

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

Научная статья

УДК 631.4

doi: 10.17223/19988591/58/1

Размер и содержание органических частиц в копролитах дождевых червей *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* (модельный эксперимент)

Олег Алексеевич Фролов^{1,2}, Евгений Юрьевич Милановский³

¹ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, Россия

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

³ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения
Российской академии наук, Пушкино, Россия

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>, 6.40.7.4@mail.ru

³ milanovskiy@gmail.com

Аннотация. Заметную роль в процессах накопления, перемешивания и преобразования почвенного органического вещества играют дождевые черви. Изменение параметров состояния почвенного органического вещества оказывает влияние на гранулометрический состав почв. Однако до сих пор недостаточно ясно как гранулометрический состав почв меняется в ходе трансформации растительных остатков почвенными дождевыми червями. Поэтому в данном исследовании изучалось воздействие двух видов почвенных дождевых червей (*Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus*) на гранулометрический состав почвы. В ходе исследований проверяли две гипотезы: а) дождевые черви изменяют гранулометрический состав путем измельчения органического вещества; б) дождевые черви не оказывают влияния на гранулометрический состав минеральной части почв. Для опытов использовали образцы из гумусового горизонта агрочернозёма миграционно-мицеллярного. Гранулометрический состав определяли в четырех вариантах лабораторного микрокосма: почва без опада; почва с опадом; почва с опадом и эндогейнными дождевыми червями (*A. caliginosa*); почва с опадом и эпигейными дождевыми червями (*L. rubellus*). Гранулометрический состав измеряли методом лазерной дифракции. Исследование подтвердило только первую гипотезу, так как в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus* обнаружены минеральные частицы размером более 100 мкм, отсутствующие в исходной почве. Скорее всего это связано с поступлением фитоцитов из опада и накоплением их в копролитах. Показано, что дождевые черви изменяют гранулометрический состав почвы за счет измельчения растительного опада. В связи с поступлением органических частиц из опада дождевые черви увеличили долю крупного песка в песчаной фракции. Дождевые черви вида *A. caliginosa* концентрируют в копролитах минеральные частицы мелкого песка (+0,46%), среднего песка (+0,37%), крупного песка (+0,07%), а *L. rubellus* концентрируют частицы ила (+3,8%) и мелкого песка (+0,36%). Таким образом, показано, что дождевые черви изменили гранулометрический состав почвы.

Ключевые слова: чернозем, дождевые черви, органическое вещество почвы, элементарные почвенные частицы, распределение частиц по размерам

Источник финансирования: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90069.

Для цитирования: Фролов О.А., Милановский Е.Ю. Размер и содержание органических частиц в копролитах *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* (модельный эксперимент) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 6–27. doi: 10.17223/19988591/58/1

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/1

Size and Content of Organic Particles in the Casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* (Model Experiment)

Oleg A. Frolov^{1,2}, Evgeniy Yu. Milanovskiy³

¹ V. V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pushchino, Russian Federation

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>, 6.40.7.4@mail.ru

³ milanovskiy@gmail.com

Summary. Being part of a wide variety of soil invertebrates, earthworms play an important role in soil organic matter (SOM) accumulation, mixing and transformation. The goal of this study is to detect organic and mineral particles in the particle-size distributions (PSD) of the casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus*. The two hypotheses of this study are as follows: (a) earthworms change PSD by grinding organic matter (OM), and (b) PSD without OM does not vary in all the variants. For the first time ever, the authors studied PSD before and after OM oxidation in casts. For the first time ever, they also described the increase in the content of mineral particles in the casts of *A. caliginosa* and *L. rubellus* that was not observed in the control samples. The soil did not contain particles of >100 µm (based on the performed particle-size distribution analysis).

The experimental site was located 15 km to the north of V. V. Alekhin Central Black Earth State Biosphere Reserve. In 1947, a black earth plot having an area of 0.6 hectares was ploughed under regularly mowed virgin motley grass-meadow vegetation within the Reserve territory (51°34'12.5"N 36°05'22.5" E). In this study, we used a model experiment based on microcosms with earthworms. We took soil from the arable black earth horizon of Kursk Region (51°37'17.1" N; 36°15'42.0" E). This type of soil was Protocalcic Chernozem (Loamic, Pachic). The microcosms belonged to four variants: soil, soil&litter, soil&litter and worms (*A. caliginosa*), soil&litter and worms (*L. rubellus*). All the variants had four replications. We took a total of 24 samples (an average sample from 10 different parts of the microcosm) from each variant based on replications and sampling timing (Figure 2). We measured the total content of C after dry combustion in an oxygen stream at 1,000 °C with the AN-7529 carbon analyzer (Gomel Plant of Measuring Devices, Republic of Belarus) using the method of automatic coulometric titration. For our PSD analysis, we used the laser diffractometer Malvern Mastersizer 3000E with a helium-neon red light at a wavelength of 632.8 nm, and the 600ml Hydro LV dispersing device. The measurement ranges of particle sizes were from 0.01 to 2,000 µm (Malvern Panalytical Inc., GB). We determined PSD in soil samples and casts before and after OM oxidation. The laboratory model experiment variants had four replications. We performed a carbon content analysis in three dimensions for each sample. We obtained PSD results in six replications, each of which being an average value of three

sample suspension scans. The figures show arithmetic mean values for the replications and the confidence intervals of a standard deviation at the significance level ($\alpha = 0.05$) calculated using Excel (2010). We made an analysis of variance (ANOVA) and a principal component analysis (PCA) using additive logarithmic ratio transformation for data normalization.

The contribution of the earthworm *A. caliginosa* to SOM accumulation is insignificant. The TOC in the casts of *A. caliginosa* is $0.32 \pm 0.06\%$ higher vs. the reference variant "soil." The TOC in the soil with the epigeic soil-litter earthworm *L. rubellus* ($4.99 \pm 0.4\%$) and its casts ($5.03 \pm 0.24\%$) is significantly higher vs. other experiment variants (Figure 3). Earthworms changed the soil PSD, which led to a redistribution of particles (Table 1). Owing to the intake of organic particles, earthworms increased the share of coarse sand in the sand fraction (vs. the particle fraction (PF) of the control sample – soil without litter and earthworms) for *A. caliginosa* (very fine sand +1.05%, fine sand +1.07%, medium sand +0.4%, coarse sand +0.22%) and *L. rubellus* (very fine sand +3.36%, fine sand +4.7%, medium sand +2.24%, coarse sand +1.03%) (Figure 4). The earthworms *A. caliginosa* concentrate mineral particles of fine sand (+0.46%), medium sand (+0.37%), and coarse sand (+0.07%) in their casts, while *L. rubellus* concentrate silt particles (+3.8%) and fine sand (+0.36%) (Figure 5). The loss of vol.(%) after oxidation in all fractions in all the variants is caused by soil organic matter (Table 2). We used PCA to assess the effect of earthworm species and litter on the size and content of organic particles in casts and soil (Figure 6). The PCA results show important fractions for detection of organic ($>100 \mu\text{m}$) and mineral (250–500 μm , 500–1,000 μm) particles in the PSD. We assessed the effect of the size and content of organic particles in casts using ANOVA (Table 3). The most important factors are earthworm species and litter (based on the partial η -square). We assume that the source of mineral particles in the casts of *A. caliginosa* are phytoliths from the litter of *Acer platanoides* (L). The earthworms *L. rubellus* have a stronger effect on soil vs. *A. caliginosa*. The study does not confirm some of our hypotheses. Earthworms change PSD through OM grinding, but the PSD without OM is different in all the variants. We hypothesize in our paper that the reason is the destruction of phytoliths from litter and their accumulation in casts. One may distinguish between organic and mineral components in samples through determination of PSD before and after organic matter removal. We recommend determining a particle-size distribution both before and after organic matter removal from initial samples.

The paper contains 5 Figures, 3 Tables, 54 References.

Keywords: chernozem, earthworms, soil organic matter, elementary soil particles, particle-size distribution

Funding: The work was carried out within the framework of the research RFBR projects 19-34-90069-19

For citation: Frolov OA, Milanovskiy EYu. Size and Content of Organic Particles in the Casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* (Model Experiment). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = Tomsk State University Journal of Biology. 2022;58:6-27. doi: 10.17223/19988591/58/1

Введение

Среди большого разнообразия почвенных беспозвоночных важную роль в процессах накопления, перемешивания и преобразования почвенного органического вещества (ПОВ) играют дождевые черви [1, 2]. Поглощение дождевыми червями почвенной массы гумусовых горизонтов достига-

ет 200–400 мг сухого веса на 1 г массы тела дождевого червя в сутки; скорость прохождения по кишечнику дождевого червя колеблется от нескольких часов до суток [3]. Активно воздействуя на почву, дождевые черви меняют ее свойства. Результат жизнедеятельности дождевых червей в почве отражается на свойствах почвы: содержание углерода органических соединений ($C_{орг}$) и его стабилизация [4–8], пористость, устойчивость и влагоотталкивающие свойства [9–11], содержание обменных катионов, pH [12–14], влияние нор дождевых червей на миграцию влаги. Дождевые черви воздействуют на почву и как природную систему, и как сельскохозяйственный объект [15–17]. Например, no-till вызывает увеличение содержания ПОВ [18, 19]. Вклад в это увеличение вносят все микроорганизмы почвы, животные, в том числе и дождевые черви. Есть исследования, свидетельствующие о том, что численность дождевых червей возрастает при использовании системы земледелия no-till [20].

