На правах рукописи

Сотников Иван Владимирович

Функциональная активность почвенных сапрофагов в широтном градиенте обилия и таксономического разнообразия

Специальность 1.5.15 «экология» (Биологические науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.

Научный руководитель	**Тиунов Алексей Владимирович,** доктор биологических наук, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий лабораторией почвенной зоологии и общей энтомологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук
Официальные оппоненты	**Кузнецова Наталия Александровна**, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры зоологии и экологии Института биологии и химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московского педагогического государственного университета **Голованова Елена Васильевна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории систематики и экологии беспозвоночных Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Омского государственного педагогического университета
Ведущая организация	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» (г. Сыктывкар)

Защита состоится 9 февраля 2027 года в 14:00 на заседании Диссертационного совета 24.1.109.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, тел./факс +7(495)952-35-84, e-mail: admin@sev-in.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33; на сайте ФГБУН ИПЭЭ РАН по адресу: https://sev-in.ru и на сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу https://vak.gisnauka.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета, к.б.н. Е.А. Кацман

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования и степень её разработанности. Почва представляет собой одно из наиболее сложных природных тел, в котором происходят процессы трансформации органического вещества и замыкание циклов биогенных элементов. Почвенные сапрофаги посредством своей трофической и биотурбационной активности способствуют ускорению деструкции растительного опада, регулируют активность микробных сообществ и формируют почвенный профиль (Стриганова, 2003; Lavelle et al., 2006). К настоящему времени накоплен значительный объем данных об обилии и структуре сообществ почвенных беспозвоночных в разных биомах планеты. Однако пересчёт этих данных в оценки функциональной роли животных в разных экосистемах остаётся нерешённой задачей.

Представления о роли беспозвоночных в экосистемных процессах основываются на результатах метаанализов или экстраполяции на естественные экосистемы лабораторных оценок массы потребляемого опада или пропускаемой через кишечник животных почвы (van den Hoogen 2020; Heděnec et al., 2022). Получаемые в ходе таких работ результаты часто противоречивы (Peng et al., 2023; Xiao et al., 2020). Скоординированные межрегиональные исследования вклада сапрофагов в экосистемные процессы очень редки (Wall et al., 2008; Gongalsky et al., 2004) и охватывают ограниченный набор функций. Это определяет необходимость проведения комплексных полевых экспериментов, позволяющих непосредственно сопоставить обилие и разнообразие почвенных сапрофагов с параметрами их функциональной активности в широком ряду экосистем.

Существующий набор полевых методов для измерения функциональной активности почвенных сапрофагов очень ограничен и направлен почти исключительно на оценку их вклада в деструкцию растительных остатков. Вклад сапрофагов в другие экосистемные процессы, в особенности в формирование почвенного профиля, с трудом поддается количественной оценке. Единственным широко применяемым полевым методом оценки биотурбации остаётся подсчёт поверхностных биогенных структур (Wu et al., 2025), который отражает деятельность лишь некоторых групп почвенных инженеров. Таким образом, актуальной задачей становится разработка и тестирование новых методов количественной оценки биотурбации.

Выявление функциональной роли биологического разнообразия остается одной из центральных проблем экологии (Tilman et al., 2014). Однако исключительно высокое разнообразие почвенных беспозвоночных (Anthony et al., 2023) в значительной степени осложняет проведение крупномасштабных экспериментальных исследований этого вопроса.

Традиционные почвенно-зоологические методы имеют ряд ограничений, связанных как с трудностями извлечения беспозвоночных из почвы, так и с их последующей морфологической идентификацией (André et al., 2002). Современные молекулярно-генетические методы, в частности метабаркодинг, основанный на высокопроизводительном секвенировании генов-баркодов, существенно расширяет возможности выявления таксономического разнообразия и резко снижает трудозатраты при анализе большого числа образцов (Paula, 2021; Taberlet et al., 2012). Однако этот подход также имеет существенные ограничения, связанные в первую очередь с низкой эффективностью выделения из почвы ДНК беспозвоночных и невозможностью оценить обилие животных (Elbrecht and Leese, 2015; Kageyama and Toju, 2022). Это определяет актуальность разработки и совершенствования молекулярно-генетических методов оценки разнообразия почвенных беспозвоночных.

Цель работы. Соотнести вклад почвенных сапрофагов в экосистемные процессы с обилием и разнообразием ключевых таксономических групп.

Задачи.

1. В серии модельных биотопов, расположенных в широком климатическом градиенте, установить связь между обилием почвенных сапрофагов с полевыми оценками их трофической активности и вклада в деструкцию растительного опада.

2. Протестировать новые полевые методы оценки биотурбационной активности и установить связь этой активности с обилием почвенных сапрофагов.

3. Протестировать эффективность оценки разнообразия почвенных беспозвоночных с помощью метабаркодинга и оптимизировать методику выделения средовой ДНК.

4. Оценить зависимость вклада сапрофагов в экосистемные процессы от их таксономического разнообразия.

Научная новизна. Впервые в широком климатическом градиенте экспериментально продемонстрирована возможность использования данных об обилии и метаболизме почвенных сапрофагов для количественной оценки их вклада в экосистемные процессы, связанные с деструкцией опада и биотурбацией почвы. Показана связь между интенсивностью биотурбации почвы и активностью дождевых червей. Предложена методика выделения ДНК из почвы, существенно повышающая полноту выявления разнообразия сообществ почвенных беспозвоночных по сравнению с существующими методами. Впервые продемонстрированы значимые корреляции между обилием основных групп почвенных членистоногих и их встречаемостью в серии проб, проанализированных с помощью метабаркодинга средовой ДНК.

Теоретическая и практическая значимость работы. Современные модели динамики круговорота биогенных элементов, как правило, включают климатические, эдафические

параметры и измеренные скорости деструкции опада, но практически не используют данные об обилии и активности почвенной фауны. Полученные в работе значимые связи показывают принципиальную возможность трансляции данных об обилии и метаболизме почвенных беспозвоночных в их вклад в экосистемные процессы. Такой подход может быть использован для построения более точных глобальных моделей динамики биогенных элементов, прежде всего углерода. Разработан и апробирован новый полевой метод оценки биотурбационной активности, который позволяет оценивать вклад почвенных инженеров в вертикальное перемешивание почвы. Разработанная в работе методика анализа состава и обилия почвенной фауны с использованием метабаркодинга средовой ДНК будет востребована при проведении экологических исследований, а также в программах мониторинга разнообразия почвенного населения.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав и заключения. Работа изложена на 152 страницах машинописного текста, содержит 2 таблицы, 41 рисунок. Список литературы включает 376 наименований, в том числе 352 на иностранных языках.

Положения, выносимые на защиту.

1. Экспериментально продемонстрирована зависимость вклада почвенных макросапрофагов в ключевые экосистемные процессы (деструкция наземного опада и биотурбация почвы) от их обилия и метаболизма. Учёт зависимости активности беспозвоночных от температуры позволяет значимо увеличить силу связи между обилием беспозвоночных и интенсивностью выполнения ими экосистемных функций.

2. Вертикальное перемещение трассирующих частиц в почвенном профиле может служить легким в применении количественным полевым методом оценки интенсивности биотурбации. Экспериментальная проверка метода в широком ряду экосистем показала статистически значимую связь между интенсивностью биотурбации и активностью (скорректированным на температуру обилием) дождевых червей.

3. Выделение средовой ДНК из больших навесок почвы по разработанной методике позволяет выявить в 2-2,5 раза большее разнообразие беспозвоночных по сравнению с классическими методами экстракции средовой ДНК. Встречаемость таксонов в серии проанализированных метабаркодингом проб средовой ДНК может быть использована для оценки обилия основных групп почвенных беспозвоночных.

Апробация работы. По теме диссертации опубликовано 4 работы в изданиях, входящих в Перечень ВАК. Результаты работы были представлены на XIX Международном коллоквиуме по почвенной зоологии (ЮАР, Кейптаун, 2024), VII и IX конференции молодых учёных “Почвоведение: Горизонты будущего” (Москва, 2023 и 2025), Конгрессе

исследователей симбиотических систем (Москва, 2025), XX Всероссийском совещании по почвенной зоологии и экологии (Екатеринбург, 2026).

