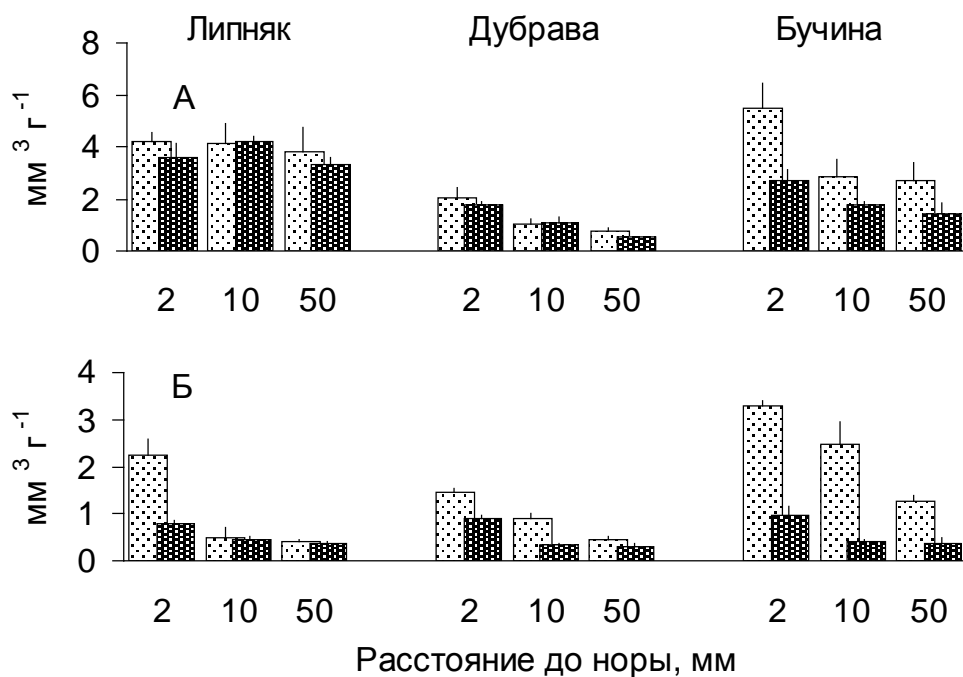
Стенки нор (слой почвы толщиной 4-5 мм, прилегающий к просвету норы) существенно отличаются по химическому составу от вмещающей почвы. В них содержится в 3-7 раз больше органического вещества, чем в интактной почве соответствующего горизонта, больше доля органического вещества, не связанного с минеральной частью почвы (детрита) – 20-40% против 5-18 в контрольной почве, ниже степень гумификации органики – 23-25% против 37-48% в почве. Свойства органического вещества в стенках нор довольно слабо меняются до глубины 25-35 см. В стенках нор повышено содержание минеральных форм азота и фосфора, однако доступность этих элементов для микроорганизмов не выше, чем в интактной почве.

Базальное дыхание и биомасса микроорганизмов в несколько раз выше в стенках нор, чем в контрольной почве (Рис. 8.1). Объем бактерий повышен в стенках нор в 1.5 – 3.5 раз (Рис. 8.2), а при использовании метода посева число КОЕ в стенках нор нередко на порядок больше, чем в контрольной почве. Микроорганизмы в стенках нор более активны, чем в интактной почве, и быстрее реагируют на увеличение доступности ресурсов.

В отличие от копролитов, стенки нор – весьма стабильные местообитания. Даже при удалении червя из норы основные показатели микробной активности мало меняются в течение длительного времени (за три месяца длина грибного мицелия в стенках нор не изменилась, а число бактериальных клеток снизилось в 1.5-2 раза, но осталось достоверно выше, чем в окружающей почве: полевой эксперимент в липовом лесу).



**Рис. 8.1.** Базальное дыхание (А) и микробная биомасса (Б) в почве на расстоянии 2, 10 и 50 мм от норы *L. terrestris* в липовом, дубовом и буковом лесу. Пробы были взяты на глубине 5-10 см в июне (светлые столбики) и в октябре (темные столбики). Вертикальные линии показывают стандартное отклонение, n=3.



**Рис. 8.2.** Общий объем грибного мицелия (А) и бактериальных клеток (Б) в почве на расстоянии 2, 10 и 50 мм от норы *L. terrestris* в липовом, дубовом и буковом лесу. Пробы были взяты на глубине 5-10 см в июне (светлые столбики) и в октябре (темные столбики). Вертикальные линии показывают стандартное отклонение, n=3.

Основным механизмом формирования микробной активности в стенках нор является обогащение органическим веществом в форме копролитов. Другие механизмы, в том числе экскреция мукуса и продуктов азотного обмена животных играют подчиненную роль. На это указывает: (а) Явное сходство ключевых показателей микробной активности в стенках нор и в "старых" копролитах червей (Табл. 8.1). (б) Незначительное увеличение микробной активности в стенках нор, не выстланных копролитами (Тупнов et al. 2001). (в) Зависимость параметров микробной активности от свойств почвы и опада, как в полевых условиях (Рис. 8.2), так и в лабораторном эксперименте (Табл. 8.2). (г) Длительное сохранение высокой микробной активности после удаления червя из норы.

**Таблица 8.1.** Свойства стенок нор *L. terrestris* в полевых условиях (липовый лес, глубина 5-10 см), в лабораторном эксперименте (почва липового леса + опад липы) и копролитов *L. terrestris* разного возраста, полученных в этом же эксперименте.

	Копролиты, возраст				Стенки нор	
	1 день	5 дней	10 дней	100 дней	Поле	Лаборатория
С (%)	6.5	6.8	7.6	<u>6.8 (1.5)</u>	<u>5.7-7.1</u>	4.8 (0.4)
N (мг г <sup>-1</sup> )	4.2	4.0	4.4	4.4 (0.1)	3.1-3.7	3.4 (0.2)
pH (CaCl <sub>2</sub> )	5.9	нд	нд	<u>6.1 (0.4)</u>	<u>5.1-5.6</u>	<u>5.4 (0.2)</u>
N <sub>мин</sub> (мкг г <sup>-1</sup> )	358.6	261.8	122.1	<u>95.5 (31.8)</u>	<u>37-76</u>	178 (33)
PO <sub>4</sub> -P (мкг г <sup>-1</sup> )	49.6	30.8	34.3	<u>16.2 (3.5)</u>	нд	<u>14.0 (6.6)</u>
Микробное дыхание, мкл O <sub>2</sub> г <sup>-1</sup> час <sup>-1</sup>	28.4	24.0	21.6	<u>9.9 (1.8)</u>	<u>9.2-17.7</u>	6.5 (1.9)
Микробная биомасса, мг C <sub>мик</sub> г <sup>-1</sup>	2.26	2.00	2.40	<u>1.54 (0.26)</u>	<u>1.53-1.97</u>	<u>1.15 (0.32)</u>
Удельное дыхание мкл O <sub>2</sub> мг C <sub>мик</sub> час <sup>-1</sup>	12.0	11.8	8.1	<u>6.6 (1.9)</u>	<u>6.0-9.0</u>	<u>6.4 (1.3)</u>
Объем грибного мицелия, мм <sup>3</sup> г <sup>-1</sup>	5.0	4.7	4.1	<u>2.8 (0.4)</u>	3.6-4.2	<u>2.6 (0.3)</u>
Объем бактерий, мм <sup>3</sup> г <sup>-1</sup>	1.5	1.20	1.10	<u>0.39 (0.18)</u>	0.8-2.3	<u>0.46 (0.15)</u>
Грибной : бактериальный объем	4.0	4.3	3.9	<u>8.1 (3.6)</u>	1.9-4.6	<u>6.3 (2.6)</u>

Для 100-суточных копролитов и стенок нор из лабораторного эксперимента в скобках указано стандартное отклонение (n=4-5). Для стенок нор в естественных условиях приведен диапазон средних значений. Подчеркнуты показатели, сходные в 100-суточных копролитах и в стенах нор (t-test); нд = нет данных.

