

НИЗКОАКТИВНЫЕ ФОРМЫ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ КОНТЕКСТАХ

© 2023 г. Л.Н. Плеханова*., С.Н. Удальцов*, А.С. Сыроватко**., ***, Н.Н. Каширская*

*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения — обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институтская ул., 2/2, Пущино Московской области, 142290, Россия
#E-mail: dianthus1@rambler.ru

**МБУ «Коломенский археологический центр», Кремлевская ул., 5, Коломна Московской области, 140400, Россия

***Институт географии РАН, Старомонетный пер., 29/4, Москва, 119017, Россия

Поступила в редакцию 25.07.2023 г.

После доработки 21.08.2023 г.

Принята к публикации 06.09.2023 г.

Представлены результаты исследования низкоактивных форм целлюлозолитических микроорганизмов в почвах археологических памятников. Объектами исследования послужили грунты со следами древесных конструкций в погребениях вятичей (XII в.). К настоящему времени следы древесины не проявляются на макроуровне. Полученные данные сопоставлены с результатами лабораторного эксперимента по определению скоростей разложения целлюлозы в грунтах из различных археологических контекстов. Целлюлозолитическую активность определяли аппликационным методом. Показано, что целлюлазная активность почвогрунтов со следами погребальных деревянных конструкций составляет 20% от уровня современных почв. Это позволяет предполагать пробуждение либо наличие живых низкоактивных микроорганизмов, сохранившихся в почве на протяжении 800 лет.

Ключевые слова: палеопочвы, целлюлоза, целлюлаза, микроорганизмы, погребальный грунт, кремации, захоронения.

DOI: 10.31857/S0006302923050204, EDN: MZZDIC

Различные типы антропогенного воздействия на почву изменяют условия существования почвенных микроорганизмов и нарушают нормальное протекание в почвах процессов микробной трансформации, в том числе, оставляя в почвах следы присутствия различных антропогенных нарушений. Последствия антропогенного воздействия на почвенные микроорганизмы изучены слабо, в особенности — антропогенного воздействия в древности.

К концепции биологической памяти почв археологическое почвоведение вплотную приблизилось через традиционные работы по палеоклиматическим реконструкциям ([1–6] и др.), присовокупив к ним микробиологическую составляющую ([7–9] и др.). Этот этап длился около двадцати лет. Следующим шагом стали отдельные работы по культурным слоям древних поселений и идентификации их хозяйственно-бытовых зон с определенными физико-химическими

и микробиологическими свойствами [10–12], и единичные работы с диагностикой древних пастбищных нагрузок [13, 14].

Целлюлоза является наиболее распространенным полисахаридом растительного мира и представляет собой высокомолекулярный полимер с неразветвленной цепью, состоящей из соединенных 1,4-связями глюкозных остатков, число которых в молекуле глюкозы колеблется от 300 до 3000. В состав целлюлозы (клетчатки) входит более 50% всего органического углерода биосферы. Микроорганизмы, разлагающие целлюлозу, играют важную роль в процессе минерализации и круговороте углерода. Первым этапом в разложении целлюлозы является ферментативный гидролиз этого полимера, процесс протекает под влиянием фермента целлюлазы. Нерастворимая в воде клетчатка превращается в дисахарид целлобиозу, которая затем под влиянием фермента целлобиазы гидролизует и переходит в глюкозу. При аэробном разложении целлюлозы в основном получаются два продукта — углекислый газ и

Сокращения: КОЕ — колониеобразующие единицы, КМЦ — карбоксиметилцеллюлоза.

вода. При этом могут накапливаться небольшие количества органических кислот.