Личный вклад соискателя. Планирование исследования осуществлялось совместно автором диссертации и его научным руководителем. Автором выполнен сбор основной части материала, предварительная таксономическая идентификация животных и подготовка образцов, анализ литературных данных, статистическая, биоинформатическая и графическая обработка данных, их интерпретация, подготовка текстов публикаций. Идентификация почвенных беспозвоночных была проведена совместно с Л.Б. Рыбаловым, А.Ю. Короткевич, В.Д. Леоновым, О.Л. Макаровой, М.Г. Кривошеиной, А.В. Танасевичем. Планирование экспериментов для оценки эффективности и разработки методик метабаркодинга средовой ДНК была проведена совместно с Е.С. Гусевым, Н.А. Мартыненко, А.А. Беловым и В.С. Чепцовым.

Содержание работы

Глава 1. Обзор литературы

В главе приведён краткий анализ литературных сведений по теме диссертации. Даны основные определения, представлены методы оценки трофической и инженерной активности почвенных сапрофагов. Отражены пробелы в использовании данных об обилии педобионтов в моделировании экосистемных процессов. Описаны подходы к анализу разнообразия и структуры сообществ почвенных беспозвоночных с использованием метабаркодинга, разбираются методические ограничения метода.

Глава 2. Материалы и методы

Точки проведения экспериментов и сбора материала. Исследование провели в пяти типах экосистем, в каждом из которых было выбрано два биотопа, отличающихся по обилию и структуре почвенного населения. Биотопы кустарничковой («**Куст. тундра**» - 67,6428 с.ш.; 33,6531 в.д.) и олуговелой («**Луг. тундра**» - 67,6425 с.ш.; 33,6540 в.д.) горной тундры располагались на территории Полярно-Альпийского ботанического сада-института им. Н.А. Аврорина КНЦ РАН (Россия, Мурманская область). Кедрово-пихтово-лиственничный осоково-черничный лес («**Смешанная тайга**» - 62,2937 с.ш.; 89,0230 в.д.) и высокоствольный кедрач («**Тайга кедрач**» - 62,3052 с.ш.; 89,0175 в.д.) средней тайги – в окрестностях экологической станции ИПЭЭ РАН «Мирное» (Россия, Красноярский край). Хвойно-широколиственный лес («**Малинки Смешанный лес**» - 55,4571 с.ш.; 37,1809 в.д.) и

мертвопокровный ельник («**Малинки Ельник**» - 55,4612 с.ш.; 37,1862 в.д.) умеренного пояса – в окрестностях биогеоценологической станции «Малинки» ИПЭЭ РАН (Россия, Москва). Горные тропические леса на водоразделе («**Холмовая**» - 12,1848 с.ш.; 108,6866 в.д.) и в локальном понижении около русла ручья («**Ручьевая**» 12,1795 с.ш.; 108,6859 в.д.) – на территории национального парка Бидуп-Нуйба (Вьетнам). Модельные площадки «**Приречная**» (11,4434 с.ш.; 107,4356 в.д.) и «**Лагерстремия**» (11,4293 с.ш.; 107,4275 в.д.) – в низинном тропическом лесу национального парка Донгнай (Каттьен) (Вьетнам).

В каждом биотопе заложили по 5 экспериментальных участков размером 5×5 метров в соответствии со стандартной методикой (Potapov et al., 2022). Всего заложено 50 участков. Использованные биотопы были выбраны с целью создания градиента разнообразия и обилия почвенных беспозвоночных и проведения полевых экспериментов. Мы не ставили целью дать полную характеристику почвенного населения или функциональной активности сапрофагов в отдельных климатических регионах.

Оценка обилия, метаболизма и разнообразия почвенной фауны. На каждом экспериментальном участке провели учёт почвенных беспозвоночных классическими почвенно-зоологическими методами – ручной разбор подстилки и почвы в пробах размером 25×25 см до глубины 10 см для макрофауны (животные крупнее 2 мм) и экстракция беспозвоночных на воронках Тульгрена для мезофауны (Potapov et al., 2022). Фиксированных в этиловом спирте животных определяли до уровня семейства и рода. Для дальнейших анализов использовали данные об обилии основных групп почвенных макросапрофагов (Diplopoda, Isopoda, Crassiclitellata, Isoptera, отдельные семейства Coleoptera) и мезосапрофагов (Collembola, Sarcoptiformes). Общее обилие макро- и мезосапрофагов рассчитывали по сумме обилия выбранных групп. Оценку численности беспозвоночных проводили в периоды их высокой активности (июнь для тропических экосистем, июль для горной тундры и умеренной зоны, август для северной тайги), одновременно с измерением трофических и биотурбационных параметров активности сапрофагов (см ниже).

Для учёта температурной зависимости активности сапрофагов был рассчитан суммарный метаболизм ($Дж \cdot ч^{-1} \cdot м^{-2}$) их сообществ с помощью уравнения зависимости интенсивности метаболизма от биомассы и температуры (Ehnes et al., 2011). Данные по средней индивидуальной биомассе членистоногих взяты из работы А.М. Потапова с соавт. (Potapov et al., 2023). Дождевых червей, фиксированных в этаноле, взвешивали с точностью до 1 мг. Поскольку разные методы для оценки трофической активности отличались по продолжительности измерений, метаболизм рассчитывали по двум значениям температуры почвы в слое 0–5 см (SoilTemp, Lembrechts et al., 2022). При оценке вклада сапрофагов в деструкцию опада (мешки с опадом, продолжительность экспозиции 6 или 12 мес.)

использовали среднегодовую температуру почвы, а при оценке трофической активности (Bait lamina test, экспозиция 10 дней) — среднемесячную температуру в период экспозиции пластин. Для расчёта метаболической активности всего сообщества или отдельных таксономических или размерных групп метаболизм каждого таксона умножали на его обилие (Potapov et al., 2026).

На каждом экспериментальном участке отбирали также образцы для характеристики сообществ почвенной фауны с использованием метабаркодинга средовой ДНК. Выделение ДНК проводили по разработанной методике из 10 г почвы (см. ниже).

Оценка функциональной активности почвенных беспозвоночных

Оценка вклада беспозвоночных в деструкцию опада. Для оценки вклада беспозвоночных в деструкцию использовали метод мешков с опадом (Litter bags, LB) (Kampichler and Bruckner, 2009). В мешки из металлической сетки размером 15×15 см с размером ячеи 1,2 и 5 мм помещали 5 г сухого опада. Для тундровых, таёжных и умеренных экосистем использовали опад берёзы (*Betula pendula*) для тропических экосистем опад лагерстремии (*Lagerstroemia calyculata*). Всего было заложено 320 мешков (по 16 мешков каждого размера ячеи в каждом биотопе). Мешки закладывали в начале влажного сезона в тропиках (июнь), в июле на участках горной тундры, в августе в средней тайге и в октябре в биотопах зоны умеренных лесов. Время экспонирования составляло 1 год для всех биотопов, кроме низинных тропиков, в которых продолжительность экспозиции мешков была сокращена до 6 месяцев (июнь - декабрь) из-за высокой интенсивности деструкции. После сбора мешков опад вынимали, отмывали от частиц почвы, высушивали при +60ºС и взвешивали. Для расчёта скорости деструкции опада использовали константу k: $M_t = M_0 * e^{-kt}$, где M_0 и M_t –масса опада в начале и в конце времени экспонирования соответственно, t – время в днях (Olson, 1963). Для расчёта вклада макрофауны в деструкцию опада использовали натуральный логарифм силы эффекта (logarithm response ratio, LRR). $LRR = ln(k_5/k_{1.2})$, где k_5 и $k_{1.2}$ - константы деструкции опада в мешках с размером ячеи 5 мм (с доступом к опаду всей фауны) и 1,2 мм (без доступа макрофауны к опаду), соответственно (Hedges et al., 1999; Zeng et al., 2024).

Оценка трофической активности методом приманочных пластин (Bait lamina test, BLT). Для оценки трофической активности сапрофагов применяли пластиковые пластины длиной 16 см и шириной 0,5 см, содержащие 16 отверстий диаметром 2 мм с интервалом 0,5 см (Von Törne, 1990). В качестве приманки использовали смесь порошка крапивы (*Urtica dioica*) и микрокристаллической целлюлозы в отношении 3:7. На каждом участке располагали

16 пластин по регулярной сетке 4 × 4 с расстоянием 10 см между пластинами (всего 800 пластин). Время экспонирования пластин составляло 10 дней, за исключением битопов низинных тропиков, где время экспозиции сократили до 7 дней. Потребление приманки в отверстиях пластин оценивали по трёхбалльной шкале: 0 — приманка не тронута, 0,5 — значительная часть съедена, 1 — приманка отсутствует (Vorobeichik and Bergman, 2021). Трофическую активность выражали как относительное количество потреблённой приманки (доля пустых отверстий, %), нормированное на число дней экспозиции.