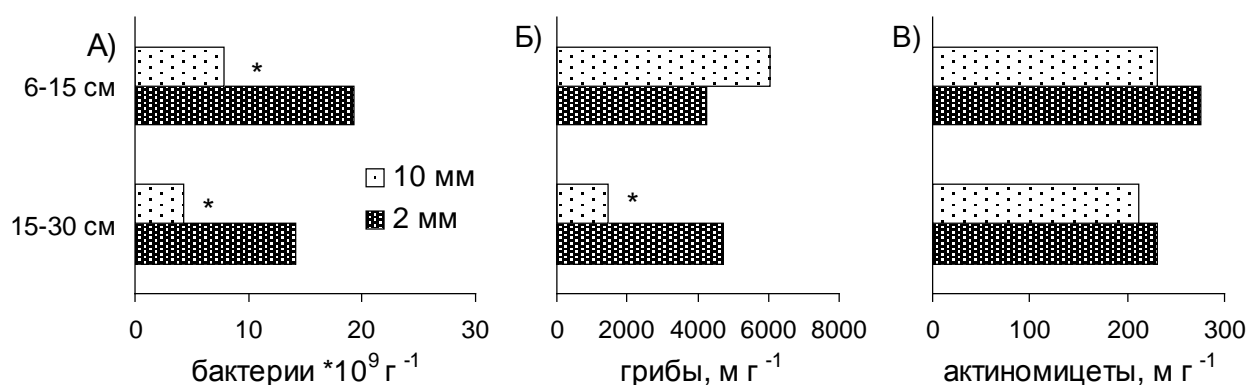
Содержание органического вещества в стенках нор снижается с глубиной не так резко, как в окружающей почве, поэтому общий вклад стенок нор в микробную активность почвы достигает максимума в глубоких минеральных горизонтах (Loquet et al. 1977; Stehouwer et al. 1993; Joergensen et al. 1998). При

этом функциональная и таксономическая структура микробных комплексов в стенках нор на разных глубинах может существенно различаться. Например, в почве липового леса мы обнаружили снижение длины грибного мицелия в стенках нор на глубине 3-10 см, но увеличение по сравнению с почвой на глубине 15-30 см (Рис. 8.3).

**Таблица 8.2.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния Норы (почва на расстоянии 2 и 50 мм от норы *L. terrestris*) и Типа почвы (почва и опад из липового и букового леса) на микробную активность почвы. Лабораторный эксперимент продолжительностью 165 суток.

	Тип почвы	Нора	Тип почвы × Нора	% SS
Базальное дыхание	7.6 *	8.9 *	2.8	70.6
Микробная биомасса	30.1 ***	49.8 ***	14.5 **	88.7
Объем грибов	108.9 ***	13.0 **	2.4	91.2
Объем бактерий	10.4 **	26.0 ***	9.8 **	79.4
Отношение объема грибов и бактерий	67.4 ***	11.3 **	9.6 **	88.0

Приведены значения F-критерия. % SS = доля объясненной дисперсии; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .



**Рис. 8.3.** Число бактериальных клеток (А), длина грибного (Б) и актиномицетного (В) мицелия в стенках нор *L. terrestris* (2 мм) и в окружающей почве (10 мм) на глубине 6-15 и 15-30 см. Пробы взяты в сентябре в липовом лесу. Звездочки показывают достоверную разницу между почвой и стенками норы (t-test, n=4-6).

Зона влияния норы на микробную активность почвы распространяется по крайней мере на 4-5 мм окружающей почвы. Таким образом, объем затронутой этим воздействием почвы довольно значителен. В верхних 20 см почвенного профиля липового леса он составляет 1.5-2 литра (до 1% от всего объема поч-

вы). В разных биогеоценозах норы *L. terrestris* оказывают в общем сходное влияние на микробную активность почвы, но имеются и существенные локальные различия. Например, в дубовом и буковом лесу объем грибного мицелия в стенках нор был примерно в два раза выше, чем в контрольной почве. Однако в липняке объем мицелия в стенках нор (не глубине 5-15 см) был таким же, как в окружающей почве, или даже несколько меньше (Рис. 8.2; 8.3). Причины этого явления недостаточно понятны. Возможно, оно объясняется резко увеличенным в зоне норы обилием нематод-микофагов.

## **Глава 9. Таксономический состав микробных сообществ в стенках нор дождевых червей**

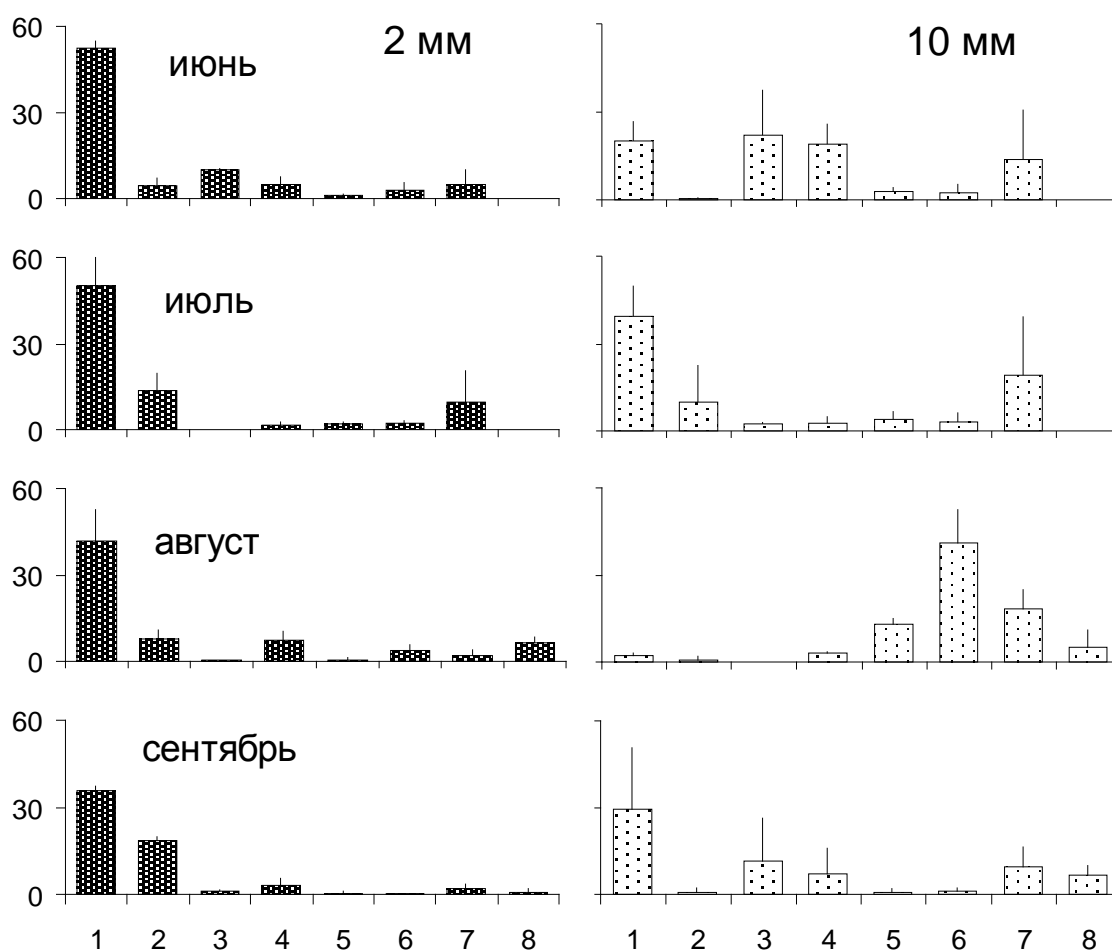
В стенках нор *L. terrestris* происходит не только значительное увеличение общего обилия и активности микроорганизмов, но и перестройка таксономической структуры микробных сообществ. В верхней части почвенного профиля (до глубины 15-20 см) в стенках нор обычно доминируют характерные для органических субстратов группы бактерий. Таксономический состав бактерий в стенках нор *L. terrestris* весьма стабилен во времени, в то время как уже на расстоянии 10 мм от норы обнаружены резкие сезонные колебания таксономического состава бактериального комплекса, сопровождавшиеся сменой доминантов (Рис. 9.1). Даже спустя три месяца после удаления червя из норы структура бактериального сообщества достоверно различалась в стенках нор и в окружающей почве (Рис. 9.2).