Оценка воздействия дождевых червей на почву основывается на изучении почвы с дождевыми червями и сравнении ее с эталонным образцом почвы без дождевых червей. Такой подход не позволяет точно определить, что вызывает изменение тех или иных свойств почвы. В частности, не всегда ясно, произошло ли изменение за счет появления на поверхности растительных остатков и преобразования их микроорганизмами или различия вызваны деятельностью почвенных животных. Также при оценке свойств почвы в целом, где обитали дождевые черви, неизбежно будет происходить усреднение и наложение результатов, тогда как наиболее активные процессы и изменения происходят именно в копролитах, которые являются «горячими точками» для микроорганизмов [4].

В природе, особенно в условиях агроценоза, значение дождевых червей трудно переоценить. В работе P. Nedělec et al. [21] проведен эксперимент с *Lumbricus rubellus*, результат которого показал, что наибольшая численность и высокая активность микроорганизмов приурочена к дрилофере. Авторы, к сожалению, копролиты не выделили в отдельную группу, а включили в «дрилоферу». Тем не менее полученные результаты исследования согласуются с нашим предположением – максимальный эффект и результат воздействия дождевых червей на почву локализован в копролитах. В ряде исследований [22, 23] отмечается важность присутствия дождевых червей в почвах сельскохозяйственных угодий, их вклад в стабилизацию ПОВ [7].

В работе [7] показано, что слизь дождевых червей стимулирует микробиологическое разложение органических веществ (ОВ) в почве, где микроорганизмы находятся в адгезированном состоянии [23]. Увеличение площади поверхности органических частиц способствует росту микробной биомассы и как следствие общей скорости управляемых ими процессов. Большая площадь поверхности органических частиц способствует росту количества микроорганизмов помимо слизи. Дождевые черви разрушают растительные остатки, таким образом увеличивая площадь поверхности органических частиц [24], что свидетельствует об изменении гранулометрического

состава (ГС) с учетом ОБ. Измельчение растительных остатков дождевыми червями является необходимым условием эффективного функционирования почвенных экосистем. ГС почвы являются ее фундаментальной физической характеристикой [25]. Соотношение разноразмерных элементарных почвенных частиц (ЭПЧ) в ГС и их тип зависят от свойств и генезиса почвы [25, 26].

О ГС копролитов известно немного, несмотря на большое количество публикаций о характеристике свойств копролитов и влиянии дождевых червей на почву. ГС копролитов позволяет оценить роль дождевых червей в изменении физических свойств почвы (плотность, пористость, агрегатный состав почвы и др.), определяющих ее плодородие и агротехническую ценность. Существующие литературные данные по ГС копролитов трудно сопоставимы, так как они получены разными методами (просеивание, седиментация, лазерная дифракция), а также либо для исходных образцов, либо после удаления из них ОБ, но не для двух вариантов одновременно.

О. Шульманн и А. Тиунов [27] анализировали копролиты дождевых червей ситовым методом в трех диапазонах (2–3, 1–2 и 0,5–1 мм) с учетом их субстратов (песок смешанный с опадом). Они показали, что скорость кормления *Lumbricus terrestris* снижалась, когда не было песка. В работе [28] показано, что наличие песка полезно для дождевых червей. Другой автор [29] показал, что компостным дождевым червям не нужен песок. Косвенное предположение об избирательном накоплении песка дождевыми червями продемонстрировано в работе [30], где отмечено увеличение содержания кремния в копролитах.

Наши исследования [31] показали повышенное содержание мелкой и средней фракций песка в ГС копролитов по сравнению с почвой (в которой жили дождевые черви) из микрокосма. Остается неясной причина (генезис) обогащения копролитов дождевых червей песчаными частицами – избирательное поступление/накопление в кишечнике червя из вмещающей почвы или это связано с органическим генезисом.

Таким образом, определение содержания органических и минеральных частиц в ГС копролитов *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* необходимо для понимания механизмов, влияющих на функционирование почвенных экосистем и, следовательно, на функционирование большого числа наземных экосистем, как естественных, так и антропогенных. Цель исследования заключается в обнаружении органических и минеральных частиц в ГС копролитов *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Проверены две гипотезы. Первая – дождевые черви изменяют ГС путем измельчения ОБ. Вторая – дождевые черви не оказывают влияния на гранулометрический состав минеральной части почв.

Объекты и методы

Образцы почвы. В данном исследовании использовали модельный эксперимент, основанный на микрокосмах с дождевыми червями. Почва взята из пахотного горизонта агрочернозема миграционно-мицеллярного (Классификация и диагностика почв России, 2004) Курской области

(51°37'17,1"N; 36°15'42,0"E). Эта почва диагностирована в [32] как *Protocalcic Chernozem* (Loamic, Pachic) и имеет большое агротехническое значение. Плотность твердой фазы в слое 0–20 см составляет 2,55 г/см³ [33]. Плотность почвы в слое 0–20 см составляет 1,18 г·см³ [44], рН_{H2O} – 6,32±0,11 [34]. Южнее, в 15 км от места отбора образцов, расположен Центрально-Черноземный государственный биосферный заповедник им. В.В. Алехина. В 1947 г. на территории заповедника (51°34'12,5"N; 36°05'22,5"E) был распахан участок чернозема под регулярно скашиваемой целинной разнотравно-луговой растительностью площадью 0,6 га [35]. Проведенное исследование важно для интерпретации результатов изучения трансформации почв этого распаханного участка.

Микрокосмы. Воздушно-сухая почва хранилась в течение двух лет, что обеспечивает минимальное остаточное воздействие собственной биоты образцов исходной почвы на дождевых червей. Пробы почвы для вариантов опыта отбирали из фракций сухого рассева исходной почвы на ситах 10; 7,15; 5; 3,15; 2; 1; 0,5 и 0,25 мм (амплитуда колебаний 2,5 мм, время 2 мин, (Anallysette 3 Spartan Fritsch, Германия)) согласно методике в [36].

Перед проведением опыта влажность почвы доводили до полевой влагостойкости (25%), почву перемешивали и равномерно распределяли по микрокосмам, представляющим собой цилиндрические сосуды объемом 500 мл. Исходные массы воздушно-сухой почвы составляли 350 г. Экспериментальные сосуды выдерживали в темноте при температуре 17–22 °С и гравитационной влажности 35–40% в течение четырех месяцев. Влажность почвы поддерживали путем равномерного добавления воды на поверхность почвы. Уровень влажности контролировали взвешиванием высушенных (105 °С) образцов почвы (исходная масса 5 г) со всех микрокосмов один раз в месяц.

Для исследования были отобраны эндогеиные дождевые черви *Apporectodea caliginosa* (почвенные дождевые черви, живущие в минеральной толще почвы, являются микрофагами) и эпигейные дождевые черви *Lumbricus rubellus* (почвенно-подстилочные дождевые черви, живущие на поверхности почвы, мезофаги [37, 38]). Отбор дождевых червей проводили согласно международному стандарту ISO 23611-1, видовую принадлежность дождевых червей определяли по определителю [39]. Дождевые черви были представлены ювенильными и половозрелыми особями в равных пропорциях. Дождевых червей двух видов *A. caliginosa* и *L. rubellus* содержали раздельно в сосудах с опадом (отбор весной перезимовавших листьев) *Acer platanoides* (L.). Масса дождевых червей в микрокосме 10 г.

Вносили 5 г опада в виде воздушно-сухих цельных листьев на поверхность почвы без перемешивания. В отличие от исследований [7, 9, 12] в нашей работе растительный опад помещался на поверхность почвы без предварительного измельчения и смешивания с минеральной массой. Кленовые листья, лежащие на поверхности почвы, имитируют естественные условия в лабораторном эксперименте (из статьи [40]). Это позволяет эффективно определить функции дождевых червей по переходу и трансформации

ции органического вещества из опада в горизонты почвы. Опад из кленовых листьев был выбран как хорошо потребляемый дождевыми червями [3, 40, 41].

Были сделаны микрокосмы в четырех вариантах: почва и почва с опадом в качестве эталонов; почва с опадом и черви *A. caliginosa*, почва с опадом и черви *L. rubellus*. Все варианты имели четырехкратную повторность. Всего отобрано 24 пробы (средняя проба из 10 разных частей микрокосма) из каждого варианта условий с учетом повторности и времени отбора проб (рис. 1). Пробы эталонной почвы отбирали с глубины 0–2 см, суточные копролиты собирали с поверхности почвы. Пробы отбирали через один, два, три и четыре месяца пребывания дождевых червей в микрокосме. Данные за все месяцы анализируются в едином массиве.