Оценка интенсивности биотурбации с помощью трассирующих частиц. На каждом экспериментальном участке были заложены две микроплощадки (10 × 10 см), углублённые (~0,5 см) относительно поверхности почвы. На каждую микроплощадку вносили 40 мл (~4500 частиц) стеклянного бисера красного цвета (диаметр – 2 мм, плотность 2,5 г/см³), который выступал в качестве инертной метки. Бисер присыпали почвой до уровня почвы и покрывали подстилкой. Через год с каждой микроплощадки отбирали образцы почвы слоями толщиной 1-2 см до глубины 10 см, просеивали их через сито с диаметром отверстий 1,5 мм и подсчитывали число частиц бисера в каждом слое. Для характеристики распределения частиц бисера по почвенному профилю использовали коэффициент *S* экспоненциальной модели вида ($N = b_0 * e^{-Sd}$), где N — число частиц, d — глубина в см. Низкие значения коэффициента S указывают на концентрацию трассирующих частиц в поверхностном слое, тогда как высокие значения соответствуют их более глубокому проникновению.

Для выявления связи между обилием беспозвоночных и миграцией бисера использовали только обилие дождевых червей. Перемещение частиц по почвенному профилю связано в первую очередь с количеством «актов рытья», которое определяется в большей степени численностью, чем биомассой животных. В связи с этим, вместо метаболизма рассчитали метрику активности, основанную на зависимости метаболических процессов от температуры (коэффициент Q_{10}). Обилие дождевых червей было умножено на коэффициент, который был равен единице для биотопа с минимальной среднегодовой температурой и удваивался при каждом повышении температуры на 10º С.

Анализ изотопного профиля почвы. Для большинства почв характерно снижение общего содержания С и N с глубиной, с одновременным повышением величин $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$ (Acton et al.,2013; Nel et al., 2018). Почвенные беспозвоночные вносят вглубь почвы свежее органическое вещество с низкими величинами $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$, что должно приводить к выравниванию изотопного профиля почвы. Для исследования изотопного профиля почвы на каждом экспериментальном участке были отобраны образцы с глубины 0, 5, 10, 20 и 30 см (всего 50 профилей). Валовое содержание и изотопный состав углерода и азота (соотношения $^{13}C/^{12}C$ и $^{15}N/^{14}N$) в высушенных образцах определяли с помощью элементного анализатора

Flash 1112 и изотопного масс-спектрометра Thermo Delta V Plus в Центре коллективного пользования «Инструментальные методы в экологии» при ИПЭЭ РАН по стандартной методике (Тиунов 2007). Для описания изотопного профиля использовали угол наклона регрессионной зависимости величин $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$ от логарифма концентрации элементов (β-коэффициент) (Acton et al., 2013; Soldatova et al., 2024). β-коэффициент всегда отрицателен, увеличение его модуля свидетельствует о более интенсивном обогащении органического вещества тяжёлыми изотопами по мере снижения общего содержания органического вещества. Для нормализации распределения абсолютные значения статистически значимых коэффициентов β_C и β_N логарифмировали ($\ln(-\beta_C)$; $\ln(-\beta_N)$).

Метабаркодинг сообществ почвенных беспозвоночных

Была проведена серия экспериментов, направленных на оценку эффективности метабаркодинга почвенных беспозвоночных и совершенствование существующих протоколов выделения средовой ДНК из почвы. Во всех экспериментах для подготовки библиотек использовали праймеры для фрагмента гена COI (Leray et al., 2013). Высокопроизводительное секвенирование проводили на базе факультета биоинженерии биоинформатики МГУ им. Ломоносова и компании BMKGENE (Ухань, Китай). Биоинформатическую обработку данных проводили с помощью пакета DADA2 в программной среде R (Callahan et al., 2016). Для идентификации последовательностей использовали базы данных NCBI GenBank и BOLD.

Использование смесей беспозвоночных с известным видовым составом позволяет оценить долю выявляемого метабаркодингом разнообразия. Для **эксперимента с искусственными сообществами почвенных беспозвоночных** были составлены смеси из 24 видов (относящихся к 23 родам, 16 семействам и 8 отрядам) распространённых представителей почвенной фауны (Araneae, Coleoptera, Formicidae, Lithobiomorpha, Crassiclitellata, Enchytraeida, Sarcoptiformes, Collembola). Выделение ДНК проводили пятью разными методами, предназначенными для работы с тканями животных или с почвой.

Для **эксперимента с естественными сообществами почвенных беспозвоночных** использовали животных, извлеченных из почвы с помощью воронок Тульгерна. Пробы почвы (n = 72) были получены в ходе исследования влияния загрязнения макропластиком на почвенное население (Сотников и др. 2023). Выделенных из почвы беспозвоночных определяли по морфологическим признакам и с помощью метабаркодинга. ДНК выделяли с помощью набора М-Сорб (Синтол, Россия).

Разработанная **методика выделения средовой ДНК почвы** («метод фильтрации») заключается в обработке 10 г почвы слабощелочным лизирующим буфером, центрифугировании и фильтрации надосадочной жидкости через нитрат-целлюлозный фильтр. Сконцентрированную на фильтре ДНК выделяли с помощью коммерческого набора

HiPure Soil DNA Kit (Magen, China). Для отработки методики использовали 16 образцов почвы, отобранных по регулярной сетке 4×4 с шагом в 5 метров в смешанном лесу умеренной зоны («Малинки Смешанный лес»). Для сравнения, ДНК была также выделена по рекомендованной производителем процедуре из 0,5 и 10 г почвы с использованием наборов HiPure Soil DNA Kit (Magen. China) и PowerMax soil kit (Qiagen, Дания). Для количественной характеристики обилия беспозвоночных использовали относительное число ридов (количество молекул ДНК, выявленных в пробах) каждого таксона и встречаемость таксонов в пробах. Результаты метабаркодинга сравнивали с данными по обилию и разнообразию, полученными при использовании классических почвенно-зоологических методов (ручной разбор проб и экстракция на воронках Тульгрена; n = 5).

Статистический анализ данных. Обработку данных проводили в программной среде R (R Core Team, 2025). Для анализа изменений показателей в градиенте модельных биотопов, оценки связей между исследуемыми переменными и зависимости параметров функциональной активности от обилия, метаболизма или разнообразия почвенных сапрофагов использовали линейный регрессионный анализ (lm, пакет stats; R Core Team, 2025). Анализ проводили на исходных или логарифмически преобразованных данных; наилучшую регрессионную модель выбирали по максимальному значению коэффициента детерминации (R^2).

Глава 3. Связь функциональной активности почвенных сапрофагов с их обилием и метаболизмом

Связь обилия и метаболизма сапрофагов с их вкладом в деструкцию опада. Минимальные и максимальные скорости деструкции опада были отмечены на площадках горной тундры и низинных тропиков, соответственно. Вклад макросапрофагов в деструкцию опада (LRR) был достоверно связан с их обилием ($R^2 = 0,44$) и логарифмом метаболизма ($R^2 = 0,41$) (рисунок 1). Относительно слабую связь между LRR и метаболизмом сапрофагов можно объяснить особыми условиями площадки «Приречная» низинного тропического леса в Каттьене, на которой отмечено высокое обилие инвазивного почвенного дождевого червя *Pontoscolex corethrurus*. Этот вид извлекает энергию из диспергированного почвенного органического вещества и корневых выделений (Шиленкова и Тиунов, 2014). Следовательно, его роль в разложении растительного опада в мешках, размещённых на поверхности почвы, была незначительной. При исключении из анализа этой площадки метаболизм почвенных сапрофагов определял более половины вариации LRR ($R^2 = 0,60$) (рисунок 1).

Потребление приманки в пластинах bait lamina test было значимо связано как с обилием, так и с метаболизмом макросапрофагов, однако метаболизм объяснял существенно бóльшую долю дисперсии (R^2 = 0,73), чем обилие (R^2 = 0,19) (рисунок 2).