Тем не менее, состав микробного комплекса в стенках нор не специфичен. Так, в липовом лесу в 1994 г. в стенках нор в верхней части почвенного профиля доминировали спириллы, а в 1995 – *Cellulomonas* и *Promicromonospora*. Эти же формы доминировали в стенках нор в лабораторном эксперименте с почвой липового леса. В то же время в почве букового леса доминантами в стенках нор оставались типично почвенные формы *Bacillus* и *Streptomyces*.

Состав сообщества почвенных микромицетов в стенках нор *L. terrestris* также очень существенно различался в разных типах почвы (Рис. 9.3). Тем не менее, можно отметить некоторые общие закономерности. В контрольной почве доминировали грибы рода *Cylindrocarpon* (преимущественно *C. destructans*), но в стенках нор их обилие было резко понижено. В почве липового леса в стенках нор *L. terrestris* было обнаружено много видов, типичных для липового опада, прежде всего *Trichoderma koningii* и *Mucor hiemalis*. Аналогичным образом, в почве букового леса высокого обилия в стенках нор достигали *Mortierella gamsii* и *Trichoderma pseudokoningii*, характерные для букового опада и свежих копролитов *L. terrestris* из букового леса.

Основным механизмом формирования таксономического состава микробного населения стенок нор является транслокация растительных остатков с поверхности почвы в минеральные горизонты. Тем не менее, сообщество стенок

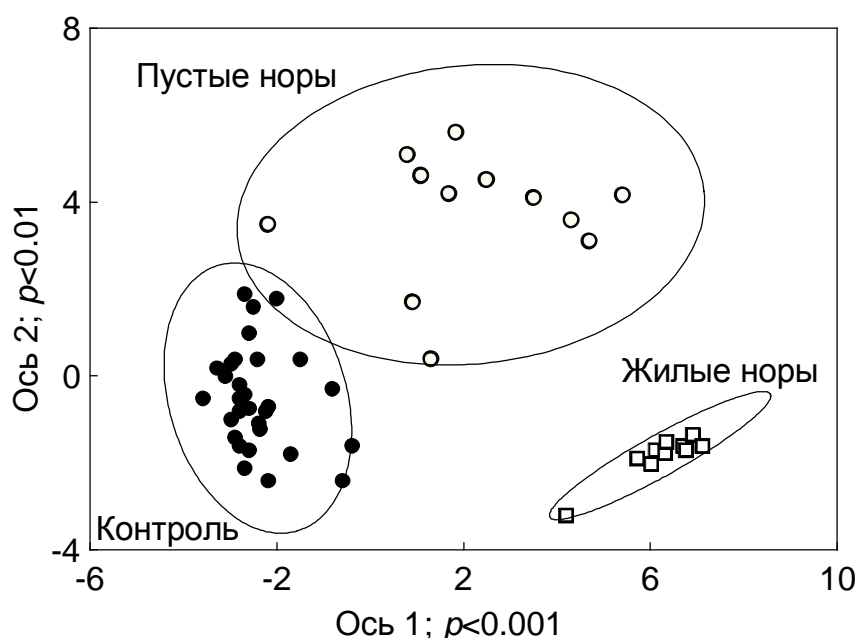
нор имеет свои особенности, и не идентично таковому опада и копролитов (Табл. 9.1). В частности, для стенок нор характерно почти полное отсутствие темноокрашенных ранних колонизаторов опада, например *Alternaria* или *Cladosporium*. Как обсуждалось выше, эти грибы существенно страдают при прохождении через кишечный тракт дождевых червей.



**Рис. 9.1.** Сезонная динамика таксономической структуры бактериальных комплексов в почве на расстоянии 2 и 10 мм от норы *L. terrestris*. Глубина 3 - 10 см. Липовый лес, полевые исследования. Вертикальные линии показывают стандартное отклонение,  $n=3$ . 1 - *Aquaspirillum*, 2 - *Cytophaga*, 3 - *Azotobacter*, 4 - *Mycobacteriales*, 5 - другие G-, 6 - *Bacillus*, 7 - *Streptomyces*, 8 - *Coryneform bacteriae*.

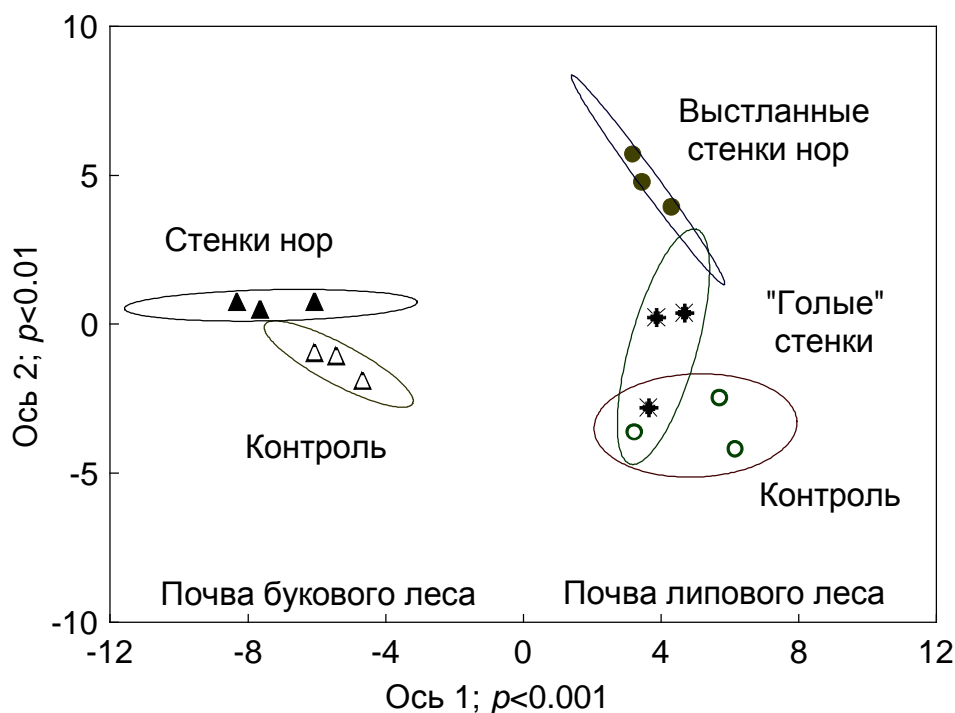
Не высланные копролитами стенки нор *L. terrestris* отличаются по структуре сообщества микромицетов как от вмещающей почвы, так и от нор, высланных копролитами (Рис. 9.3). Эти отличия невелики, но они указывают на то, что формирование специфического микробного сообщества стенок нор определяться не только поступлением копролитов червей. На состав и актив-