Целлюлозоразрушающая активность микроорганизмов, преимущественно, бактерий, является одним из показателей биологической активности почвы. Биологическая активность почв играет роль при оценке почвенного плодородия, оценке возможности вовлечения в биологический круговорот содержащихся в почвах элементов азотного и зольного питания. Разнообразие микрофлоры, способной разлагать целлюлозу в почве, позволяет трансформировать это вещество в различных условиях аэрации, при кислой или щелочной pH, низкой или высокой влажности и при разной температуре. Целлюлозу разлагают аэробные микроорганизмы (бактерии, миксобактерии, актиномицеты и грибы) и анаэробные бактерии. Наиболее богата в почве представлена группа аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов.

В отличие от шерсти, кожи или войлока, целлюлоза является основным компонентом тканей, созданных из растительного сырья, например, льна. Остатки тканей растительного происхождения могут быть надежно идентифицированы с помощью фитолитного анализа, возможно применение споро-пыльцевого анализа. Мы пробуем применить микробиологический метод с целью идентификации поступления целлюлозы антропогенного происхождения в почвогрунты захоронений и погребальных конструкций 800-летнего возраста.

В археологическом почвоведении сейчас сформулирована концепция биологической памяти почв и культурных слоев археологических памятников. Под этим термином предлагается понимать информацию об условиях почвообразования в прошлом, носителями которой являются живые организмы [15], их генеративные и покоящиеся формы, отмершие и минерализованные организмы и ткани, биоорганические соединения, низко- и супрамолекулярные продукты микробной трансформации органического вещества, а также следы и продукты жизнедеятельности живых организмов в почвенном профиле. Установленные на сегодняшний день временные масштабы функционирования микробной и ферментной памяти почв составляют до нескольких тысяч лет.

На почвогрунтах из древних сосудов показан механизм функционирования микробной памяти почв, способность микробного сообщества почв сохранять изменения своей структуры, функциональное разнообразие и биологическую активность, возникшие в результате действия природных или антропогенных факторов в прошлом. Так, установлено что уровень липазной активности в почве прямо зависит от количества поступа-

ющего субстрата (жира) в образцах грунта из керамических сосудов [16], то есть после разложения органических остатков в почве формируется ферментный пул, который может сохраняться на протяжении неопределенно длительного периода времени. Например, был реконструирован состав пищи под развалом крупного сосуда эпохи поздней бронзы [17], то есть сохраняются не только естественные турбации [18], что позволяет прочтение истории ландшафта, но и локальные участки привноса вещества, что детализирует историю антропогенных воздействий.

В одном из горшков из погребения эпохи бронзы (II тыс до н.э.) путем мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов были выявлены индикаторные соединения, такие как лактат и ацетат — из группы солей карбоновых кислот, цистеин — из группы аминокислот, перспективные для реконструкции исходного содержимого ритуальных сосудов. Эталонами сравнения стали данные длительного двухгодичного инкубационного эксперимента по скорости разложения почвогрунтов с добавленными различными субстратами [19]. Показано, что при инкубационном эксперименте изменяются функциональные особенности микробных сообществ. Эти изменения оцениваются с помощью мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов, когда почвенным микробным сообществам предлагаются низкомолекулярные индукторы дыхания (аминокислоты и карбоновые кислоты) и проводится регистрация изменения интенсивности выделения углекислого газа почвенными микроорганизмами. Специфические дыхательные отклики микробных сообществ на внесение солей карбоновых кислот вместе с высокой микробной биомассой придонного слоя в горшке указывают на то, что горшок изначально содержал белковый продукт с возможной составляющей масла и крахмала.

По аналогии с определением субстратов животного происхождения, кератина и коллагена, входящих в состав шерсти и кож [20], а также определения наличия специфичных групп, таких как термофилы [21], нами сделана попытка применить методы чашечного посева с целью определения поступления целлюлозы.