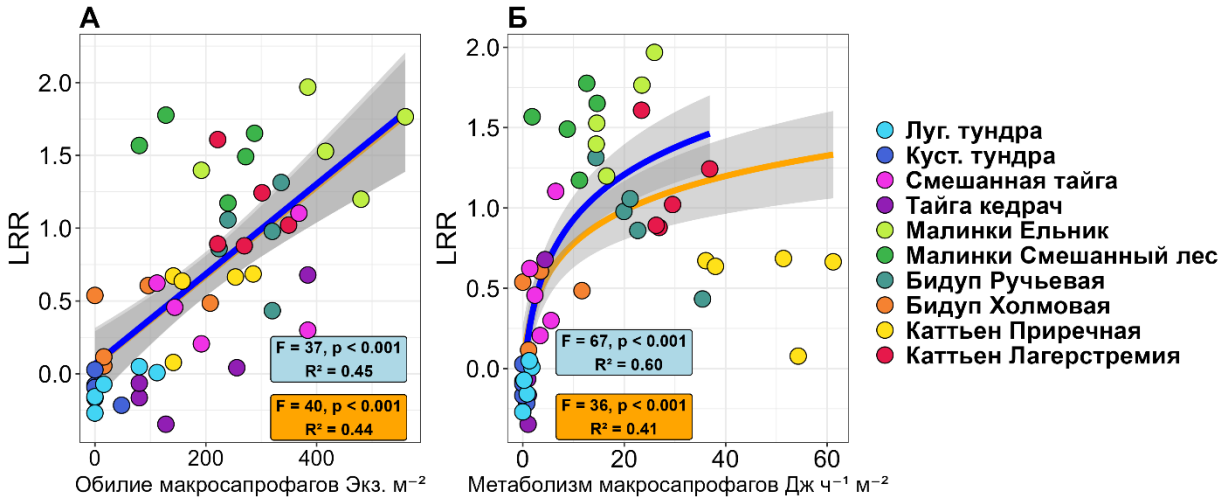


Рисунок 1. Связь между вкладом макросапрофагов в деструкцию опада (LRR) и их обилием (экз.·м$^{-2}$) (А) и суммарным метаболизмом (Дж·ч$^{-1}$·м$^{-2}$) (Б). Жёлтые и синие линии регрессии соответствуют зависимостям с включением и без включения биотопа «Приречная» низинных тропиков, соответственно (см. текст). На панели А линии регрессии совпадают.

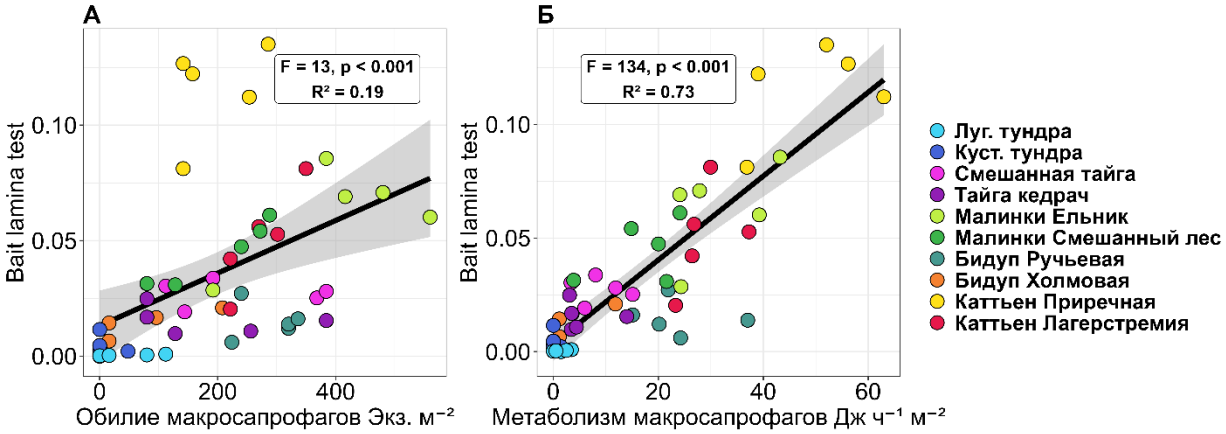


Рисунок 2. Связь между потреблением приманки в тесте с приманочными пластинами (bait lamina test) с обилием (экз.·м$^{-2}$) (А) и суммарным метаболизмом (Дж·ч$^{-1}$·м$^{-2}$) (Б) макросапрофагов.

Вклад макросапрофагов в деструкцию опада имел сильную положительную связь с измеренной с помощью приманочных пластин трофической активностью (R^2 = 0,52, без учета площадки «Приречная» низинных тропиков; рисунок 3). Это указывает на возможность оценки вклада макросапрофагов в деструкцию опада с помощью экспрессного метода приманочных пластин.

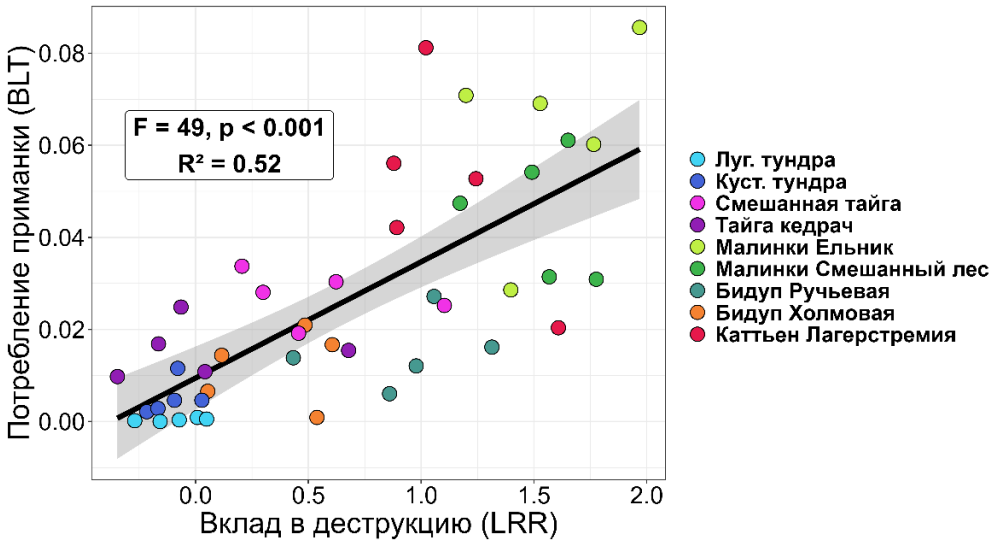


Рисунок 3. Связь между вкладом макрофауны в деструкцию опада (LRR) и трофической активностью почвенных сапрофагов, оцененной с помощью метода приманочных пластин (BLT).

Наша работа впервые на широком климатическом градиенте продемонстрировала сильную связь между вкладом почвенных беспозвоночных в деструкцию опада с их общим обилием. Ранее подобная зависимость была показана лишь в нескольких метаанализах (Xiao et al., 2020; Huang et al., 2020), тогда как другие исследования её не подтверждали (Castillo-Figueroa and Castillo-Avila, 2025; Peng et al., 2023). В большинстве полевых экспериментов, оценивающих вклад животных в деструкцию растительных остатков, в качестве показателя обилия используют количество животных в мешках с опадом (Peng et al., 2023; Wall et al., 2008). Этот упрощенный подход не позволяет учитывать важнейшие группы крупных и подвижных сапрофагов (термиты, диплоподы, норные дождевые черви).

Связь с обилием почвенных животных, как правило, не выявляется и для результатов оценки трофической активности с помощью метода приманочных пластин (Gongalsky et al., 2004; Römbke et al., 2006; Rożen et al., 2015); лишь два локальных исследования указывают на положительную связь потребления приманки с обилием коллембол (Birkhofer et al., 2011) и энхитреид (Pelosi et al., 2020). Помимо широкого спектра исследованных экосистем, ключевым отличием нашего эксперимента от ранее проведенных работ был учет зависимости активности беспозвоночных от температуры.

Оценка интенсивности биотурбации с использованием трассирующих частиц в почве. Большая часть бисера оставалась в пределах верхних 3-5 см почвенного профиля (рисунок 4). На больших глубинах встречались единичные частицы, часто образующие короткие цепочки.