ность микробного комплекса стенок нор может оказывать влияние изменение физической структуры почвы вокруг норы (Binet and Curmi 1992) и поступление доступного углерода и азота в форме поверхностного мукуса и продуктов азотного обмена червей (Needham 1957; Scheu 1991). Не исключено, что поверхностные секреты дождевых червей содержат вещества, подавляющие рост некоторых видов грибов и бактерий. Наконец, состав сообщества микроорганизмов в стенках нор в какой-то степени контролируется микробофагами (прежде всего простейшими и нематодами), которые проявляют высокую избирательность питания (Griffiths 1989; Chen and Ferris 1999).



**Рис. 9.2.** Положение сапротрофных бактериальных комплексов стенок жилых и пустых нор дождевого червя *L. terrestris* и контрольной почвы в осях дискриминантного анализа. Каждая точка показывает результаты одного посева. Эллипсы ограничивают область 95% вероятности. Пробы взяты в августе-сентябре в липовом лесу на глубине 6–15 см.

Отличия в таксономическом составе микроорганизмов стенок нор от окружающей почвы четко выражены только в верхней части почвенного профиля (до глубины примерно 15-20 см). На большей глубине (горизонт А<sub>2</sub>В) общее увеличение обилия микроорганизмов происходит преимущественно за счет доминирующих в окружающей почве таксонов. Тем не менее, в стенках нор зафиксировано существенное увеличение относительного обилия ассоциированных с подстилкой форм бактерий: *Aquaspirillum* (до 20%), *Cytophaga* (до 6%), *Cellulomonas* и *Promicromonospora* (до 20%).



**Рис. 9.3.** Положение сообществ микромицетов стенок нор *L. terrestris* и контрольной почвы в осях дискриминантного анализа. Лабораторный эксперимент продолжительностью 165 суток. Эллипсы ограничивают область 95% вероятности.

**Таблица 9.1.** Относительное обилие (% от общего числа изолятов) доминирующих видов микромицетов в липовом опаде, свежих и 100-суточных копролитах, в стенках нор *L. terrestris* и в контрольной почве. Лабораторный эксперимент.

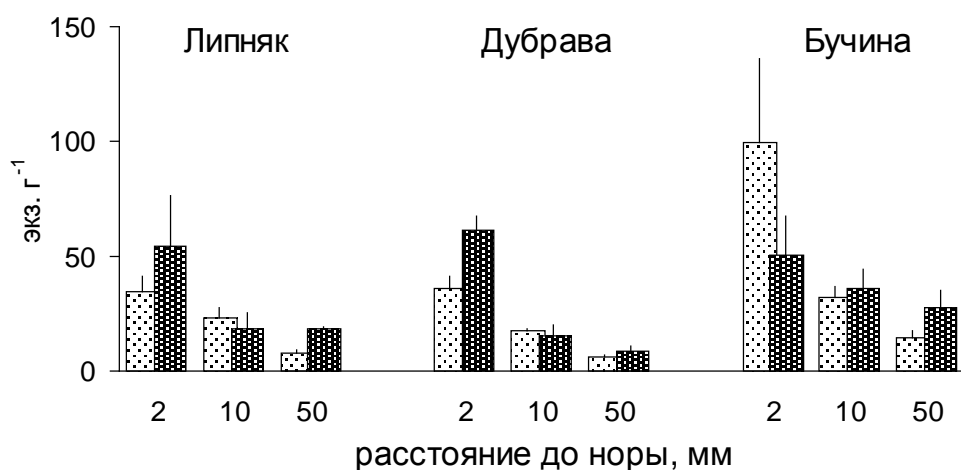
	Опад липы	Копролиты		Стенки нор	Почва
		свежие	100-сут.		
<i>Trichoderma koningii</i>	<u>29.3</u>	<u>39.4</u>	<u>23.8</u>	<u>9.5</u>	1.6
<i>T. hamatum</i>	<u>9.5</u>	<u>14.5</u>	2.1	<u>4.7</u>	<u>4.2</u>
<i>Mucor hiemalis</i>	<u>5.9</u>	<u>3.5</u>	<u>5.5</u>	<u>11.6</u>	0
<i>Alternaria</i> sp. 2	<u>5.1</u>	0.6	0	0	0
<i>Alt. alternata</i>	<u>2.4</u>	0	0	0	0
<i>Acremonium</i> spp.	0.5	<u>3.9</u>	<u>4.8</u>	0	0.7
<i>Penicillium</i> spp.	0.5	0.6	<u>3.8</u>	<u>3.2</u>	1.4
<i>T. pseudokoningii</i>	0	0	<u>5.5</u>	0.7	0
<i>Humicola</i> spp.	0	<u>1.8</u>	1.1	<u>6.9</u>	0
<i>Cylindrocarpon</i> spp.	0	0.6	1.7	0.8	<u>7.0</u>
<i>Gliocladium</i> sp.	0	0	0	0.7	<u>4.7</u>
<i>Chrysosporium</i> spp.	0	0	1.0	1.5	<u>4.3</u>
<i>Mortierella parvispora</i>	0	0	0	0.8	<u>3.9</u>

Подчеркнуты пять наиболее обильных таксонов в каждом субстрате.

## Глава 10. Влияние нор *L. terrestris* на пространственное распределение почвенных животных

Деятельность норных дождевых червей (в отличие от червей других экологических групп) приводит к формированию ярко выраженной пространственной гетерогенности почвенного покрова (масштаба сантиметров и десятков сантиметров). Концентрация растительных остатков в стенках и в устье нор *L. terrestris* отражается на пространственном распределении почвенных животных всех размерных классов.