Любые попадающие в почву вещества, такие как шерсть с кожей или целлюлозосодержащие ткани, будут являться питательными субстратами для почвенных микроорганизмов. Подобный подход к определению животных субстратов ранее применялся для идентификации содержимого ритуальных сосудов [22]. Численность молочнокислых бактерий, выращенных из грунта погребального сосуда срубной культуры (XVI–XV вв. до н.э.) увеличилась в три раза на молочной среде по сравнению с контролем, что свидетель-

ствовало о наличии молочного продукта. Поскольку в аэробных условиях клетчатку разлагают многие микроорганизмы различных систематических групп, мы предлагаем при проведении археологических исследований определять увеличение общей численности микробного сообщества на субстрате, содержащем целлюлозу.

Изложим основания, позволяющие нам предполагать отклик целлюлозолитиков на внесение субстратов в древности. Ранее для определения кератинолитической активности в почве был разработан метод приманок [23], позволяющий судить о степени выраженности данного показателя по интенсивности зарастания субстрата — конского или человеческого волоса — колониями кератинолитических грибов. Для выявления следов навоза, внесенного на поля в древности, были использованы микробиологические посевы термофильных микроорганизмов [24, 25]. Показана высокая сохранность ферментативной активности в культурных слоях поселений эпохи бронзы [26, 27]. Иными словами, определять таким образом другие субстраты оказалось возможным.

Пионерные работы по обнаружению целлюлазной активности в археологических контекстах уже проводились в лаборатории археологического почвоведения ИФХиБПП РАН на двух объектах. При микробиологических исследованиях каштановых палеопочв, погребенных под валом Анны Иоанновны (1718–1720 гг.), было установлено, что микробные сообщества погребенных почв отличались от современных по ряду характеристик, в числе которых присутствовала и целлюлазная активность [28]. Более подробно изучались культурные слои поселения аланской культуры Подкумское-2 (II–IV вв. н. э.) и современных дерново-карбонатных почв вблизи поселения, имеющих различное хозяйственное использование. Наряду с показателями суммарной микробной биомассы, мицелия микроскопических грибов, уреазной активности были выявлены повышенные значения целлюлазной активности именно в культурных слоях. Это позволяет заключить, что исходные характеристики микробиологических свойств профиля более полутора тысяч лет сохраняются с отличиями от современных фоновых почв [24].

Скорость деструкции целлюлозы в почве может служить индикаторным показателем общей биологической активности в почвах, биологической трансформации растительных остатков в биоценозе, что, в свою очередь будет отражать процессы самовосстановления почвенного сообщества микроорганизмов после прекращения кратковременного антропогенного воздействия. Считается, что скорость разложения целлюлозы находится в прямой зависимости от содержания доступного микроорганизмам азота [29–32]. В

нашей стране ведутся многолетние наблюдения за последовательными изменениями биологической активности почв, с целью выработки стратегий природопользования в нарушенных местообитаниях. Но даже в таких работах целлюлазная активность исследуется редко, исследователей больше интересуют метанотрофы в разных типах почв, в том числе и в серых лесных [33], как в нашем эксперименте. Константы минерализации целлюлозы были рассчитаны для серой лесной почвы в целях биоиндикации минерализуемого пула органического вещества почвы [34]. Используются аппликационные методы, которые основаны на получении следов воздействия микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности на те или иные материалы непосредственно в почве.