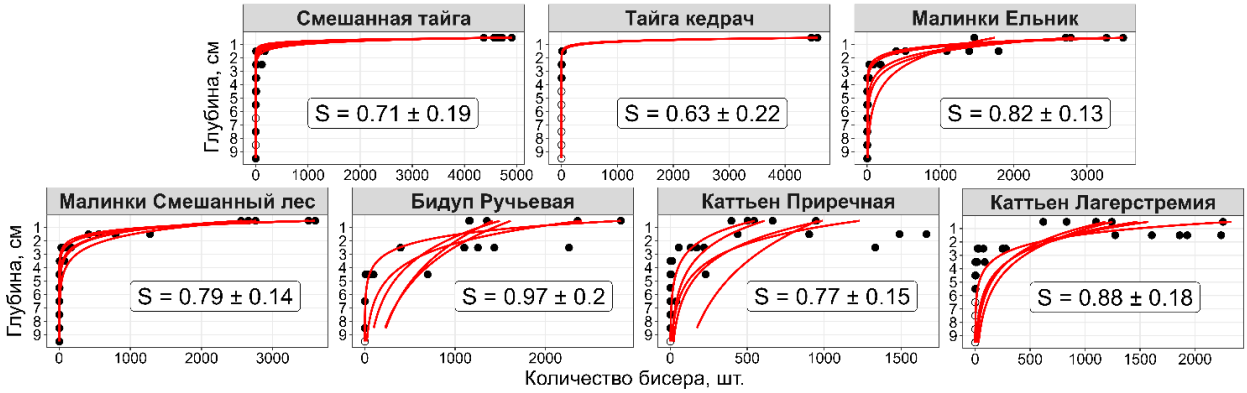


Рисунок 4. Зависимость количества частиц бисера от глубины почвенного профиля в исследованных экосистемах.

Интенсивность миграции бисера возрастала с увеличением активности дождевых червей (R^2 = 0,44; рисунок 5). Остатки регрессионной модели не были связаны ни с гранулометрическим составом почвы, ни со среднегодовым количеством осадков, что подтверждает преобладание биотурбации над пассивным переносом частиц.

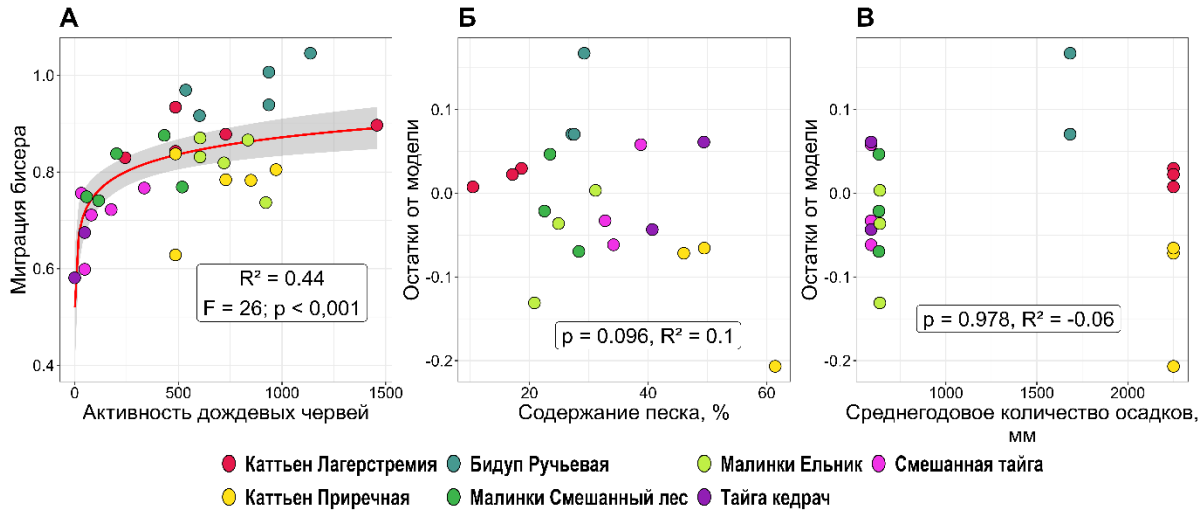


Рисунок 5. (А) Связь между интенсивностью миграции частиц бисера и активностью дождевых червей; (Б) зависимость остатков регрессии от гранулометрического состава почвы и (В) среднегодового количества осадков.

Полученные результаты предполагают, что интенсивность миграции трассирующих частиц может служить простым количественным показателем биотурбации в различных экосистемах. Подход, основанный на прослеживании частиц, погружаемых дождевыми червями в почву, был описан ещё Ч. Дарвином (Darwin, 1881). Однако в последние десятилетия он использовался только в лабораторных экспериментах (Capowiez et al., 2021). Наш метод можно рассматривать как упрощение и совершенствование существенно более сложного в реализации протокола, предложенного в международном проекте KEYSOM (Jimenez et al., 2020). Показанная нами связь активности дождевых червей с миграцией бисера

объясняла менее половины наблюдаемой вариации, что, очевидно, связано с целым рядом ограничений: однократным учётом обилия червей, отсутствием их разделения на морфо-экологические группы и исключением из анализа других почвенных инженеров.

Влияние макрофауны на распределение стабильных изотопов в профиле почвы. Общее содержание органического углерода и азота, как и величины $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$, изменялись в почвенном профиле в соответствии с общеизвестными закономерностями (Action et al., 2013) (рисунок 6).

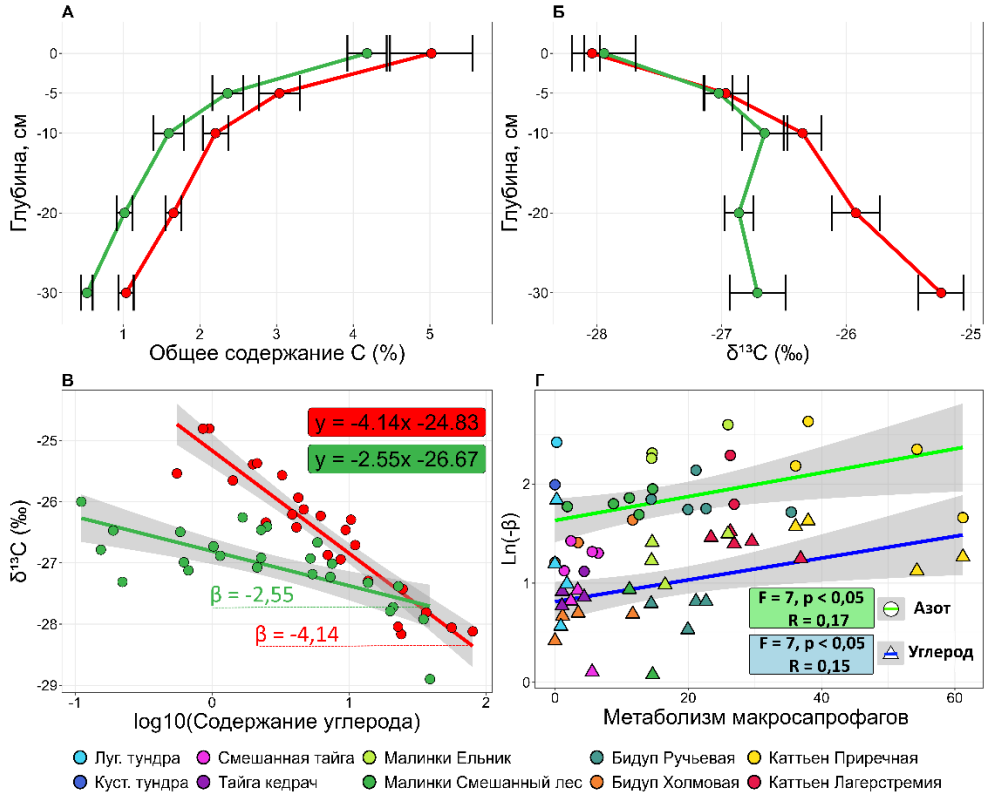


Рисунок 6. (А) Распределение общего содержания углерода, %С, и (Б) изотопного состава углерода, $\delta^{13}C$, в почвенном профиле. (В) Расчёт коэффициентов β на примере биотопов «Малинки Смешанный лес» (зеленые символы) и «Каттьен Лагерстремия» (красные символы). (Г) Зависимость коэффициентов β для азота и углерода от метаболизма макросапрофагов. Треугольники и круги показывают статистически значимые коэффициенты $Ln(-\beta_N)$ и $Ln(-\beta_C)$ для отдельных повторностей.