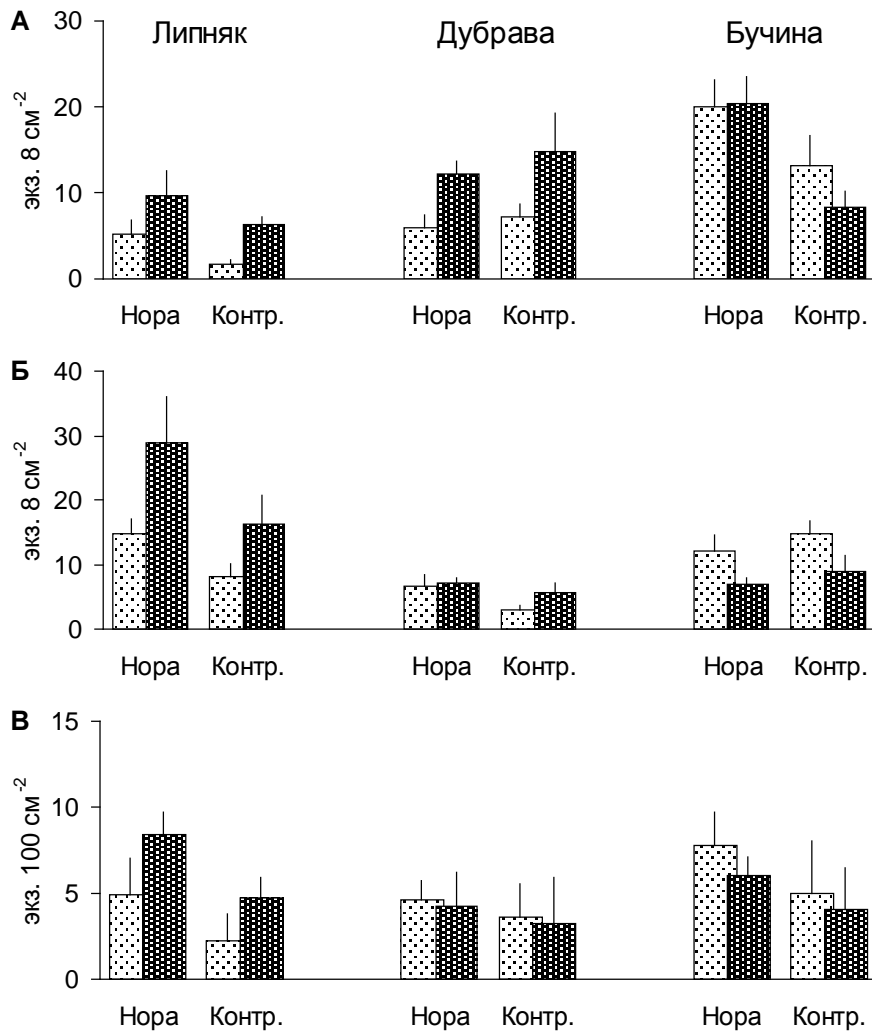
Общая численность **простейших** (лабораторные исследования) в стенках нор превышает контрольные значения в 2.5 – 9 раз ( $p < 0.001$ ). Обилие других важнейших микробофагов – **нематод** – также резко повышено в стенках нор (Рис. 10.1). При этом в почве липового леса наиболее отчетливо увеличено обилие микофагов (с 1.5 до 9.5 экз. г<sup>-1</sup>,  $p < 0.001$ ). Несмотря на это, отличия состава и структуры доминирования сообществ нематод в стенках нор и в окружающей почве были в целом невелики (дискриминантный анализ:  $p = 0.183$ , 0.134 и 0.311 соответственно в липовом, дубовом и буковом лесу). Относительное обилие некоторых родов достоверно отличалось в стенках нор и в контрольной почве, но таких родов было немного (увеличение обилия: *Plectus*, *Paramphidelus*, *Eumonhystera* в дубовом, *Malenchus* в буковом лесу; снижение обилия: *Paratylenchus* в липовом, *Acrobeloides* в дубовом и *Neopsilenchus* в буковом лесу).



**Рис. 10.1.** Общее обилие нематод (экз. на 1 г. сухого веса) в почве на расстоянии 2, 10 и 50 мм от норы *L. terrestris* в липовом, дубовом и буковом лесу. Пробы взяты на глубине 5-10 см в июне (светлые столбики) и октябре (темные столбики). Вертикальные линии показывают стандартное отклонение,  $n=3$ .

Влияние нор *L. terrestris* на общее обилие **коллембол** и **панцирных клещей** существенно отличалось и, кроме того, имело разный характер в разных

типах леса (Рис. 10.2). Очевидно, что зона норы *L. terrestris* не является безусловно привлекательной для многих видов почвенных беспозвоночных. Неоднородная реакция разных видов коллембол, орибатид и энхитреид на норы дождевых червей была показана и в других исследованиях (Bayoumi 1978; Dozsa-Farkas 1978; Loksa 1978; Hamilton and Sillman 1989; Maraun et al. 1999).



**Рис. 10.2.** Численность (экз. на пробу) коллембол (А), панцирных клещей (Б) и представителей макрофауны (В) в устье нор *L. terrestris* (нора) и в контрольных участках (контр.) в липовом, дубовом и буковом лесу весной (светлые столбики) и осенью (темные столбики). Вертикальные линии показывают стандартную ошибку, n=10.

Степень влияния нор на таксономический состав населения микроартропод также различалась, как в разных типах леса, так и в разные сезоны года (Табл. 10.1). Конечно, использованный нами критерий достоверности отличий в структуре сообщества не абсолютно объективен. Однако во всех случаях доля видов, относительное обилие которых достоверно отличалось в зоне норы и

в контрольной почве, была невелика и не превышала 16%. При этом состав доминантов, как правило, оставался неизменным. Некоторые виды (как *Iso-toma notabilis* или *Steganacarus striculus*) по-видимому довольно тесно ассоциированы с норами *L. terrestris*, но связь эта проявляется далеко не всегда.

**Таблица. 10.1.** Достоверность отличий в структуре сообщества микроартропод в зоне нор *L. terrestris* и окружающей почве ( $p$ , дискриминантный анализ), а также доля (%) таксонов (видов или родов), относительное обилие которых достоверно ( $p < 0.05$ ) отличалось в зоне норы (Mann-Whitney U-test). Полевые исследования;  $n$  - число повторностей. Подчеркнуты достоверные отличия.

	n	Липовый лес		Дубовый лес		Буковый лес	
		$p$	%	$p$	%	$p$	%
Коллемболы (лето 1995)	20	<u>0.009</u>	16.0%	–	–	–	–
Коллемболы (осень 1995)	20	0.848	4.5%	–	–	–	–
Коллемболы (осень 1996)	10	0.434	0%	0.677	7.1%	<u>0.035</u>	0%
Коллемболы (весна 1997)	10	0.432	6.6%	0.446	7.7%	<u>0.046</u>	5.3%
Орибатида (осень 1995)	20	<u>0.010</u>	10.5%	–	–	–	–
Орибатида (осень 1996)	10	0.233	4.5%	<u>0.009</u>	5.6%	<u>0.044</u>	9.5%
Орибатида (весна 1997)	10	0.383	5.9%	<u>0.001</u>	0%	0.543	4.8%

Общее обилие и особенно биомасса представителей почвенной **макрофауны** всегда были выше в зоне норы, чем на участках почвы между норами, главным образом за счет сапрофагов (дождевые черви, моллюски, личинки типулид). Безусловно, размер формируемых *L. terrestris* почвенных структур (50-150 см<sup>2</sup>) слишком мал для формирования специфического комплекса макрофауны, включающей крупных и подвижных животных. Различия в таксономическом составе макрофауны в зоне норы и в контроле были далеки от достоверности. Тем не менее, некоторые изменения в структуре доминирования были зафиксированы. Так, в липовом лесу среди эндогейных дождевых червей в зоне норы чаще доминировали *Aporrectodea caliginosa*, а в контрольной почве – *A. rosea*.