В середине XX века было предложено учитывать скорость разложения клетчатки по убыли в весе льняного или бумажного полотна, заложенного в почву [35–37]. Синтез белков или аминокислот на ткани протекает интенсивно в той зоне, где она более активно разрушается микробами. Накопление на ткани, помещенной в почву, заметного количества аминокислот, пропорционально биологической активности почвы. Хотя при использовании этого подхода определение биологической активности производится не непосредственно в почве, а в зоне контакта ее с льняным полотном, тем не менее, метод дает возможность определять активность *in situ* и рекомендован для широкого использования [38], поскольку дает возможность приблизиться к определению протекания процессов в природных условиях различных биоценозов, оценить микробно-экологические пейзажи по генетическим горизонтам. Лидером по доступности исполнения и информативности стала методика определения биологической активности почв, а именно, целлюлозоразрушающей активности в почвенном слое 0–20 см путем закладки полотен на срок, близкий к длительности всего вегетационного сезона, с поэтапным снятием данных. Максимум биологической активности на изученных почвах приходится на слой 10–20 см, что обусловлено длительным сохранением влаги на этой глубине [39]. Установлена четкая зависимость целлюлазной активности от поступающих тепла и влаги, выявлена динамика показателей внутри вегетационного сезона, выявлены лимитирующие факторы, в степной зоне таким фактором является влага [40, 41]. Иными словами, в черноземных почвах степной зоны заложенные целлюлозные полотна разлагаются за один или несколько полевых сезонов, в зависимости от влажности и глубины залегания. Соответственно, для исторических периодов и древности на почвах других природных зон мы можем ожидать только отклика на вновь внесенный питательный

субстрат пробуждением именно тех покоящихся форм, что могут сохраняться.

Целью настоящей работы является оценка численности целлюлозолитических микроорганизмов, большинство из которых в почвах эксперимента будут грибами, в глубоких слоях серых лесных супесчаных почв для выявления следов привнесения целлюлозы в погребениях и погребальных конструкциях 800-летнего возраста.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы грунта из средневековых погребений были отобраны при раскопках курганных могильников Кременье и Шурово (Южное Подмосковье, вблизи г. Ступино). Эти могильники расположены в ландшафте на надпойменных террасах р. Оки; прилегающие почвы формируются на песках и супесях, что позволяет корректно сопоставлять данные. Для могильника Кременье установлен факт сочетания архаичного погребального обряда, когда грунтовые кремации помещены в небольшие ямки или рассыпанные по древней поверхности, с поздней датой — не ранее середины XII в., т.е., времени вятичей. Отмечена синхронность грунтовых кремаций курганной части могильника и кремированных захоронений, которые представляли собой единый комплекс в глубине «вятической» территории и с «вятическими» вещами [42, 43]. Образцы для анализа грунтов были взяты из погребений-кремаций №№ 5, 8, 10, из участков контакта слоя кремации (темно-серого песка с углем и кальцинированными костями) с материковым светло-серым или светло-желтым песком. На могильнике Шурово, расположенном на некотором расстоянии от могильника Кременье, образцы были отобраны из ямы 47 (участок 15, раскоп II); это кремированное погребение с множественными костями, принявшими вертикальное положение, вероятно, после просадки грунта в полость под деревянным перекрытием. Основной образец представляет собой «тело» кремации, другой взят из обрамления кремации, представляющего собой коричневый грунт. Образец из канавки квадрата 577 (участок 18, раскоп II) отобран для характеристики круговой конструкции, опоясывающей кремированное погребение.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение численности колониеобразующих единиц целлюлозолитических микроорганизмов. Основные результаты были получены посевами на среды, методом, модифицированным в лаборатории археологического почвоведения ИФХи-БПП РАН. Образцы почвогрунтов для посевов из конструкций захоронений разных сезонов раскопок отбирали с соблюдением условий стерильно-

сти, после отбора до трех суток образцы хранили охлажденными при 4°C, длительное хранение осуществлялось при -24°C, что находится в пределах температур, характерных для данной климатической природной зоны. Перед экспериментом образцы были разморожены, а затем инкубированы 7 суток при 22°C и влажности до 60% полной полевой влагоемкости.