Вопреки нашим ожиданиям, обилие почвенной макро- и мезофауны не было связано с величиной коэффициентов β для углерода и азота. Только метаболизм макросапрофагов показал слабую, но статистически значимую положительную связь с ln(–β) для обоих элементов (Рис. 4 Г). Увеличение ln(–β) связано с более высокой микробной активностью и температурой и отражает усиление оборота почвенного органического вещества (Wang et al., 2018; Soldatova et al., 2024). Полученные результаты позволяют предположить, что влияние почвенных беспозвоночных на формирование изотопного профиля почвы в исследованном широтном градиенте реализуется преимущественно косвенно — через регуляцию активности

микробных сообществ, а не путём непосредственного переноса органического вещества по профилю. Низкие значения R^2, однако, указывают, что метаболическая активность сапрофагов объясняет лишь небольшую долю вариации ln(–β), и этот показатель вряд ли может служить надёжным индикатором интенсивности биотурбации в изученных экосистемах.

Глава 4. Метабаркодинг сообществ почвенных беспозвоночных

Эксперимент с искусственными сообществами. Для различных методов экстракции ДНК доля выявленных таксонов почвенных беспозвоночных варьировала от 38% до 67% для видов, от 43% до 74% для родов и от 63% до 94% для семейств. Наилучшие результаты показывали наборы для выделения ДНК из тканей.

Эксперимент с естественными сообществами. При сравнении морфологической идентификации и метабаркодинга почвенных беспозвоночных доля таксонов, выявленных обоими методами, повышалась при повышении таксономического уровня: 5% для видов, 11% для родов, 31% для семейств, 81% для отрядов. На всех таксономических уровнях морфологический метод позволял выявлять большее разнообразие беспозвоночных, чем метабаркодинг извлеченных из почвы животных. Тем не менее, оба метода показывали схожий характер изменения структуры сообществ почвенных беспозвоночных под пластиковой плёнкой (рисунок 7).

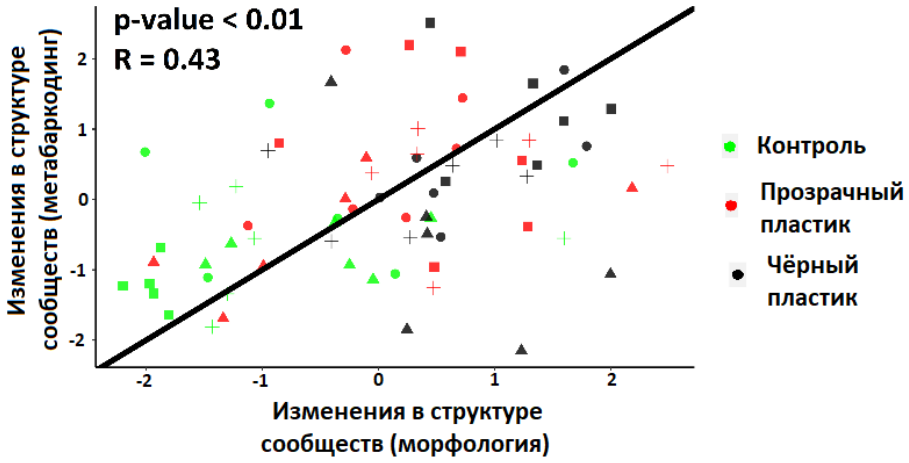


Рисунок 7. Изменения в структуре сообществ почвенных беспозвоночных (на уровне семейств) при воздействии пластиковой плёнки в различных биотопах по результатам метабаркодинга и морфологического определения. Изменения в структуре сообществ оценивали по координатам дискриминантных функций, объясняющих наибольшую долю дисперсии при разных экспериментальных воздействиях.

Оптимизация методики выделения средовой ДНК почвы. Таксономическое богатство беспозвоночных, обнаруженных в отдельных образцах, на всех таксономических уровнях было выше при использовании разработанной методики выделения ДНК (метод

фильтрации) по сравнению с коммерческими наборами (рисунок 8А). Общее число идентифицированных родов было в 2–2,5 раза выше при использовании метода фильтрации (119 родов), чем при использовании наборов PowerMax (61 род) и Magen (49 родов). Число общих таксонов, выявленных традиционными методами и метабаркодингом средовой ДНК, выделенной по разработанной методике, повышалось при повышении таксономического уровня и составило 21% для родов, 31% для семейств и 64% для отрядов (рисунок 8 Б).

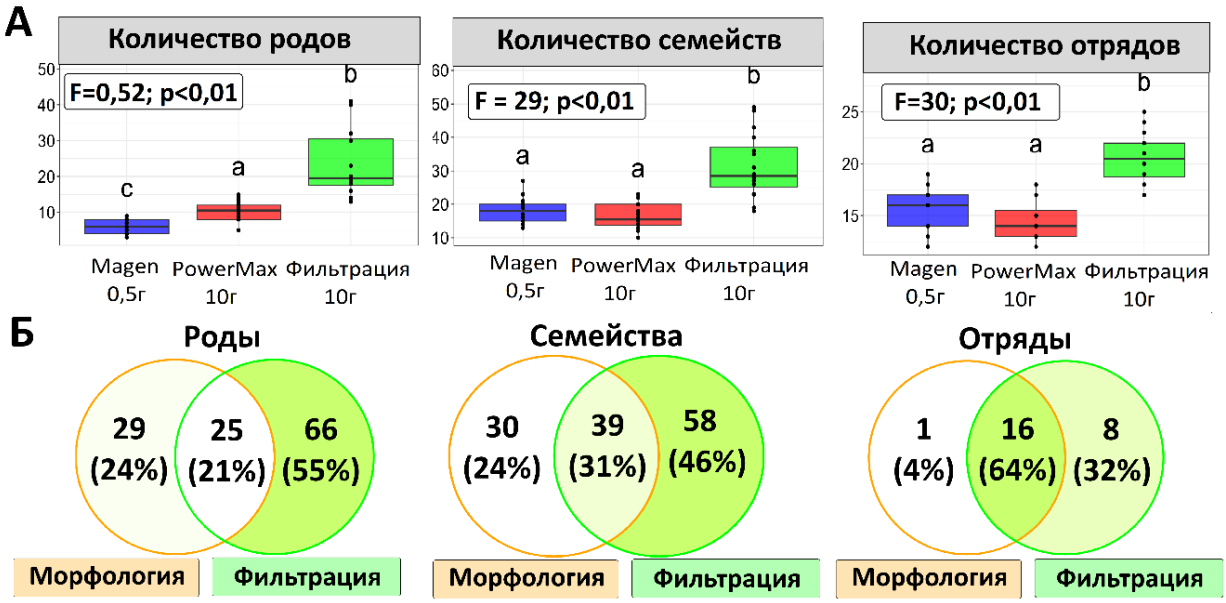


Рисунок 8. (А) Разнообразие беспозвоночных в отдельных пробах (n = 16) на разных таксономических уровнях, выявленное с использованием различных методов экстракции ДНК. «Magen» и «PowerMax» – коммерческие наборы для выделения ДНК из 0,5 и 10 г почвы соответственно. «Фильтрация» – разработанная методика выделения ДНК. **(**Б) Диаграммы Венна для числа таксонов, идентифицированных с использованием средовой ДНК, выделенной с помощью разработанной методики (Фильтрация) и традиционных почвенно-зоологических методов (Морфология), для родов, семейств и отрядов.

Связь между численностью и количественными метриками метабаркодинга (встречаемости и относительного числа ридов) зависели от таксономической группы и метода экстракции. При навеске 0,5 г значимая корреляция выявлена только между численностью насекомых и их встречаемостью (R = 0,50). При увеличении навески до 10 г показаны значимые корреляции численности коллембол, клещей и насекомых с относительным числом ридов и/или встречаемостью (рисунок 9). Обилие Trombidiformes не коррелировало ни с одной из количественных метрик метабаркодинга.