Таким образом, создаваемая средообразующей деятельностью *L. terrestris* мозаика обогащенных и обедненных органическим веществом микролокусов во многом определяет пространственную структуру сообщества почвенных организмов. Концентрация растительных остатков вокруг нор приводит к увеличению численности и биомассы многих групп почвенного населения ("эффект концентрации", Стебаев 1979). Однако таксономическая структура сообщества в богатых и бедных органическим веществом локусах почвы радикально различается только у микроорганизмов. Таксономический состав бактерий и грибов в стенках нор дождевых червей специфичен, хотя и имеет разный состав в разных биогеоценозах. Напротив, разница в таксономической

структуре группировок животных в зоне норы и в почве между норами в большинстве случаев невелика. В отличие от микробов, почвенные беспозвоночные могут мигрировать к местам концентрации пищевых ресурсов. Кроме того, для многих почвенных животных характерна полифагия (Стриганова 1980; Scheu and Setälä 2002). Это делает сообщество почвенных животных весьма эластичным, и позволяет, без существенной перестройки таксономической структуры, интегрировать потоки энергии из микролокусов с разным уровнем поступления ресурсов.

## **Заключение**

Адекватная оценка влияния почвенных животных на свойства почвы, микробное население и почвенные процессы невозможна без количественного исследования и системного анализа всех типов экологических связей и взаимодействий. Очевидно, что трофические связи далеко не исчерпывают разнообразия экологических отношений в биоценозах. К настоящему времени в почвенной биологии сложилась парадоксальная ситуация. С одной стороны, средообразующая деятельность почвенных животных, прежде всего дождевых червей, относительно хорошо исследована, и постулируется, что она в значительной степени определяет динамику почвенных процессов. Это отражается в выделении среди почвенной биоты функционального блока средообразователей, к которому сейчас принято относить всех крупных почвенных сапрофагов (Wardle 2002). С другой стороны, средообразующая деятельность почвенных животных неизменно выпадает из рассмотрения при построении количественных моделей ключевых почвенных процессов, например динамики деструкции органического вещества (Aerts 1997; Six et al. 2004; Prescott 2005).

С практической точки зрения попытки количественного описания экологических взаимодействий в системе организм–среда–организм часто малопродуктивны, поскольку у исследователя, как правило, нет полной информации ни о характере и степени модификации среды средообразователем, ни о влиянии этих модификаций на другие почвенные организмы. Формы средообразования весьма разнообразны, и часто с трудом поддаются формализации. Идентичные акты средообразования (например, формирование копролитов дождевыми червями) могут по-разному влиять на разные группы почвенного населения, а их функциональные последствия могут быть существенно различными в разных условиях, например в разных типах почвы или условиях увлажнения (Schrader and Zhang 1997; Hindell et al. 1997; Marhan and Scheu 2005). В результате, знание о влиянии дождевых червей на функционирование почвенной системы остается преимущественно суммой прецедентов, но не системой интегрированных количественных закономерностей.

С точки зрения функционирования детритного блока экосистем собственно физическое преобразование почвенной среды животными имеет меньшее

значение, чем его метабиотические последствия. Почти все процессы трансформации органического вещества в почве осуществляются живыми организмами, которые обеспечивают выполнение ключевой функции почвенного яруса наземных экосистем: деструкцию мертвого органического вещества и замыкание круговорота биогенных элементов. Поэтому для правильной оценки функциональной роли почвенных животных–средообразователей необходимо прежде всего исследование их метабиотического воздействия на другие компоненты почвенной биоты. Напряженность и направление метабиотических связей можно количественно оценить, используя формализованные экологические параметры (состав, обилие, разнообразие, активность зависимых организмов).

Исследование характера и степени влияния кондиционирующего вида на зависимые видовые популяции позволяет выделить наиболее важные в данных условиях механизмы реализации метабиотических связей. Это, в свою очередь, дает возможность более корректной оценки прямых (прежде всего трофических) биоценологических взаимодействий почвенных животных. Таким образом, разрабатываемая в работе концепция метабиоза помогает заполнить лакуну между исследованиями средообразующей деятельности почвенных организмов и биотических отношений в почве, и интегрировать нетрофические отношения в общие количественные представления о функционировании экосистем.

В своей работе "О классификации биоценологических связей" (1951) В.Н. Беклемишев писал, что за классификацией и систематизацией межвидовых связей должно следовать "установление всего круга связей одного какого-либо вида со всеми другими видовыми популяциями данного биогеоценоза". При исследовании метабиотических отношений в почве мы ограничились изучением (далеко не полным) круга связей одного модельного вида – *L. terrestris*. Экологическая роль *L. terrestris* до определенной степени уникальна, поскольку этот норный вид занимает промежуточное положение между собственно-почвенными детритофагами и потребителями растительного опада на поверхности почвы. *L. terrestris* осуществляет более масштабный, по сравнению с другими почвенными беспозвоночными, вертикальный перенос вещества, и создает систему крупных субвертикальных каналов, соединяющих поверхность почвы и глубокие минеральные горизонты. Однако основные механизмы влияния *L. terrestris* на другие компоненты почвенной биоты весьма просты и неспецифичны. Это позволяет утверждать, что выводы нашей работы в основном отражают общие закономерности влияния крупных почвенных беспозвоночных - средообразователей на структуру и функционирование почвенной биоты.

## Выводы

1. Впервые дана количественная оценка значимости ряда ключевых механизмов метабиотического воздействия дождевых червей на структуру и функционирование почвенных сообществ: механического измельчения растительных остатков и перемешивания их с минеральной почвой в кишечнике, вовлечения органического вещества в минеральную почву в форме выстилки нор, перераспределения растительных остатков на поверхности почвы.

2. Деятельность дождевых червей приводит к формированию зоогенных структур разного масштаба. Население (а также динамика биохимических процессов) в зоогенных структурах существенно отличается от такового в интактной почве и подстилке. Степень и характер модификации населения зависит от размера структур, и от механизмов их формирования. В малых по размеру структурах (копролиты) модификации очень сильны, но затрагивают главным образом микробное население. Более крупномасштабная мозаика химических и физических свойств почвы, создаваемая норами дождевых червей, влияет также на пространственное распределение почвенных животных (от простейших до насекомых и олигохет). Это проявляется преимущественно в увеличении общего обилия почвенных животных в зоне норы, но не сопровождается существенными перестройками таксономической структуры животного населения.

3. Основным механизмом, определяющим обилие и активность микроорганизмов в копролитах модельного вида *L. terrestris*, является измельчение и перемешивание разных видов пищевых субстратов в кишечнике. Ключевые характеристики микробной активности в копролитах можно с большой точностью предсказать на основании соответствующих показателей в потребляемых субстратах (для микробной биомассы ошибка составляет менее 10%). Собственно трофическое воздействие (пищеварение) не оказывает существенного влияния на обилие микроорганизмов при прохождении почвы и опада через кишечник дождевых червей.

4. Данa количественная оценка степени измельчения растительного опада в кишечнике дождевых червей и влияния измельчения на подвижность азота и на скорость микробной деструкции органического вещества. Показано, что увеличение содержания подвижных форм азота в свежих копролитах *L. terrestris* на 50-65% определяется механическим воздействием на растительные остатки. Впервые показано, что размер частиц влияет на характер зависимости скорости деструкции растительных остатков от их разнообразия.