Для подсчета общей численности колониеобразующих единиц (КОЕ) на целлюлозном субстрате использовали 20%-й почвенный агар с добавлением 10% карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ). Стерилизацию среды проводили в 2 этапа. Для учета контрольной численности КОЕ применяли чистый почвенный агар. Навеску грунта массой 1 г заливали 10 мл 0.5%-го раствора пиродифосфата натрия, затем обрабатывали ультразвуком при мощности 50 Вт и частоте 22 кГц в течение 15 с для дезинтеграции почвенных частиц. Из третьего разведения полученной суспензии на поверхность твердых питательных сред наносили каплю объемом 50 мкл. Инкубацию проводили в течение 10–14 суток при 26°C. Общую численность КОЕ после подсчета колоний определяли по формуле:

$$N = (a/v \times 1000 \times 1000) / (m \times K_{\text{вл}} \times 1000),$$

где N — общая численность КОЕ (тыс. / г почвы), a — число колоний на поверхности питательной среды, v — объем капли (мкл), 1000 — число мкл в 1 мл, 1000 — третье разведение суспензии, m — масса навески, $K_{\text{вл}}$ — коэффициент увлажнения почвы для расчета общей численности КОЕ на 1 г абсолютно сухого грунта.

Увеличение общей численности КОЕ на почвенном агаре с карбоксиметилцеллюлозой относительно их общей численности на чистом почвенном агаре определяли по формуле:

$$X = (N_{(\text{ПА}+\text{КМЦ})} - N_{(\text{ПА})}) / N_{(\text{ПА})} \times 100\%,$$

где X — искомый прирост общей численности КОЕ микробного сообщества, %; $N_{(\text{ПА}+\text{КМЦ})}$ — общая численность КОЕ микроорганизмов на почвенном агаре с карбоксиметилцеллюлозой; $N_{(\text{ПА})}$ — общая численность КОЕ микроорганизмов на чистом почвенном агаре.

Термостатный эксперимент по установлению скоростей разложения целлюлозы почвами в природной зоне изучаемых кремированных погребений. Данный эксперимент был проведен для понимания скоростей процессов в связи с вариативностью свойств почв различных природных зон (и, соответственно, их целлюлозоразлагающей активности) на усредненном почвогрунте заполнения круговой канавки вокруг погребения 5. В целлюлозоразлагающем термостатном эксперименте использовали образцы, привезенные охлажденными (4°C) в лабораторию непосредственно

после отбора. Эксперимент проведен в условиях постоянной температуры (30°C, термостат) и влажности, составляющей 60% от полной полевой влагоемкости (с поддержкой каждые 5 суток). Целлюлазную активность почв определяли аппликационным методом [23], который был модифицирован в лаборатории археологического почвоведения [24]. Для этого в чашки Петри помещали слой увлажненной до 60% полной влагоемкости почвы, поверх которого помещали стерильную капроновую сетку с ячейками 3×3 мм. На сетку укладывали диск из грубой стерильной льняной ткани, который также перекрывали сеткой. Сверху насыпали еще один слой почвы. Чашки помещали в термостат при температуре 30°C. После 30 суток инкубации образцы ткани извлекали из чашек, тщательно промывали, помещали в сушильный шкаф и высушивали при температуре 105°C до постоянного веса. Целлюлазную активность рассчитывали по изменению массы образцов ткани после инкубации от исходной. Поэтому активность выражена в процентах по убыли веса заложенного в чашки полотна, что не позволяет сравнивать напрямую эти данные с числом колониеобразующих единиц. Мы использовали этот метод для понимания скоростей разложения целлюлозы в нашем биогеоценозе и сопоставления с литературными данными, увеличив время инкубации с последовательным снятием результатов в пяти повторностях на сроках 10–30–40–60 суток.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами [44].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Численность колоний целлюлозоразлагающих микроорганизмов в наших экспериментах (табл. 1) мы сравниваем со значениями из фоновой почвы того же возраста, что и кремированные захоронения, выделяя случаи достоверного превышения фоновых значений.