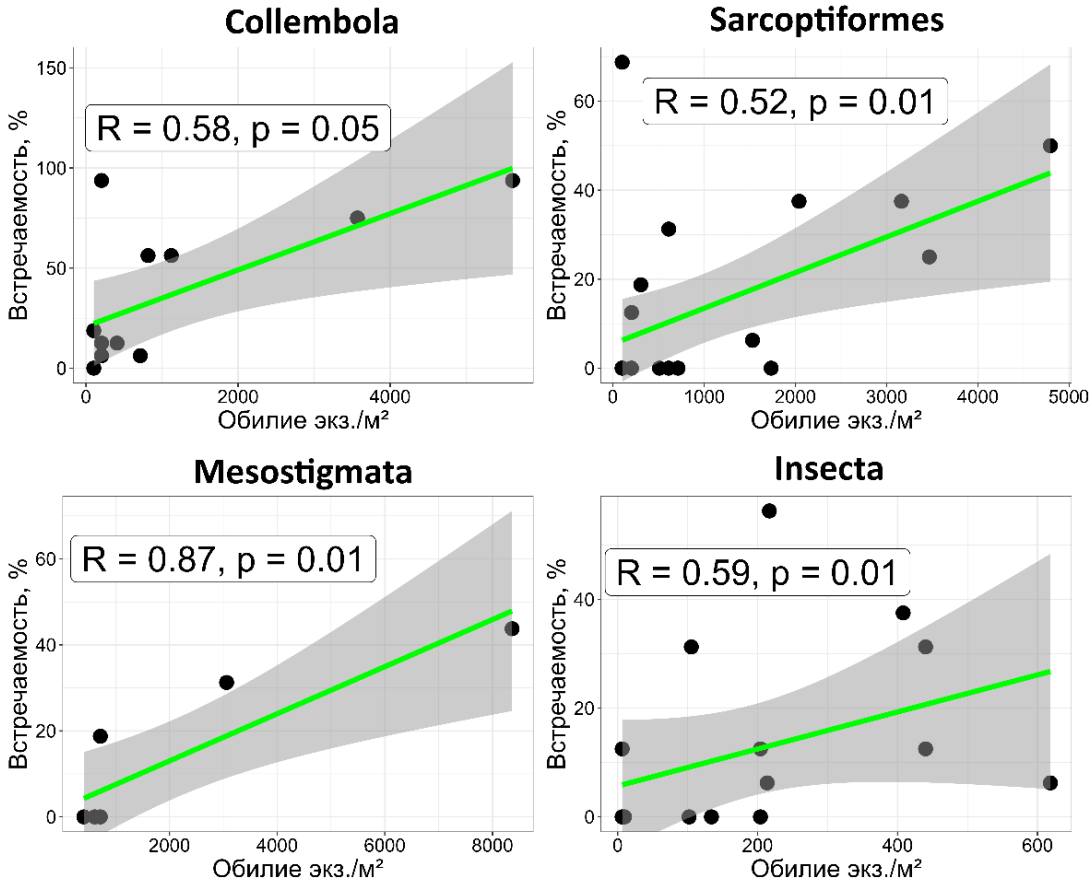


Рисунок 9. Зависимость встречаемости семейств основных классов беспозвоночных в результатах метабаркодинга средовой ДНК, выделенной из серии проб (n = 16) по разработанной методике, от их обилия в почвенных пробах, оценённого классическими почвенно-зоологическими методами. Точки отражают обилие и встречаемость отдельных семейств.

Проведённые эксперименты показывают, что традиционные почвенно-зоологические методы и метабаркодинг дают разные оценки выявляемого разнообразия. Однако при повышении таксономического уровня до родов или семейств доля общих таксонов возрастает. При характеристике сообществ почвенных беспозвоночных в модельных биотопах мы были вынуждены проводить однократный скрининг разнообразия по стандартному протоколу, подразумевающему отбор пяти проб на биотоп (Potapov et al., 2022). Этого количества, очевидно, недостаточно для полного описания разнообразия почвенного населения. Кроме того, однократный отбор проб не учитывает сезонную динамику присутствия многих групп беспозвоночных. Средовая ДНК может сохраняться в почве на протяжении месяцев, что позволило выявить значительную долю разнообразия для важных групп беспозвоночных - насекомых, дождевых червей и диплопод. В связи с этим для анализа зависимости параметров функциональной активности беспозвоночных от их разнообразия мы использовали суммарные данные, полученные с помощью классических почвенно-зоологических методов и метабаркодинга средовой ДНК.

Глава 5. Связь функциональной активности и разнообразия почвенной фауны

Функциональное значение разнообразия почвенной биоты, включая разнообразие сапрофагов, остаётся одним из наиболее дискуссионных вопросов. Принято считать, что высокая функциональная избыточность почвенных сообществ приводит к дублированию функций между видами, из-за чего прямая связь между общим разнообразием и вкладом беспозвоночных в экосистемные процессы часто не выявляется (Hättenschwiler et al., 2005; Nielsen et al., 2011). Ни один из измеренных в нашей работе функциональных параметров (вклад сапрофагов в деструкцию опада, трофическая активность, интенсивность биотурбации) не был связан с богатством семейств беспозвоночных, влияющих на эти параметры. В частности, максимальный вклад макросапрофагов в деструкцию опада отмечен не в тропических экосистемах, где, по нашим данным, разнообразие сапрофагов максимально, а в зоне умеренных лесов (рисунок 10).

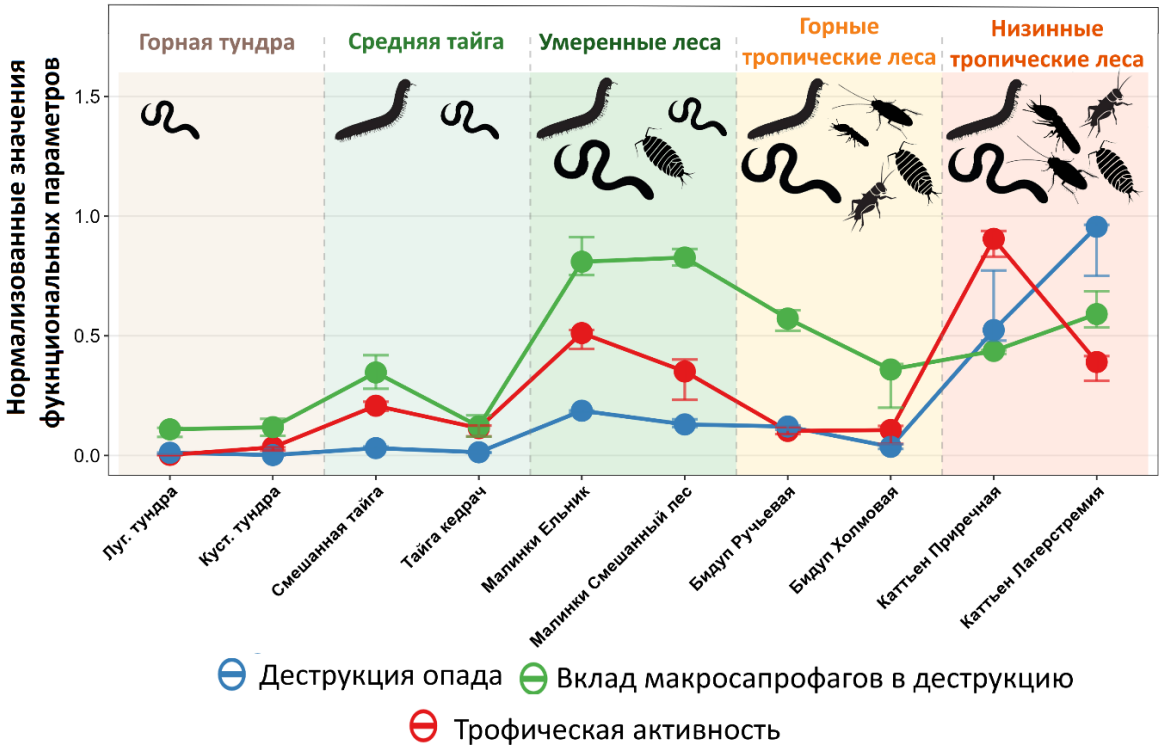


Рисунок 10. Нормализованные оценки скорости деструкции опада в мешках с доступом всех почвенных беспозвоночных (размер ячеи 5 мм), вклада макросапрофагов в деструкцию опада (LRR) и трофической активности, оценённой с помощью bait lamina test, в широтном градиенте. Точки показывают медианные значения представленных показателей, усы – межквартальный размах. Тёмные силуэты отражают присутствие в экосистемах ключевых групп почвенных макросапрофагов (подстилочные и почвенные дождевые черви, многоножки, мокрицы, термиты, крупные тараканы, сверчки).