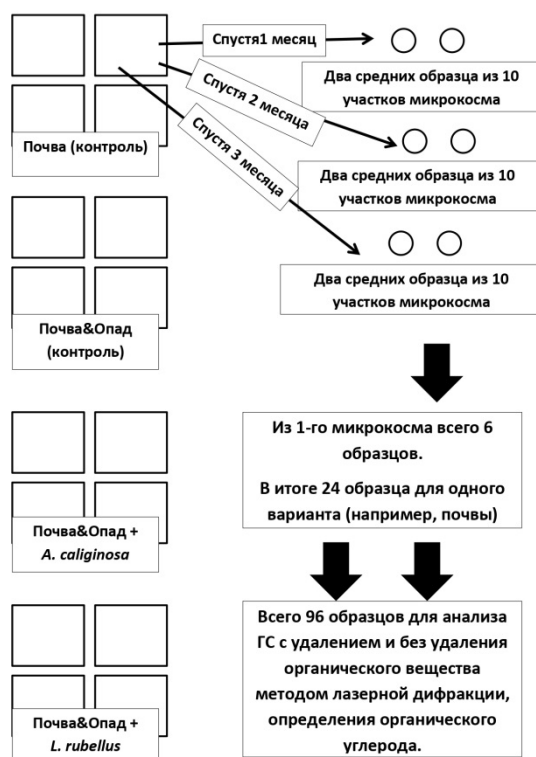


Рис. 1. Дизайн эксперимента
[Fig. 1. The experimental setup]

Содержание органического углерода. Общее содержание углерода после сухого сжигания в токе кислорода при 1000 °С измеряли на анализаторе углерода АН-7529 (Гомельский завод измерительных приборов, Республика Беларусь) методом автоматического кулонометрического титрования. В пахотном горизонте чернозема карбонаты отсутствуют (они глубже 40 см), а весь анализируемый углерод – углерод органических соединений [42].

Лазерный дифракционный анализ размера частиц. Для анализа ГС использовали лазерный дифрактометр Malvern Mastersizer 3000E, оснащенный гелий-неоновым красным светом на длине волны 632,8 нм, диспергатор Hydro LV объемом 600 мл, диапазоны измерения размеров частиц от 0,01 до 2 000 мкм (Malvern Panalytical Inc., Великобритания). ГС определяли в образцах почвы и копролитах до и после окисления ОВ.

Определение ГС следует проводить после разрушения агрегированных частиц в образце. Применение пирофосфата натрия или гексаметафосфата натрия для этой цели невозможно. Обменные катионы из поглощающего комплекса почвы переходят в практически нерастворимый в воде осадок фосфатов кальция и магния, что приводит к несоответствию при определении ГС методом лазерной дифракции [25].

Предварительные испытания показали, что ультразвуковое диспергирование водной суспензии образца на Hydro LV не обеспечивает полного разрушения агрегированных частиц. Образцы диспергировали с помощью предварительно откалиброванного ультразвукового диспергатора Digital Sonifier S-250D (Branson Ultrasound, США). К воздушно-сухой пробе добавляли 30 мл дистиллированной H_2O (120–130 мг с ОВ, 100–110 мг после окисления ОВ) и диспергировали суспензию при энергии ультразвука 450 Дж/мл стандартным роговым наконечником [43–45]. При анализе использовалась теория рассеяния света сферической частицей M_i с показателем преломления твердой фазы 1,55, коэффициентом поглощения 0,1 и показателем преломления воды 1,33 [46, 47].

Классификация фракций ГС проведена по USDA/FAO: ил (0–2 мкм), пыль (мелкая 2–20 мкм, крупная 20–50 мкм) и песок (очень мелкий 50–100 мкм, мелкий 100–250 мкм, средний 250–500 мкм; крупный 500–1000 мкм), обеспечивающая детализацию фракций пыли и песка.

Окисление ОВ. Мокрое окисление органического вещества H_2O_2 проводили по методике, описанной в работе [48]. В этой процедуре использовали количество образца, обеспечивающее уровень затемнения лазерного луча $\geq 10\%$ при определении ГС. 1–2 мл 30% H_2O_2 добавляли к 100–110 мг образца в пробирке «Falcon» (50 мл) при комнатной температуре. На следующий день образцы помещали в термостат (40 °C). Ежедневно добавляли свежую H_2O_2 до прекращения вскипания (10–15 дней). После окисления образцы высушивали при 40 °C и использовали для гранулометрического анализа.

Статистика. Анализ содержания углерода проводили в трех измерениях для каждого микрокосма. Результаты ГС были получены в 24 повторях для каждого объекта (см. рис. 1), каждый из которых представляет собой среднее значение трех сканирований суспензии образца. На рисунках представлены средние арифметические значения и доверительные интервалы стандартного отклонения на уровне значимости ($\alpha = 0,05$), рассчитанные с помощью программы Excel (2010). Дисперсионный анализ (ANOVA) и анализ методом главных компонентов (МГК) рассчитывали с использованием преобразования аддитивного логарифмического отношения для нормализации данных.

Результаты исследования и обсуждение

Общий органический углерод. По сравнению с контрольным вариантом «почва» содержание $C_{орг}$ в почве из варианта опыта «опад–почва» увеличивается на $0,30 \pm 0,05\%$, в варианте «опад–почва–*A. caliginosa*» – на $0,39 \pm 0,08\%$, в варианте «опад–почва–*L. rubellus*» – на $1,33 \pm 0,4\%$. Вклад дождевого червя *A. caliginosa* в накопление почвенного $C_{орг}$ незначителен. По сравнению с контрольным вариантом «почва» содержание $C_{орг}$ в копролитах *A. caliginosa* повышено на $0,32 \pm 0,06\%$. Содержание $C_{орг}$ в почве с дождевым червем *L. rubellus* ($4,99 \pm 0,4\%$) и его копролитами ($5,03 \pm 0,24\%$) достоверно выше, чем в других вариантах опыта (рис. 2).

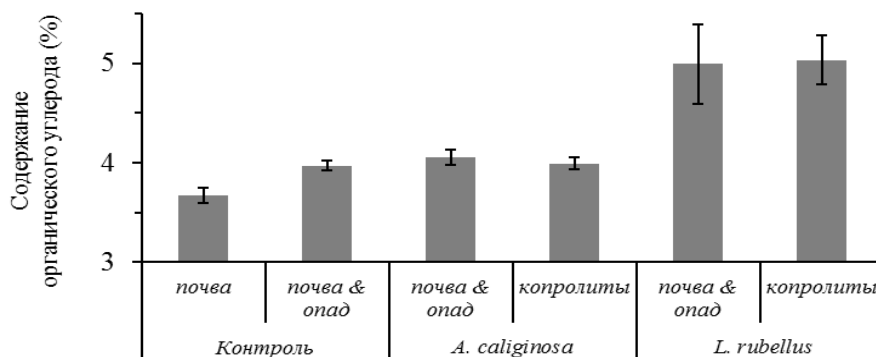


Рис. 2. Содержание $C_{орг}$ (%) в пробах почвы и копролитах
[Fig. 2. The content of OC (%) in the samples of soil and casts]

Части кленовых листьев из опада, переваренного дождевыми червями, пространственно локализованы как на поверхности почвы (откуда были взяты пробы), так и внутри нее.

Гранулометрический состав почвы и копролитов (с ОВ). Гранулометрический состав ($ГС_{ОВ}$) образцов почвы и копролитов (с ОВ) представлен на рис. 3, из которого видно изменение соотношения гранулометрических фракций за счет значительного увеличения содержания песчаных частиц с ОВ размером более 100 мкм по сравнению с их содержанием в тех же образцах, но после окисления ОВ.

Гранулометрический состав почвы и копролитов (без ОВ). Международным методом определения $ГС$ почв предусматривает предварительное удаление ОВ из образца [47, 48]. Результаты определения гранулометрического состава ($ГС_{H_2O_2}$) после окисления ОВ пероксидом водорода представлены на рис. 4.

Содержание (об. %) илистой фракции в образцах постепенно снижается от $12,5 \pm 0,4$ в исходной почве до $12,2 \pm 0,4$ в копролитах *L. rubellus* (табл. 1). В $ГС$ почвы и копролитов преобладает пылевая фракция (2–50 мкм). Повышенное содержание пыли в копролитах *L. rubellus* (83,4 об. %) обусловлено содержанием субфракций 2–20 мкм ($53 \pm 2,6$ об. %).