5. На примере микромицетов показано, что таксономическая структура микробного населения почвы не испытывает существенных перестроек при прохождении через кишечник *L. terrestris*. Доля таксонов, относительное обилие которых достоверно изменяется при прохождении субстратов через кишечник, не превышает 10% в почве и 20-25% в разных видах растительного

опада. Все доминирующие в почве или подстилке виды микромицетов обнаружены также в копролитах. Микробное сообщество в копролитах червей складывается из смеси "почвенных" и "подстилочных" микроорганизмов, относительное обилие которых определяется массовой долей почвы и опада.

6. При инкубации копролитов в почве происходит быстрое уменьшение подвижности и доступности для микроорганизмов азота и фосфора. После нескольких недель инкубации активность и обилие микроорганизмов в копролитах ниже, чем в потребленных субстратах. Аналогичные изменения микробной активности происходят при инкубации механически измельченного растительного опада. Длительная (несколько месяцев) инкубация копролитов в почве приводит к перестройкам таксономической структуры микробного сообщества, но отличия копролитов от вмещающей почвы остаются весьма существенными.

7. Стенки нор дождевых червей являются специфическими местобитаниями, которые отличаются от вмещающей почвы по химическому составу, ферментативной активности, а также по обилию, активности и таксономическому составу микробного населения. Впервые показано, что параметры микробной активности в стенках нор весьма стабильны во времени; микробное сообщество долгое время (несколько месяцев) сохраняет своеобразие даже по прекращении активности хозяина.

8. По норам червей осуществляется вертикальный перенос микроорганизмов. Форические связи дождевых червей и микроорганизмов ускоряют колонизацию растительного опада почвенными формами, и способствуют проникновению подстилочной микрофлоры глубоко в почвенные горизонты. Весьма вероятно, что в лесных экосистемах умеренного климата форическая деятельность *L. terrestris* и других норных дождевых червей не дублируется в полной мере другими механизмами.

9. Основным механизмом формирования микробной активности в стенках нор является транслокация органического вещества с поверхности почвы в минеральные горизонты. Состав микробного населения стенок нор неспецифичен, существенно различается в разных биоценозах, и определяется в основном свойствами почвы и растительного опада. В стенках нор велика численность микрофитофагов (простейших и нематод), которые могут контролировать микробные популяции. Другие механизмы формирования микробной активности в стенках нор, в том числе выделение поверхностных экскретов, имеют меньшее значение.

**Благодарности.** Пользуюсь случаем принести мою глубокую благодарность учителям и коллегам Б.Р. Стригановой, А.А. Захарову, Г.А. Коргановой, А.В. Уварову и всем сотрудникам лаборатории почвенной зоологии ИПЭЭ РАН и биостанции Малинки за неизменную поддержку и помощь в работе. Основные экспери-

менты не могли быть выполнены без помощи моих коллег и соавторов Й. Альфея, М. Бонковского, И.В. Васильевой, Т.С. Всеволодовой-Перель, Т.Г. Добровольской, Н.А. Звонковой, Н.А. Кузнецовой, М. Марона, С. Мигги, М.Х. Оразовой, А.В. Поляковой, Л.М. Полянской, Т.А. Семеновой, И.Ю. Чернова, Ш. Шоя, О.П. Шульман, А.М. Юркова. Я благодарю также Б.А. Бызова и А.Д. Покаржевского за конструктивную критику и ценные советы. На разных этапах исследование было поддержано РФФИ (гранты 93-04-07897а, 99-04-48824а, 05-04-48429а, 06-04-48557а), Фольксваген-фондом, Программой поддержки ведущих научных школ (грант НШ-4835.2006.4), и программой Президиума РАН "Биоразнообразие и динамика генофондов".

### Список публикаций по теме диссертации

#### Статьи в рецензируемых журналах

1. Стриганова Б.Р., Кудряшева И.В., **Тиунов А.В.** (1987) Пищевая активность дождевых червей *Eisenia nordenskioldi* (Eisen) (Oligochaeta, Lumbricidae) в лесостепных дубравах и их участие в деструкционных процессах. Почвоведение, 1: 72-77.
2. Стриганова Б.Р., Пантош Т.Д., Мазанцева Г.П., **Тиунов А.В.** (1988) Влияние дождевых червей на биологическую азотфиксацию в почве. Известия АН СССР, Серия биологическая, 6: 878 - 884.
3. Стриганова Б.Р., Пантош Т.Д., **Тиунов А.В.** (1993) Сравнительная оценка активности азотфиксации в кишечнике разных видов дождевых червей. Известия РАН, Серия биологическая, 2: 257-263.
4. **Тиунов А.В.** (1993) Применение аппликационного метода для оценки биологической активности в дрилосфере. Известия РАН, Серия биологическая, 2: 264-270.
5. **Тиунов А.В.** (1993) Сравнительное исследование уреазной активности в почве и экскрементах дождевых червей. Известия РАН, Серия биологическая, 3: 472-475.
6. Стриганова Б.Р., **Тиунов А.В.** (1994) Пищевая стратегия дождевых червей в горных почвах на многолетней мерзлоте. Известия РАН, Серия биологическая, 3: 435-445.
7. Черенков С. Е., Губенко И. Ю., **Тиунов А. В.**, Кузьмичев А. Ю. (1995) Факторы, определяющие пространственную структуру поселения дроздов (*Turdus*) в условиях высокой мозаичности леса. Зоологический Журнал, 74: 104-119.
8. Полянская Л.М., **Тиунов А.В.** (1996) Заселенность микроорганизмами стенок нор дождевых червей *Lumbricus terrestris* L. Микробиология, 65: 99-101.
9. Добровольская Т.Г., Третьякова Е.Б., Гебриес Гетачеу, **Тиунов А.В.** (1996) Влияние дождевых червей на формирование бактериального комплекса почвы в лабораторном эксперименте. Вестник МГУ, сер. 17, Почвоведение, 4: 53-59.

10. Тиунов А.В., Добровольская Т.Г., Полянская Л.М. (1997) Микробное сообщество стенок нор дождевых червей *Lumbricus terrestris* L. Микробиология, 66: 415-420.
11. Звонкова Н.А., Тиунов А.В. (1997) Некоторые особенности почвы, прилегающей к норам дождевых червей *Lumbricus terrestris* L. Вестник Московского университета, сер. 17. Почвоведение, 3: 35-38.
12. Tiunov A.V., Scheu S. (1999) Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in *Lumbricus terrestris* L. burrow walls. Soil Biology and Biochemistry, 31: 2039-2048.
13. Schulmann O.P., Tiunov A.V. (1999) Leaf litter fragmentation by *Lumbricus terrestris* L. Pedobiologia, 43: 453-458.
14. Тиунов А.В., Кузнецова Н.А. (2000) Средообразующая деятельность норных дождевых червей (*Lumbricus terrestris* L.) и пространственная организация почвенной биоты. Известия РАН, Сер. биологическая, 5: 606-617.
15. Tiunov A.V., Scheu S. (2000) Microbial biomass, biovolume and respiration in *Lumbricus terrestris* L. cast material of different age. Soil Biology and Biochemistry, 32: 265-275.
16. Tiunov A.V., Scheu S. (2000) Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae): a laboratory experiment. Applied Soil Ecology, 14: 17-26.
17. Тиунов А.В., Добровольская Т.Г., Полянская Л.М. (2001) Микробные комплексы в стенках жилых и покинутых нор дождевых червей *Lumbricus terrestris* L. Почвоведение, 5: 594-599.
18. Tiunov A.V., Bonkowski M., Alpehi J., Scheu S. (2001) Microflora, Protozoa and Nematoda in *Lumbricus terrestris* burrow walls: a laboratory experiment. Pedobiologia, 45: 46-60.
19. Tiunov A.V., Dobrovolskaya T.G. (2002) Fungal and bacterial communities in *Lumbricus terrestris* burrow walls: a laboratory experiment. Pedobiologia, 46: 595-605.
20. Scheu S., Schlitt N., Tiunov A.V., Newington J.E., Jones T.H. (2002) Effects of the presence and community composition of earthworms on microbial community functioning. Oecologia, 133: 254-260.
21. Тиунов А.В. (2003) Влияние нор дождевых червей *Lumbricus terrestris* на пространственное распределение и таксономическую структуру почвенных сообществ. Зоологический журнал, 82: 269-274.
22. Orazova M.K., Semenova T.A., Tiunov A.V. (2003) The microfungal community of *Lumbricus terrestris* middens in a linden (*Tilia cordata*) forest. Pedobiologia, 47: 27-32.
23. Tiunov A.V., Scheu S. (2004) Carbon availability controls the growth of detritivores (Lumbricidae) and their effect on nitrogen mineralization. Oecologia, 138: 83-90.