Считается, что основной механизм влияния разнообразия почвенных беспозвоночных на экосистемные процессы связан с нишевой комплементарностью функциональных групп (Briones, 2014). Вклад беспозвоночных достигает максимума при наличии минимально необходимого набора ключевых групп и далее уже мало зависит от разнообразия таксонов (Setälä et al., 2005). Этот механизм может объяснять полученные нами результаты. Вместе с тем, они противоречат обширному метаанализу Чжена с соавт. (Zheng et al., 2024), который выявил наибольший вклад сапрофагов в деструкцию в тропических экосистемах. В крупномасштабном эксперименте Д. Уолл с соавт. (Wall et al., 2008) отмечен сопоставимый вклад животных в деструкцию опада в тропических и умеренных регионах. Противоречивость экспериментальных данных подтверждает сложный характер зависимости между разнообразием сапрофагов и функционированием детритного блока экосистем. За пределами ограниченного набора ключевых видов и функциональных групп положительная зависимость функций от разнообразия, по-видимому, не носит универсального характера.

Выводы

1. В широком климатическом градиенте экспериментально измеренные трофическая активность почвенных животных и вклад макросапрофагов в деструкцию опада статистически значимо связаны с их общим обилием (R^2 = 0,19 и 0,45, соответственно). Учёт температурной зависимости метаболизма макросапрофагов приводит к значительному увеличению силы связи для трофической активности (R^2 = 0,73) и вклада в деструкцию опада (R^2 = 0,60).

2. С помощью вновь разработанного метода выявлена статистически значимая связь (R^2 = 0,44) между интенсивностью биотурбации почвы (скоростью погружения яркоокрашенных трассирующих частиц) и скорректированным на температуру обилием дождевых червей.

3. Зависимость изотопного состава азота и углерода от содержания этих элементов в почвенном профиле имеет слабую положительную связь с метаболизмом почвенных макросапрофагов. Это предполагает, что влияние беспозвоночных на изотопный профиль почвы определяется преимущественно стимуляцией микробной активности, а не перемещением органического вещества.

4. Эксперимент с искусственными смесями видов показал возможность с помощью метабаркодинга корректно идентифицировать до 95% семейств беспозвоночных. Однако результаты метабаркодинга «естественной» смеси экстрагированных из почвы животных существенно расходятся с результатами традиционных морфологических методов идентификации (около 30% общих семейств). Тем не менее, традиционный морфологический метод и метабаркодинг показали схожие паттерны изменения сообществ почвенных беспозвоночных в ответ на экспериментальные нарушения почвенного покрова.

5. Разработанная методика выделения средовой ДНК из больших (10 г) навесок почвы позволила выявить в 2,5 раза большее разнообразие почвенных беспозвоночных по сравнению со стандартным подходом, использующим 0,5 г почвы. При использовании для выделения ДНК 10 г почвы выявлены значимые корреляции между полуколичественными метриками (относительным числом ридов и встречаемостью таксонов), полученными при метабаркодинге, и обилием ключевых групп почвенных членистоногих.

6. Таксономическое богатство почвенных сапрофагов, оцененное комбинацией традиционного метода и метабаркодинга средовой ДНК, не показало значимых связей с трофической активностью и интенсивностью биотурбации. По-видимому, функциональная избыточность сообществ нивелирует связь между таксономическим разнообразием и отдельными экосистемными функциями почвенных сапрофагов.

Благодарности

Данное исследование было бы невозможно без помощи моих коллег и друзей. Выражаю глубокую благодарность научному руководителю д.б.н. А.В. Тиунову за всестороннюю помощь в работе. Благодарю Д. Д. Виноградова, И. Д. Цвелева, К. В. Савельеву, О. Л. Розанову, А. В. Колотей, к.б.н. А. О. Звездина, к.б.н., а также к.б.н. Ф. А. Пландина, и И. Г. Довгоброда за помощь в проведении полевых работ. Благодарю к.б.н. С. М. Цурикова и К. В. Савельеву за проведение изотопного анализа почвы.

Выражаю балгодарность к.б.н. Е.С. Гусеву, к.б.н. Н.А. Мартыненко, к.б.н. В.С. Чепцову, к.б.н. А.А. Белову за помощь в планировании и проведении экспериментов по оценце эффективности метабаркодинга для характеристики разнообразия почвенных беспозвоночных. Благодарю Б.Д. Ефейкина за организацию высокопроизводительного секвенирования. Проведение экспериментов по сопоставлению результатов метабаркодинга с классическими методами исследования было бы невозможно без специалистов, проводивших идентификацию беспозвоночных – к.б.н. Л.Б. Рыбалова (основные таксоны макрофауны), к.б.н. В.Д. Леонова и к.б.н. В.Б. Колесникова (Sarcoptifromes), к.б.н. О.Л. Макаровой (Mesostigmata, Trombidiformes), к.б.н. А.Ю. Короткевич (Collembola), к.б.н. А.В. Танасевича (Araneae), д.б.н. М.Г. Кривошеиной (Diptera).

Я благодарен сотрудникам Полярно-альпийского ботанического сада имени Н. А. Аврорина Е. А. Боровичеву и Е. И. Копеиной за возможность проведения работ на площадках горной тундры; к.б.н. И.В. Палько и Nguyễn Trung Đức (Российско-Вьетнамский тропический центр) за возможность проведения работы на территориях национальных парков Бидуп-Нуйба и Каттьен; к.б.н. Б.И. Шефтелю за предоставление возможности работы на Енисейской экологической станции «Мирное».

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК

1. **Сотников И.В**., Белов А.А., Леонов В.Д., Макарова О.Л., Машков К.А., Короткевич А.Ю., Кривошеина М.Г., Розанова О.Л., Рыбалов Л.Б., Танасевич А.В., Чепцов В.С., Тиунов А.В. Влияние макропластика на сообщества почвенных беспозвоночных: исследование с помощью традиционного и молекулярного методов // Russian Journal of Ecosystem Ecology. – 2023. – Т. 8, № 3. С. 1–22.

2. **Sotnikov I. V.**, Vecherskii M. V., Cheptsov V. S., Tiunov A. V. Metabarcoding of a mock community of soil invertebrates: DNA extraction, false positives, and data filtration // Pedobiologia. – 2025. – Vol. 109. – Art. 151022.

3. **Sotnikov I. V.**, Vinogradov D. D., Nguyen T. D., Tiunov A. V. An interregional assessment reveals a link between activity of earthworms and soil bioturbation // Soil Biology and Biochemistry. – 2026. – Vol. 198. – Art. 110231.

4. **Сотников И. В.**, Тиунов А. В. Вклад почвенных сапрофагов в экосистемные процессы зависит от их обилия и суммарного метаболизма: результаты комплексного полевого эксперимента в широком климатическом градиенте // Russian Journal of Ecosystem Ecology. – 2026. – Т. 11, № 2. С. 1–18.

Публикации в других изданиях

1. Юдина А.В., Фомин Д.С., **Сотников И.В.**, Леонов В.Д., Тимофеева М.В., Клюева В.В., Романенко К.А., Валдес-Коровкин И.А., Скворцова Е.Б. Влияние состава фауны на структуру постагрогенной дерново-подзолистой почвы под ельником / VII Молодежная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего». Москва, 18–22 сент. 2023 г. Тезисы докладов. Москва, Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2023. С. 81–82.

2. **Sotnikov I.,** Gusev E., Martynenko N., Efeykin B., Tiunov A. eDNA extraction from large soil samples for the large organisms: metabarcoding of soil invertebrate diversity / XIX International Colloquium on Soil Zoology (ICSZ) and the XVI International Colloquium of Apterygota (ICA). Cape Town, South Africa, 26–29 August 2024. 2024 P. 122.

3. **Сотников И.В.**, Мартыненко Н.А., Гусев Е.С. Методика экстракции ДНК из почвы для идентификации многоклеточных почвенных организмов / Конгресс исследователей симбиотических систем. Москва, 6–11 октября 2025 г. Тезисы докладов. Москва, 2025. – С. 129.

4. **Сотников И.В.**, Мартыненко Н.А., Гусев Е.С. Модификация метода экстракции eDNA для исследования сообществ почвенных беспозвоночных / IX Молодёжная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего». Москва, 22–26 окт. 2025 г. Тезисы докладов. Москва, Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2025. С. 100.

5. **Сотников И.В.**, Тиунов А.В. Вклад почвенных сапрофагов в экосистемные процессы зависит от их обилия и суммарного метаболизма: полевой эксперимент в широком климатическом градиенте / XX Совещание по почвенной зоологии и экологии, 14–18 сент. 2026 г. Тезисы докладов. – Москва, 2026. С. 150–151.