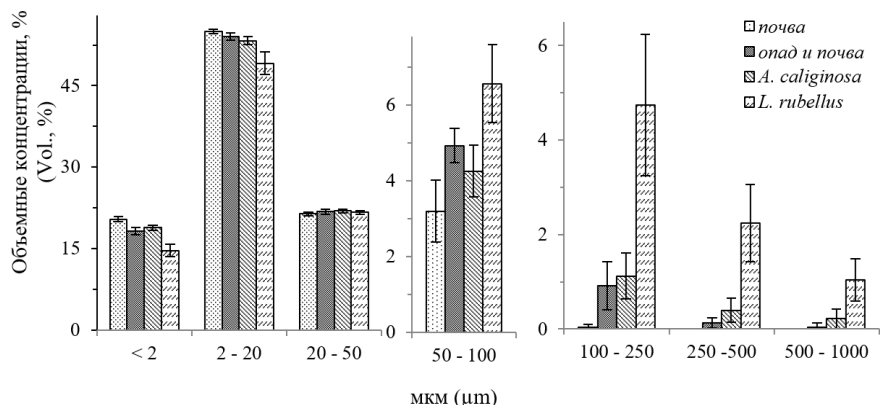


Рис. 3. Гранулометрический состав до окисления органического вещества в образцах почвы и копролитах

[Fig. 3. The PSD before the organic matter oxidation in the samples of soil and casts]

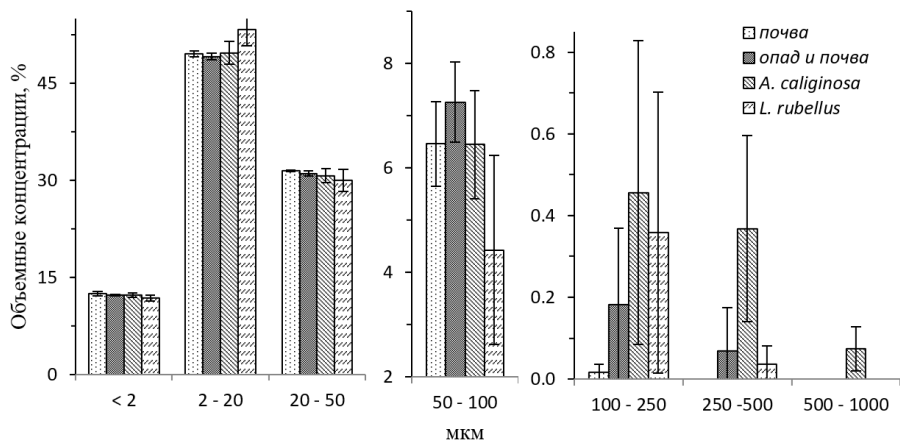


Рис. 4. ГС после окисления ОБ в образцах почвы и копролитов

[Fig. 4. The PSD after the OM oxidation in the samples of soil and casts]

Среднее содержание частиц размером 2–20 мкм в пробах «почва», «почва–опад» и копролитах *A. caliginosa* существенно не различается и составляет 49,1–49,4 об. %. Доля частиц размером 20–50 мкм колеблется в пределах 30–31,5 об. % во всех выборках и статистически не различается. Среди четырех фракций песка (очень мелкий, мелкий, средний и крупный песок) преобладает очень мелкий песок (50–100 мкм). Максимальное его содержание ($7,3 \pm 0,8$ об. %) обнаружено в образце почвы из варианта «почва–опад». Минимум ($4,5 \pm 1,8$ об. %) – у копролитов *L. rubellus*. В «почвенном» варианте и копролитах *A. caliginosa* содержание очень мелкого песка составляет $6,5 \pm 0,8$ и $6,4 \pm 1,8$ об. % соответственно. Содержание мелких частиц песка в «почве» очень низкое ($0,02 \pm 0,03$ об. %), напротив, его содержание значительно выше в образцах варианта «почва и опад», копроли-

тах *A. caliginosa* и *L. rubellus* в 9, 23 и 18 раз соответственно. Частицы среднего размера песка в образце «почва» не наблюдались. В вариантах опыта «опад–почва» ($0,07 \pm 0,05$ об. %) и копролитах *L. rubellus* ($0,04 \pm 0,02$ об. %) содержание этой фракции сравнимо с погрешностью измерения. И только в копролитах *A. caliginosa* значимо присутствие среднего песка ($0,4 \pm 0,1$ об. %). Крупный песок (500–1000 мкм) присутствует только в ГС копролитов *A. caliginosa* ($0,07 \pm 0,03$ об. %).

Статистический анализ. Содержание (об. %) илистой фракции в образцах исходной почвы и копролитов *L. rubellus* составляет $20,41 \pm 0,41$ и $14,60 \pm 1,55$ соответственно, что в 1,6 и 1,2 раза выше, чем в ГС после окисления ОВ. В пробах «опад–почва» и копролитах *A. caliginosa* содержание илистой фракции с учетом ОВ увеличилось в 1,5 раза до $18,16 \pm 0,69$ и $18,83 \pm 0,50$ об. % соответственно (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Сравнение содержания частиц (об.%) в ГС_{ОВ} (до окисления ОВ) с ГС_{Н₂О₂} (после окисления ОВ) образцов с использованием U-критерия Манна–Уитни
[The content of particles (Vol.%) in the PSD_{OM} (before oxidation of OM) and in the PSD_{H₂O₂} (after oxidation of OM). Mann–Whitney U Test]

Фракция, мкм	Окисление ОВ	Копролиты <i>A. caliginosa</i>	Копролиты <i>L. rubellus</i>		Опад и почва			Почва		
		Среднее	Среднее	p ¹	Среднее	p ¹	p ²	Среднее	p ¹	p ²
0–2	до	18,83	14,6	0	18,16	0,15	0	20,41	0	0
	после	12,25	11,79	0	12,29	0	0	12,49	0,02	0
2–20	до	53,27	49,14	0	54,04	0,62	0	54,99	0	0
	после	49,7	53,35	0,23	49,13	0,01	0,98	49,56	0	0,41
20 50	до	21,91	21,68	0	21,78	0,85	0	21,36	0,04	0
	после	30,72	30,03	0,28	31,07	0,59	0,03	31,47	0,05	0,01
50–100	до	4,25	6,56	0	4,93	0,85	0	3,2	0,04	0
	после	6,44	4,43	0,28	7,26	0,59	0,03	6,46	0,05	0,01
100–250	до	1,12	4,74	0	0,92	0,4	0	0,04	0,03	0
	после	0,45	0,36	0,55	0,18	0,63	0,86	0,02	0,01	0,01
250–500	до	0,4	2,24	0	0,13	0,66	0	0	0,02	0
	после	0,37	0,04	0,21	0,07	0,1	0,93	0	0	0,02
500–1000	до	0,22	1,04	0	0,04	0,52	0	0	0	0
	после	0,07	0	0,03	0	0	1	0	0	1

Примечание. p¹ – сравнение с копролитами *A. caliginosa*, p² – сравнение с копролитами *L. rubellus*.

* Жирным выделены достоверно различающиеся пары при $p < 0,05$.

* Significantly different pairs are highlighted in bold at $p < 0.05$.

Сумма фракций ила и мелкой пыли ($76,4 \div 70,8$ об. %) преобладает в ГС_{ОВ} образцов всех вариантов опыта в случае ГС_{Н₂О₂}. Изменение содержания мелкой пыли (2–20 мкм) в ГС с ОВ исходных проб обратно пропорционально результату ГС проб без ОВ. Максимальное количество мелкой пыли наблюдалось в «почвенном» варианте ($54,99 \pm 0,38$ об. %), минимальное – в копролитах *L. rubellus* ($49,14 \pm 2,13$ об. %). Содержание ($21,4 \pm 0,3 \div$

21,9±0,3 об. %) крупной пыли (20–50 мкм) в образцах почвы и копролитах имеет слабые различия.

Различие между $ГС_{ОВ}$ и $ГС_{H_2O_2}$ коррелировало с $C_{орг}$ в объектах этого эксперимента (табл. 2). Потери об.(%) после окисления во всех фракциях во всех вариантах обусловлены разложением почвенного органического вещества. Суммарное содержание песчаных фракций в $ГС_{ОВ}$ и доля частиц размером 50–1000 мкм составляют 3,2/0,04% (почва), 6/1% (почва–опад), 6/1,7% (копролиты *A. caliginosa*), 14,6/8% (копролиты *L. rubellus*). Другие значения для этих фракций были получены в $ГС_{H_2O_2}$: 6,5/0,3% (почва), 7,3/3,3% (почва–опад), 6,4/2,2% (копролиты *A. caliginosa*), 4,4/8,2% (копролиты *L. rubellus*).

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

Отношение содержания частиц в $ГС_{ОВ}$ к их содержанию в $ГС_{H_2O_2}$ для каждой фракции (левый столбец таблицы). Линейная корреляция между фракциями $ГС_{ОВ}$ и содержанием общего углерода. Соотношение между фракцией частиц ($y = ГС(об.%)$) и содержанием $C_{орг}$ ($x = C_{орг} (%)$)
[The ratio of the particles content in the $ПСД_{ОВ}$ (a) to their content in the $ПСД_{H_2O_2}$; the linear correlation between “a” and the TOC. Relationship between particle fraction (the Y = PF(Vol.%)) and OC content (the X = OC (%))]

Фракция, мкм	Контроль		Копролиты		R^2	Зависимость $ГС$ (об. %) и $C_{орг}$ (%)
	Почва	Опад и почва	<i>A. caligi- nosa</i>	<i>L. rubellus</i>		
0–2	1,6	1,5	1,5	1,2	0,97	$y = -4,0556x + 34,89$
2–20	1,1	1,1	1,1	0,9	0,99	$y = -4,3061x + 70,795$
20–50	0,7	0,7	0,7	0,7	0,05	$y = -4,3061x + 70,795$
50–100	0,5	0,7	0,7	1,5	0,9	$y = 2,2504x - 4,6386$
100–250	2,7	5,1	2,5	13,2	0,999	$y = 3,4892x - 12,825$
250–500	–	1,9	1,1	62	0,98	$y = 1,7338x - 6,5296$
500–1 000	–	–	2,9	–	0,97	$y = 0,7984x - 3,0022$

МГК использовали для оценки влияния видов дождевых червей и опада на размер и содержание органических частиц в копролитах и почве (рис. 5). Результаты МГК выявляют основные фракции для диагностики органических (> 100 мкм) и минеральных (250–500, 500–1 000 мкм) частиц в $ГС$.