24. **Tiunov A.V.**, Scheu S. (2005) Arbuscular mycorrhiza and Collembola interact in affecting community composition of saprotrophic microfungi. *Oecologia*, 142: 636-642.
25. Ruess L., **Tiunov A.**, Haubert D., Richnow H.H., Häggblom M.M., Scheu S. (2005) Carbon stable isotope fractionation and trophic transfer of fatty acids in fungal based soil food chains. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 945-953.
26. **Tiunov A.V.**, Scheu S. (2005) Facilitative interactions rather than resource partitioning drive diversity-functioning relationships in laboratory fungal communities. *Ecology Letters*, 8: 618-625.
27. Hättenschwiler S., **Tiunov A.V.**, Scheu S. (2005) Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36: 191-218.
28. **Tiunov A.V.**, Hale C.M., Holdsworth A.R., Vsevolodova-Perel T.S. (2006) Invasion patterns of Lumbricidae into previously earthworm-free areas of north-eastern Europe and the western Great Lakes region of North America. *Biological Invasions*, 8: 1223-1234
29. Uvarov A.V., **Tiunov A.V.**, Scheu S. (2006) Long-term effects of seasonal and diurnal temperature fluctuations on carbon dioxide efflux from a forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 3387-3397.
30. **Тиунов А.В.** (2007) Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях. *Известия РАН, Серия Биологическая*, 3.

#### **Статьи в сборниках и материалы конференций**

31. **Тиунов А.В.** (1987) Пищевая активность дождевого червя *Eisenia submontana*. Проблемы почвенной зоологии. Тбилиси: 39-40.
32. **Тиунов А.В.** (1989) Влияние дождевых червей *Nicodrilus caliginosus* на нитрификацию в дерново-подзолистых почвах. В кн.: Деструкция органического вещества в почве, Вильнюс: 172-176.
33. **Тиунов А.В.** (1991) Влияние дождевых червей на процесс нитрификации. Проблемы почвенной зоологии. Новосибирск: 197.
34. Стриганова Б.Р., **Тиунов А.В.** (1991) Сравнительная оценка воздействия разных видов дождевых червей на процессы гумификации растительных остатков. В кн.: Биоконверсия органических отходов. Киев: 53-55.
35. **Tiunov A.V.** (1992) Biological activity in drilosphere. *Abst. of XI Int. Coll. Soil Zool.*, Jyvaskyla: 90.
36. **Tiunov A.V.** (1994) Activities of endogeic earthworms in destruction of humic acids. *Abst. of 5 Int. Symposium on Earthworm Ecology*, Columbus, Ohio: 170.
37. **Tiunov A.V.** (1996) Soil fauna and microflora around *L. terrestris* burrows. *Abst. of XII Int. Coll. Soil Zool.* Dublin: 99.
38. **Тиунов А.В.** (1999) Микромицеты в почве, подстилке и копролитах дождевых червей *Lumbricus terrestris*. Проблемы почвенной зоологии, Москва, издательство КМК: 215-216.

39. **Тиунов А.В.** (2000) Влияние дождевого червя *Lumbricus terrestris* на микробную деструкцию опада в двух типах леса. Тезисы III Съезда Докучаевского общества почвоведов (Суздаль). Москва, Почвенный институт им. Докучаева, Книга 2: 85-86.
40. **Тiunov A.V.** (2000) Soil organisms around earthworm burrows: from microflora to macrofauna. Abst. of XIII Int. Coll. Soil Zool., ICARIS Ltd.: 11.
41. **Тiunov A.V.** (2002) Are endogeic earthworms limited by carbon? Abst. 7 Int. Symposium on Earthworm Ecology, Cardiff, Wales: 335.
42. Uvarov A.V., **Тiunov A.V.**, Scheu S. (2002) Effects of temperature regime on mixed populations of two earthworm species. Abst. 7 Int. Symposium on Earthworm Ecology, Cardiff, Wales: 74.
43. **Тиунов А.В.** (2002) Лимитирование весового роста дождевых червей доступностью углерода. Проблемы почвенной зоологии, Москва, издательство КМК: 173-174.
44. Уваров А.В., **Тиунов А.В.**, Шой Ш. (2002) Влияние режима температуры на взаимоотношения двух видов дождевых червей лесной подстилки. Проблемы почвенной зоологии, Москва, издательство КМК: 177-178.
45. **Тiunov A.V.** (2002) Soil compartmentalisation by earthworm burrows: different responses of microbial and animal communities. Abst. IX European Ecological Congress. Lund, Sweden. ([www1.ekol.lu.se/dept\\_ecology/eureco2002.html](http://www1.ekol.lu.se/dept_ecology/eureco2002.html)).
46. **Тиунов А.В.** (2004) Вермикомпост, вермикомпостирование и компостные черви: направление научных исследований в последнее десятилетие. Материалы 2 Междунар. научно-практической конференции "Дождевые черви и плодородие почв", Владимир: 9-11.
47. Richter K., **Тiunov A.V.**, Schaefer M., Migge S. (2004) Collembola control the growth of earthworms by changing the availability of carbon. Abst. XIV Int. Coll. Soil Zool., Rouen: 139.
48. **Тiunov A.V.**, Yurkov A. (2004) Metabiotic activity of earthworms affects patterns of microbial succession in plant litter. Abst. XIV Int. Coll. Soil Zool., Rouen: 147.
49. **Тiunov A.V.**, Scheu S. (2004) Arbuscular mycorrhiza and collembolans interact in affecting community composition of saprotrophic fungi. Abst. XIV Int. Coll. Soil Zool., Rouen: 153.
50. **Тиунов А.В.** (2005) Комплексные взаимодействия в почвенной системе: коллемболы усиливают влияние микоризы на состав сообщества сапротрофных грибов. Материалы VI (XIV) Всероссийского совещания по почвенной зоологии, Тюменский ГУ, Тюмень: 259-260.
51. **Тiunov A.V.** (2005) The environment-friendly management of soils and organic waste: low input, slow progress. «Technologies of the 21st century: biological, physical, informational and social aspects» St. Petersburg, Russia: 99-100.
52. Uvarov A.V., **Тiunov A.V.**, Scheu S. (2006) Inter- and intraspecies relationships in earthworms. Abst. 8 Intern. Symposium on Earthworm Ecology, Kraków, Poland: 51.