С помощью ANOVA проведена оценка влияния факторов на перераспределение частиц по размерам в копролитах (табл. 3). Рассматривались факторы: наличие опада, наличие дождевых червей, наличие опада и дождевых червей, наличие опада и дождевых червей (с учетом вида). Последние два варианта были наиболее важными (на основе р-уровня (альфа = 0,05)). Виды дождевых червей влияют на $ГС$ копролитов (на основе частичного η -квадрата). Наиболее важными факторами являются виды дождевых червей и опад (на основе частичного η -квадрата). На их долю приходится основная часть дисперсии $ГС$ в почве и копролитах.

Увеличение содержания общего углерода в вариантах («опад–почва», «опад–почва + *A. caliginosa*», «опад–почва и *L. rubellus*») обусловлено поступлением: 1) мелких сегментов листьев клена; 2) водорастворимых продуктов микробиологического преобразования опада, мигрирующих в почву при увлажнении опада.

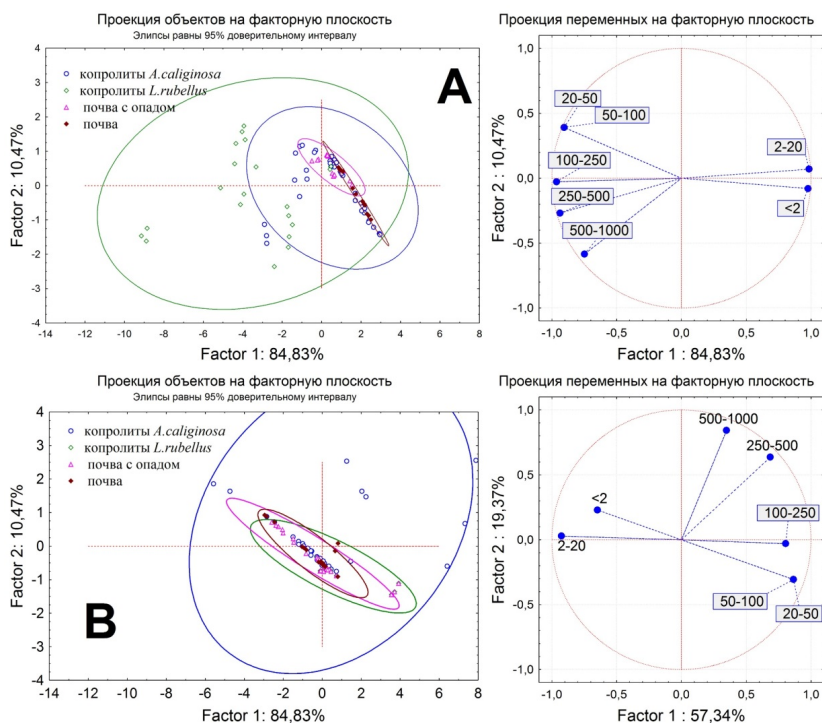


Рис. 5. Метод главных компонент (МГК): проекция на факторную плоскость, основанная на объемных процентах фракций ГС (*A* – с учетом ОВ почвы, *B* – без учета ОВ почвы) для различных образцов (почва–опад, копролиты *A. caliginosa*, копролиты *L. rubellus*)

[Fig. 5. Principal component analysis (PCA) ordination diagram based on coprolites and control on a factorial plane based on volume percentages of PSD fractions (*A* - with OM, *B* - without OM) for various samples (soil, soils with litter, coprolites of *A. caliginosa*, coprolites of *L. rubellus*)]

Т а б л и ц а 3 [Table 3]

Результаты дисперсионного анализа (ANOVA) по сравнению гранулометрического состава образцов с удалением органического вещества пероксидом водорода и без этой процедуры

[Results of analysis of variance (ANOVA) comparing particle size distribution of samples with and without removal of organic matter by hydrogen peroxide]

	Effect df	Error df	p-уровень	Частичный η-квадрат
ОВ	14	69	0,00001	0,47
Дождевые черви	14	69	0,00042	0,4
ОВ и дождевые черви	28	136	$<10^7$	0,44
ОВ и виды дождевых червей	42	200	$<10^{10}$	0,54

Соотношение и содержание песчаных частиц в образцах до окисления принципиально иное, чем после. Для всех фракций песка от очень мелкого до крупного содержание частиц в составе этих же фракций постепенно

увеличивается («почва» < «опад–почва» < «копролиты *A. caliginosa*» < «копролиты *L. rubellus*»). С другой стороны, содержание песчаных частиц в пробах одних и тех же почвенных вариантов и копролитах уменьшается одновременно с увеличением размеров песчаных частиц. Увеличение доли песка происходит за счет уменьшения доли глины и тонкой пыли в почве и копролитах. Источником крупных частиц в ГС варианта без окисления ОВ являются листья клёна, что подтверждается высокой корреляцией с содержанием углерода в образцах. Последние три варианта нашего опыта включали опад на поверхности почвы и различались наличием и видом дождевых червей. На основании предварительного исследования, выявившего различия в гранулометрическом составе при использовании одного микроскопа [31] и данного исследования, предполагаем, что наличие, различное содержание и соотношение частиц в ГС_{ОВ} связано с указанными выше факторами.

Обращает на себя внимание и требует объяснения несоответствие результатов определения фракций песка в исходных пробах и после удаления ОВ. В ГС_{ОВ} независимо от варианта опыта содержание частиц фракции песка максимально в копролитах *L. rubellus*, обитающих на поверхности почвы. Однако после удаления ОВ из образцов частицы песка преобладают в копролитах эндогеяного дождевого червя *A. caliginosa*. Дождевые черви накапливают большие песчинки за счёт измельчения растительных остатков [28]. В нашей работе накопление крупных минеральных частиц отмечено только для *A. caliginosa*. Минеральные частицы размером более 250 мкм практически отсутствуют в контрольной почве, но небольшая часть таких частиц попала в почву с опадом и копролитами.

Одна из возможных причин заключается в том, что это различие обусловлено неполным окислением ОВ почвы H_2O_2 [49]. Однако тогда не ясно, почему ГС был разным в вариантах «опад–почва», в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Предполагаем, что фитолиты из кленовых листьев являются одной из причин и источником частиц крупнее 100 мкм в вариантах опыта с опадом. По литературным данным, живые [50] и опавшие листья клена [51–53] содержат достаточное количество кремния. В листьях клена выявлено высокое содержание фитолитов различной формы (вытянутые, шаровидные, сочлененные) и крупных размеров (≈ 150 мкм) [54]. К сожалению, *Acer platanoides* не вошел в число восьми проанализированных авторами видов. Для проверки этой гипотезы в дальнейшем необходимо провести анализ фитолитов в образцах почвы, копролитов дождевых червей и листьев *Acer platanoides*. Также необходимо выяснить причину несоответствия содержания органических (до окисления ОВ) и минеральных (после окисления ОВ) частиц размером более 250 мкм в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Если экспериментально удастся подтвердить большой размер фитолитов в листьях *Acer platanoides*, то возможная причина отличий в ГС копролитов могла бы быть объяснена различиями в физиологии *A. caliginosa* и *L. rubellus*. В кишечном тракте *L. rubellus* членистые фитолиты измельчаются и разрушаются, а у *A. caliginosa* этот эффект

выражен меньше. Знание морфологии фитолитов позволит идентифицировать и определить размер частиц минеральной массы копролитов *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Подтверждается гипотеза о том, что дождевые черви изменяют ГС путем измельчения частиц ОВ. Исследование не подтверждает гипотезу о том, что ГС без ОВ остаётся неизменным при воздействии дождевых червей.

Выводы

Дифференциация органических и минеральных частиц в пробах возможна при определении ГС до и после удаления органического вещества. Мы рекомендуем проводить определение гранулометрического состава как до, так и после удаления органического вещества из исходных проб.

Дождевые черви изменяют ГС путем измельчения ОВ, но даже без ОВ ГС во всех вариантах различается. Органические частицы в составе копролитов распределены по фракциям песка. Для копролитов *A. caliginosa* увеличение объемной доли во фракциях ГС_{ОВ} относительно исходной почвы составило: очень мелкий песок +1,1%, мелкий песок +1,1%, средний песок +0,4%, крупный песок +0,2%. Аналогично для копролитов *L. rubellus* увеличение составило: очень мелкий песок +3,4%, мелкий песок +4,7%, средний песок +2,2%, крупнозернистый песок +1%. Несмотря на незначительное количество и/или отсутствие минеральных частиц размером более 100 мкм в почве без дождевых червей и опада, они идентифицированы в составе копролитов *A. caliginosa* (песок средний +0,4%, песок крупный +0,1%) и *L. rubellus* (мелкий песок +0,4%, средний песок +0,1%). Возможно, что фитолиты из кленовых листьев являются одной из причин и источником песчинок крупнее 100 мкм в вариантах опыта с опадом.

Список источников

1. Capowiez Y., Gilbert F., Vallat A., Poggiale J.-C., Bonzom J.-M. Depth distribution of soil organic matter and burrowing activity of earthworms—mesocosm study using X-ray tomography and luminophores // *Biology and Fertility of Soils*. 2021. Vol. 57, № 3. PP. 337–346. doi: 10.1007/s00374-020-01536-y
2. Garcia-Franco N., Walter R., Wiesmeier M., Hurtarte L.C.C., Berauer B.J., Buness V., Zistl-Schlingmann M., Kiese R., Dannenmann M., Kögel-Knabner I. Biotic and abiotic controls on carbon storage in aggregates in calcareous alpine and prealpine grassland soils // *Biology and Fertility of Soils*. 2021. Vol. 57, № 2. PP. 203–218. doi: 10.1007/s00374-020-01518-0
3. Стриганова Б.Р. Питание почвенных сапрофагов. М. : Наука, 1980. 244 с.
4. Medina-Sauza R.M., Álvarez-Jiménez M., Delhal A., Reverchon F., Blouin M., Guerrero-Analco J.A., Barois I. Earthworms building up soil microbiota, a review // *Frontiers in Environmental Science*. 2019. Vol. 7. P. 81. doi: 10.3389/fenvs.2019.00081
5. Angst G., Mueller C.W., Prater I., Angst Š., Frouz J., Jilková V., Peterse F., Nierop K.G. Earthworms act as biochemical reactors to convert labile plant compounds into stabilized soil microbial necromass // *Communications biology*. 2019. Vol. 2, № 1. PP. 1–7. doi: 10.1038/s42003-019-0684-z
6. Álvarez C.R., Jiménez-Moreno M., Bernardo F.G., Martín-Doimeadios R.R., Nevado J.B. Using species-specific enriched stable isotopes to study the effect of fresh mercury inputs in soil-earthworm systems // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018. Vol. 147. PP. 192–199. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.015

7. Angst Š., Mueller C.W., Cajthaml T., Angst G., Lhotáková Z., Bartuška M., Špaldoňová A., Frouz J. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter // *Geoderma*. 2017. Vol. 289. PP. 29–35. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.11.017
8. Fahey T.J., Yavitt J.B., Sherman R.E., Maerz J.C., Groffman P.M., Fisk M.C., Bohlen P.J. Earthworm effects on the incorporation of litter C and N into soil organic matter in a sugar maple forest // *Ecological Applications*. 2013. Vol. 23, № 5. PP. 1185–1201. doi: 10.1890/12-1760.1
9. Bossuyt H., Six J., Hendrix P.F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts // *Soil Biology and Biochemistry*. 2005. Vol. 37, № 2. PP. 251–258. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.035
10. Schomburg A., Verrecchia E.P., Guenat C., Brunner P., Sebağ D., Le Bayon R.C. Rock-Eval pyrolysis discriminates soil macro-aggregates formed by plants and earthworms // *Soil Biology and Biochemistry*. 2018. Vol. 117. PP. 117–124. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.11.010
11. Piron D., Boizard H., Heddadj D., Pèrès G., Hallaire V., Cluzeau D. Indicators of earthworm bioturbation to improve visual assessment of soil structure // *Soil and Tillage Research*. 2017. Vol. 173. PP. 53–63. doi: 10.1016/j.still.2016.10.013
12. Lipiec J., Turski M., Hajnos M., Świeboda R. Pore structure, stability and water repellency of earthworm casts and natural aggregates in loess soil // *Geoderma*. 2015. Vol. 243. PP. 124–129. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.12.026
13. Ferlian O., Thakur M.P., Castañeda González A., San Emeterio L.M., Marr S., da Silva Rocha B., Eisenhauer N. Soil chemistry turned upside down: A meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties // *Ecology*. 2020. Vol. 101, № 3. PP. e02936. doi:10.1002/ecy.2936
14. Singh S., Singh J., Vig A.P. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: soil vs vermicast // *Ecological Engineering*. 2016. Vol. 90. PP. 1–5. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.01.072
15. Nuutinen V., Butt K.R. Earthworm dispersal of plant litter across the surface of agricultural soils // *Ecology*. 2019. Vol. 100, № 7. PP. 1–3.
16. Schon N., Mackay A., Gray R., Van Koten C., Dodd M. Influence of earthworm abundance and diversity on soil structure and the implications for soil services throughout the season // *Pedobiologia*. 2017. Vol. 62. PP. 41–47. doi: 10.1016/j.pedobi.2017.05.001
17. Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Den-dooen L., Pèrès G., Tondoh J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services // *European Journal of Soil Science*. 2013. Vol. 64, № 2. PP. 161–182. doi: 10.1111/ejss.12025
18. Kęsik T., Błażewicz-Woźniak M., Wach D. Influence of conservation tillage in onion production on the soil organic matter content and soil aggregate formation // *International Agrophysics*. 2010. Vol. 24, № 3. PP. 267–273.
19. Neugschwandtner R.W., Száková J., Pachtroğ V., Tlustoš P., Černý J., Kulháněk M., Kaul H.-P., Euteneuer P., Moitzi G., Wagentristl H. Basic soil chemical properties after 15 years in a long-term tillage and crop rotation experiment // *International Agrophysics*. 2020. Vol. 34, № 1. doi:10.31545/intagr/114880
20. Bedano J.C., Vaquero F., Domínguez A., Rodríguez M.P., Wall L., Lavelle P. Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina // *Acta Oecologica*. 2019. Vol. 98. PP. 14–24. doi: 10.1016/j.actao.2019.05.003
21. Hedénec P., Cajthaml T., Pižl V., Márialigeti K., Tóth E., Borsodi A.K., Chroňáková A., Křišťfek V., Frouz J. Long-term effects of earthworms (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister, 1843) on activity and composition of soil microbial community under laboratory conditions // *Applied Soil Ecology*. 2020. Vol. 150. P. 103463. doi: 10.1016/j.apsoil.2019.103463
22. Boselli R., Fiorini A., Santelli S., Ardeni F., Capra F., Maris S.C., Tabaglio, V. Cover crops during transition to no-till maintain yield and enhance soil fertility in intensive agro-

- ecosystems // Field Crops Research. 2020. Vol. 255. P. 107871. doi: 10.1016/j.fcr.2020.107871
23. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв : учебник. М. : Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2005. 445 с.
24. Лукина Н.В., Тихонова Е.В., Шевченко Н.Е., Горнов А.В., Кузнецова А.И., Гераскина А.П., Смирнов В.Э., Горнова М.В., Ручинская Е.В., Анищенко Л.Н., Тебенкова Д.Н., Данилова М.А., Бахмет О.Н., Крышень А.М., Князева С.В., Шашков М.П., Быховец С.С., Чертов О.Г., Шанин В.Н. Аккумуляция углерода в лесных почвах и сукцессионный статус лесов. М., 2018. С. 86–98.
25. Shein E.V. The particle-size distribution in soils: problems of the methods of study, interpretation of the results, and classification // Eurasian soil science. 2009. Vol. 42, № 3. PP. 284–291. doi: 10.1134/S1064229309030053
26. Yudina A., Fomin D., Kotelnikova A., Milanovskii E.Y. From the notion of elementary soil particle to the particle-size and microaggregate-size distribution analyses: A review // Eurasian soil science. 2018. Vol. 51, № 11. PP. 1326–1347. doi: 10.1134/S1064229318110091
27. Schulmann O.P., Tiunov A.V., Tiunov A.V. Leaf litter fragmentation by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. // Pedobiologia. 1999. Vol. 43, № 5. PP. 453–458.
28. Marhan S., Scheu S. Effects of sand and litter availability on organic matter decomposition in soil and in casts of *Lumbricus terrestris* L. // Geoderma. 2005. Vol. 128, № 1-2. PP. 155–166. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.07.001
29. Karthikeyan M., Gajalakshmi S., Abbasi S. A. Ingestion of sand and soil by phytophagous earthworm *Eudrilus eugeniae*: a finding of relevance to earthworm ecology as well as vermitechnology // Archives of Agronomy and Soil Science. 2014. Vol. 60, № 12. PP. 1795–1805. doi: 10.1080/03650340.2014.912034
30. Georgiadis A., Marhan S., Lattacher A., Mäder P., Rennert T. Do earthworms affect the fractionation of silicon in soil? // Pedobiologia. 2019. Vol. 75. PP. 1–7. doi: 10.1016/j.pedobi.2019.05.001
31. Frolov O., Yakushev A., Milanovskiy E.Y. The heterogeneity of the properties of the coprolites *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* in model experiment with chernozem soil // Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute. 2019. № 99. PP. 92–116. doi: 10.19047/0136-1694-2019-99-92-116
32. Kholodov V., Yaroslavtseva N., Farkhodov Y.R., Belobrov V., Yudin S., Aydiev A.Y., Lazarev V., Frid A. Changes in the ratio of aggregate fractions in humus horizons of chernozems in response to the type of their use // Eurasian Soil Science. 2019. Vol. 52, № 2. PP. 162–170. doi: 10.1134/S1064229319020066
33. Shein E., Lazarev V., Aidiev A.Y., Sakunkonchak T., Kuznetsov M.Y., Milanovskii E.Y., Khaidapova D. Changes in the physical properties of typical chernozems of Kursk oblast under the conditions of a long-term stationary experiment // Eurasian Soil Science. 2011. Vol. 44, № 10. PP. 1097–1103. doi: 10.1134/S1064229311100127
34. Kholodov V., Farkhodov Y.R., Yaroslavtseva N., Aydiev A.Y., Lazarev V., Ilyin B., Ivanov A., Kulikova N. Thermolabile and thermostable organic matter of chernozems under different land uses // Eurasian Soil Science. 2020. Vol. 53, № 8. PP. 1066–1078. doi: 10.1134/S1064229320080086
35. Афанасьева Е.А. Черноземы Среднерусской возвышенности. М. : Наука, 1966. 222 с.
36. Fomin D.S. et al. Dry sieving analysis of soil by vibratory sieve shaker: modification and optimization // Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute. 2019. № 96. PP. 149–177. doi: 10.19047/0136-1694-2019-96-149-177
37. Satchell J.E., Worms R., Worms K. A basis for classifying lumbricid earthworm strategies // Soil Biology as Related to Land Use Practices: Proceedings of the VII International Soil Zoology Colloquium. EPA, 1980. PP. 848–863.
38. Bouché M.B. Strategies lombriciennes // Soil Organisms as Components of Ecosystems : 6th Int. Soil Zool. Coli., Ecol. Bull. / eds. by V. Lohm, T. Persson. Stockholm, 1977. PP. 122–132.

39. Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви фауны России. М. : Наука, 1997. 102 с.
40. Satchell J.E. Selection of leaf litter by *Lumbricus terrestris* // *Progress in soil biology*. 1967. PP. 102–119.
41. Bornebusch C.H. Laboratory experiments on the biology of worms // *Dansk. Skorforen. Tidssk.* 1953. Vol. 38. PP. 557–559.
42. Милановский Е.Ю., Шеин Е.В., Русанов А.М., Тюгай З.Н., Ильин Л.И., Зинченко С.И., Быкова Г.С. Пространственное распределение содержания органического вещества в почвах агроландшафтов Центрального Черноземья // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2015. № 6 (181). С. 127–130.
43. Yudina A.V., Milanovskii Y. The microaggregate analysis of soils by the method of laser diffraction: the specificities of sample preparation and result interpretation // *B. Dokuchaev Soil Inst.* 2017. Vol. 89. PP. 3–20. doi: 10.19047/0136-1694-89-3-20
44. Schmidt M.W.I., Rumpel C., Kögel-Knabner I. Evaluation of an ultrasonic dispersion procedure to isolate primary organomineral complexes from soils // *European Journal of Soil Science*. 1999. Vol. 50, № 1. PP. 87–94. doi: 10.1046/j.1365-2389.1999.00211.x
45. Ozer M., Orhan M., Isik N.S. Effect of particle optical properties on size distribution of soils obtained by laser diffraction // *Environmental & Engineering Geoscience*. 2010. Vol. 16, № 2. PP. 163–173. doi: 10.2113/gsegeosci.16.2.163
46. ISO 13320:2020 Particle size analysis – Laser diffraction methods.
47. Pansu M., Gautheyrou J. *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*. Springer Science & Business Media, 2007.
48. ISO 11277:1998 Soil quality – Determination of particle size distribution in mineral soil material – Method by sieving and sedimentation.
49. Eusterhues K., Rumpel C., Kögel-Knabner I. Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation // *Organic geochemistry*. 2005. Vol. 36, № 11. PP. 1567–1575. doi: 10.1016/j.orggeochem.2005.06.010
50. Айдинян Р.Х. Зольный обмен между древесной растительностью и черноземными почвами Каменной степи // *Почвоведение*. 1953. № 9. С. 40–61.
51. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевич Э.Я. Кремний и жизнь: Биохимия, токсикология и фармакология соединений кремния. М. : Знание, 1971.
52. Ремезов Н.П. Динамика взаимодействия широколиственного леса с почвой // *Проблемы почвоведения*. М. : Изд-во АН СССР, 1962. С. 101–147.
53. Ремезов Н.П., Быкова Л.Н., Смирнова К.М. Потребление и круговорот азота и зольных элементов в лесах европейской части СССР. М. : Изд-во МГУ, 1959.
54. Ge Y. et al. Phytoliths in selected broad-leaved trees in China // *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, № 1. PP. 1–15. doi: 10.1038/s41598-020-72547-w

References

1. Capowiez Y, Gilbert F, Vallat A, Poggiale JC and Bonzom JM. Depth distribution of soil organic matter and burrowing activity of earthworms-mesocosm study using X-ray tomography and luminophores. *Biology and Fertility of Soils*. 2021;57(3):337-346. doi: 10.1007/s00374-020-01536-y
2. Garcia-Franco N, Walter R, Wiesmeier M, Hurtarte LCC, Berauer BJ, Buness V, Zistl-Schlingmann M, Kiese R, Dannenmann M and Kögel-Knabner I. Biotic and abiotic controls on carbon storage in aggregates in calcareous alpine and prealpine grassland soils. *Biology and Fertility of Soils*. 2021;57(2):203-218. doi: 10.1007/s00374-020-01518-0
3. Striganova BR. Pitaniye pochvennykh saprofagov. [Nutrition of soil saprophages]. Moscow: Nauka Publishers.; 1980. 224 p. In Russian.
4. Medina-Sauza RM, Álvarez-Jiménez M, Delhal A, Reverchon F, Blouin M, Guerrero-Analco JA, Barois I. Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*. 2019; pp. 81. doi: 10.3389/fenvs.2019.00081
5. Angst G; Mueller CW; Prater I; Angst Š, Frouz J, Jilková V, Peterse F, Nierop KG. Earthworms act as biochemical reactors to convert labile plant compounds into stabilized soil microbial necromass. *Communications biology*. 2019;2(1):1-7. doi: 10.1038/s42003-019-0684-z

6. Álvarez CR; Jiménez-Moreno M, Bernardo FG; Martín-Doimeadios RR; Nevado JB. Using species-specific enriched stable isotopes to study the effect of fresh mercury inputs in soil-earthworm systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018;147:192-199. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.015
7. Angst Š, Mueller CW, Cajthaml T, Angst G, Lhotáková Z, Bartuška M, Špaldoňová A, Frouz J. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter. *Geoderma*. 2017;289:29-35. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.11.017
8. Fahey TJ, Yavitt JB, Sherman RE, Maerz JC, Groffman PM, Fisk MC, Bohlen PJ. Earthworm effects on the incorporation of litter C and N into soil organic matter in a sugar maple forest. *Ecological Applications*. 2013;23(5):1185-1201. doi: 10.1890/12-1760.1
9. Bossuyt H., Six J., Hendrix P. F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts // *Soil Biology and Biochemistry*. 2005;37(2):251-258. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.035
10. Schomburg, A.; Verrecchia, E.P.; Guenat, C.; Brunner, P.; Sebag, D.; Le Bayon, R.C. Rock-Eval pyrolysis discriminates soil macro-aggregates formed by plants and earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*. 2018;117:117-124. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.11.010
11. Piron D, Boizard H, Heddadj D, Pérès G, Hallaire V, Cluzeau D. Indicators of earthworm bioturbation to improve visual assessment of soil structure. *Soil and Tillage Research*. 2017;173:53-63. doi: 10.1016/j.still.2016.10.013
12. Lipiec J, Turski M, Hajnos M, Świeboda R. Pore structure, stability and water repellency of earthworm casts and natural aggregates in loess soil. *Geoderma*. 2015;243:124-129. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.12.026
13. Ferlian O, Thakur MP, Castañeda González A, San Emeterio LM, Marr S, da Silva Rocha B, Eisenhauer, N. Soil chemistry turned upside down: A meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties. *Ecology*. 2020;101(3):e02936. doi:10.1002/ecy.2936
14. Singh S, Singh J, Vig AP. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: soil vs vermicast. *Ecological Engineering*. 2016;90:1-5. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.01.072
15. Nuutinen V, Butt KR. Earthworm dispersal of plant litter across the surface of agricultural soils. *Ecology*. 2019;100(7):1-3.
16. Schon N, Mackay A, Gray R, Van Koten C, Dodd M. Influence of earthworm abundance and diversity on soil structure and the implications for soil services throughout the season. *Pedobiologia*. 2017;62:41-47. doi: 10.1016/j.pedobi.2017.05.001
17. Blouin M, Hodson ME, Delgado EA, Baker G, Brussaard L, Butt KR, Dai J, Dendooven L, Pérès G, Tondoh J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*. 2013;64(2):161-182. doi: 10.1111/ejss.12025
18. Keşik T, Błażewicz-Woźniak M, Wach D. Influence of conservation tillage in onion production on the soil organic matter content and soil aggregate formation. *International Agrophysics*. 2010;24(3):267-273.
19. Neugschwandtner RW, Száková J, Pachtrog V, Tlustoš P, Černý J, Kulhánek M, Kaul HP, Euteneuer P, Moitz G, Wagentristl H. Basic soil chemical properties after 15 years in a long-term tillage and crop rotation experiment. *International Agrophysics*. 2020;34(1). doi:10.31545/intagr/114880
20. Bedano JC, Vaquero F, Domínguez A, Rodríguez MP, Wall L, Lavelle P. Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina. *Acta Oecologica*. 2019;98:14-24. doi: 10.1016/j.actao.2019.05.003
21. Heděšec, P.; Cajthaml, T.; Pižl, V.; Márialigeti, K.; Tóth, E.; Borsodi, A.K.; Chroňáková, A.; Křišťálek, V.; Frouz, J. Long-term effects of earthworms (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister, 1843) on activity and composition of soil microbial community under laboratory conditions // *Applied Soil Ecology*. 2020. T. 150. C. 103463. doi: 10.1016/j.apsoil.2019.103463

22. Boselli R, Fiorini A, Santelli S, Ardeni F, Capra F, Maris SC, Tabaglio V. Cover crops during transition to no-till maintain yield and enhance soil fertility in intensive agro-ecosystems. *Field Crops Research*. 2020;255:107871. doi: 10.1016/j.fcr.2020.107871
23. Zvyagintsev, D., Bab'eva, I., Zenova, G. Biologiya pochv. [Soil biology]. Moscow: Moscow State University. 2005. p.445. In Russian.
24. Geras'kina AP. Glava 3.1. Suktsessionnaya dinamika kompleksa dozhdevykh chervei v pochvakh khvoino-shirokolistvennykh lesov. Akkumulyatsiya ugleroda v lesnykh pochvakh i suksessionnyi status lesov. [Chapter 3.1. Successional dynamics of the earthworm complex in soils of coniferous-deciduous forests. Carbon Accumulation In Forest Soils And Successional Status Of Forests]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd.; 2018. pp. 86-98. In Russian.
25. Shein EV. The particle-size distribution in soils: problems of the methods of study, interpretation of the results, and classification. *Eurasian soil science*. 2009;42(3):284-291. doi: 10.1134/S1064229309030053
26. Yudina A, Fomin D, Kotelnikova A, Milanovskii EY. From the notion of elementary soil particle to the particle-size and microaggregate-size distribution analyses: A review. *Eurasian soil science*. 2018;51(11):1326-1347. doi: 10.1134/S1064229318110091
27. Schulmann O P, Tiunov AV, Tiunov AV. Leaf litter fragmentation by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Pedobiologia*. 1999;43(5):453-458.
28. Marhan S, Scheu S. Effects of sand and litter availability on organic matter decomposition in soil and in casts of *Lumbricus terrestris* L. *Geoderma*. 2005;128(1-2):155-166. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.07.001
29. Karthikeyan M, Gajalakshmi S, Abbasi SA. Ingestion of sand and soil by phytophagous earthworm *Eudrilus eugeniae*: a finding of relevance to earthworm ecology as well as vermitechnology. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2014;60(12):1795-1805. doi:10.1080/03650340.2014.912034
30. Georgiadis A, Marhan S, Lattacher A, Mäder P, Rennert T. Do earthworms affect the fractionation of silicon in soil? *Pedobiologia*. 2019;75:1-7. doi: 10.1016/j.pedobi.2019.05.001
31. Frolov O, Yakushev A, Milanovskiy EY. The heterogeneity of the properties of the coprolites *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* in model experiment with chernozem soil. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019;99:92-116. doi: 10.19047/0136-1694-2019-99-92-116
32. Kholodov V, Yaroslavtseva N, Farkhodov YR, Belobrov V, Yudin S, Aydiev AY, Lazarev V, Frid A. Changes in the ratio of aggregate fractions in humus horizons of chernozems in response to the type of their use. *Eurasian Soil Science*. 2019;52(2):162-170. doi: 10.1134/S1064229319020066
33. Shein E, Lazarev V, Aydiev AY, Sakunkonchak T, Kuznetsov MY, Milanovskii EY, Khaidapova D. Changes in the physical properties of typical chernozems of Kursk oblast under the conditions of a long-term stationary experiment. *Eurasian Soil Science*. 2011;44(10):1097-1103. doi: 10.1134/S1064229311100127
34. Kholodov V, Farkhodov YR, Yaroslavtseva N, Aydiev AY, Lazarev V, Ilyin B, Ivanov A, Kulikova N. Thermolabile and thermostable organic matter of chernozems under different land uses. *Eurasian Soil Science*. 2020;53(8):1066-1078. doi:10.1134/S1064229320080086
35. Afanas'eva EA. Chernozemy Srednerusskoi vozvyshennosti. [Chernozems of the Central Russian Upland]. Moscow: Nauka Publishers.; 1966. 227 p. In Russian.
36. Fomin DS, Valdes-Korovkin IA, Holub AP, Yudina AV. Dry sieving analysis of soil by vibratory sieve shaker: modification and optimization. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019;96:149-177. doi: 10.19047/0136-1694-2019-96-149-177
37. Satchell JE. r worms and K Worms: A basis for classifying lumbricid earthworm strategies. *Soil Biology as Related to Land Use Practices: Proceedings of the VII International Soil Zoology Colloquium*. EPA, 1980:848-863.
38. Bouché MB. Strategies lombriciennes. *Ecological Bulletins*. 1977:122-132.

39. Vsevolodova-Perel TS. The earthworms of the fauna of Russian: Cadaster and key. Chernova N, editor. Moscow: Nauka Publishers.; 1997. 102 p. In Russian.
40. Satchell JE. Selection of leaf litter by *Lumbricus terrestris*. *Progress in soil biology*. 1967;102-119.
41. Bornebusch CH. Laboratory experiments on the biology of worms. *Dansk. Skriften. Tidssk.* 1953;38:557-559.
42. Milanovskiy EYu, Shein EV, Rusanov AM, Tygai ZN, Il'in LI, Zinchenko SI, Fomin DS, Bykova GS. Spatial Distribution of the organic Matter Content in the Soil in the Central Chernozem Agrolandscapes. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2015;6(181):127-130. In Russian.
43. Yudina AV, Milanovskii Y. The microaggregate analysis of soils by the method of laser diffraction: the specificities of sample preparation and result interpretation. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2017;89:3-20. doi:10.19047/0136-1694-89-3-20
44. Schmidt MWI, Rumpel C, Kögel-Knabner I. Evaluation of an ultrasonic dispersion procedure to isolate primary organomineral complexes from soils. *European Journal of Soil Science*. 1999;50(1):87-94. doi:10.1046/j.1365-2389.1999.00211.x
45. Ozer M, Orhan M, Isik NS. Effect of particle optical properties on size distribution of soils obtained by laser diffraction. *Environmental & Engineering Geoscience*. 2010;16(2):163-173. doi: 10.2113/gsegeosci.16.2.163
46. ISO 13320:2020 Particle size analysis - Laser diffraction methods.
47. Pansu M, Gautheyrou J. Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. Springer Science & Business Media. 2007. 993 p.
48. ISO 11277:1998 Soil quality - Determination of particle size distribution in mineral soil material - Method by sieving and sedimentation.
49. Eusterhues K, Rumpel C, Kögel-Knabner I. Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation. *Organic geochemistry*. 2005;36(11):1567-1575. doi: 10.1016/j.orggeochem.2005.06.010
50. Aidinyan RKh. Zol'nyi obmen mezhdru drevesnoi rastitel'nost'yu i chernozemnymi pochvami Kamennoi stepi [Ash exchange between woody vegetation and chernozem soils of the Stone Steppe]. *Soviet Soil Science*. 1953;9:40-61. In Russian.
51. Voronkov MG, Zelchan GI, Lukevits EYa. Kremnii i zhizn': Biokhimiya, toksikologiya i farmakologiya soedinenii kremniya. [Silicon and life: Biochemistry, toxicology and pharmacology of silicon compounds]. *Znanie*. 1971; 587 p. In Russian.
52. Remezov NP. Dinamika vzaimodeistviya shirokolistvennogo lesa s pochvoi. [Dynamics of interaction between broad-leaved forest and soil]. *Problemy pochvovedeniya*. M. Izd-vo AN SSSR. 1962. pp. 101-147. In Russian.
53. Remezov NP, Bykova LN, Smirnova KM. Potreblenie i krugovorot azota i zol'nykh elementov v lesakh Evropeiskoi chasti SSSR. [Consumption and cycle of nitrogen and ash elements in the forests of the European part of the USSR]. M.: Izd-vo MGU. 1959. 284 p. In Russian.
54. Ge Y, Lu H, Wang C, Gao X. Phytoliths in selected broad-leaved trees in China. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-15. doi:10.1038/s41598-020-72547-w

Информация об авторах:

Фролов Олег Алексеевич – аспирант, кафедра физики и мелиорации почв, факультет почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия); инженер-исследователь, Почвенный институт им. В.В. Докучаева (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>

E-mail: 6.40.7.4@mail.ru

Милановский Евгений Юрьевич – д-р биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук (Пушино, Россия).

E-mail: milanovskiy@gmail.com

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Oleg A. Frolov, Post-Graduate Student, Department of Physics and Reclamation, Soil Science Faculty, Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russian Federation); research engineer, V.V. Dokuchaev Soil Science Institute (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>

E-mail: 6.40.7.4@mail.ru

Evgeniy Yu. Milanovskiy, Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS (Pushchino, Russian Federation).

E-mail: milanovskiy@gmail.com

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 06.04.2022;
одобрена после рецензирования 29.08.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 06.04.2022;
approved after reviewing 29.08.2022; accepted for publication 03.10.2022.*