Для интерпретации данных рассмотрим результаты термостатного эксперимента (рис. 1). В этом эксперименте на всех сроках экспозиции в пяти повторностях достоверно для каждого срока была зафиксирована убыль в массе как для льняных дисков, так и для целлюлозных фильтров. Льняные диски демонстрируют убыль в массе от 5 до 10% на различных сроках экспозиции. Убыль в массе целлюлозных фильтров колеблется от 3 до 20%, демонстрируя разброс данных. Однако нижний диск во всех случаях, как для льна, так и для целлюлозных фильтров, разлагался более интенсивно по сравнению с верхним диском, что объясняется более высокой влажностью на дне чашки Петри и плотным контактом с грунтом. Отметим, что эти результаты сравнимы (с учетом уменьшения из-за легкого гранулометрического

состава нашей почвы и более холодной природной зоны) с данными по целлюлазной активности как культурных слоев поселения Подкумское [24, 28], так и с данными для биогеоценозов [40], поскольку выражены в одних и тех же единицах.

Для каждого срока экспозиции мы рассчитали скорость разложения целлюлозных субстратов, выраженную в процентной убыли массы в сутки. При этом целлюлозные фильтры демонстрируют падение скорости разложения в зависимости от срока экспозиции, но имеют флуктуации. Льняные диски демонстрируют повышенные скорости разложения субстрата в первые десять суток эксперимента, на уровне 0.7% в сутки. К тридцатым суткам экспозиции скорость падает до 0.2% в сутки и держится на этом уровне до конца эксперимента, демонстрируя стабилизацию. Соответственно, выявлено, что начальные скорости разложения льняных дисков в три раза выше, чем средняя стабильная скорость. Подобная картина начальных процессов почвообразования в биогеоценозах многократно демонстрировалась на других почвенных показателях.

Проводя сравнения целлюлазной активности культурных слоев для ключевого участка Подкумское-2 [24], отметим значимое ее повышение (в два раза по сравнению с фоном, в абсолютных значениях до 60% при фоновых значениях на уровне 17–33%) всего в одном образце из двух десятков. Образец был взят с глубины 10–30 см, в зоне I поселения, где разрез культурного слоя расположен у стенки большой западины внутри загона, ограниченного со всех сторон развалами стен. Эта зона использовалась для содержания скота, где загон выстилался подстилками.

Второе значимое повышение поселения Подкумское в абсолютных значениях невелико, на уровне 30%, что сопоставимо с фоном, но находится на глубине 70–80 см зоны II эксплуатации, где не видны контуры развалов построек, что предполагает иной характер использования территории в аланское время (жилая зона II–IV вв. н.э.), поэтому объяснимо антропогенным приростом вещества.

Эти данные хорошо сопоставимы с нашими, когда у нас в термостатном эксперименте серыми лесными супесями террасы р. Оки в Московской области Московской области за два месяца разлагается до 10–20% внесенного субстрата, в то время как фоновые значения горных черноземов первой речной террасы Карачаево-Черкесской республики демонстрируют максимальные значения до 30–40%. Антропогенная нагрузка от проживания населения оставляет след в виде измененной ферментативной активности почв.

Переходя от целлюлазной активности естественных почв биогеоценозов, через подтвержденные следы различного антропогенного воз-

Таблица 1. Характеристики исследуемых участков генома *S. cerevisiae*

Характеристика анализируемого грунта, средняя глубина залегания, см;	Численность микробных колоний, млн. КОЕ/г почвы		Увеличение численности колоний при добавлении целлюлозы в почвенный агар, %
	Почвенный агар	Почвенный агар с добавлением КМЦ	
Моги́льник Кременье			
Разрез современной почвы на насыпи кургана			
А1 (10 см)	0.97 ± 0.03	1.91 ± 0.57	97
АВ насыпи (20 см)	0.63 ± 0.03	0.62 ± 0.10	нет
АВ насыпи (38 см)	0.59 ± 0.01	0.83 ± 0.11	41
Фрагмент строительной конструкции кургана с печиной (60 см)	0.88 ± 0.18	0.87 ± 0.05	нет
В насыпи (75 см)	0.85 ± 0.01	0.65 ± 0.01	нет
Моги́льник Кременье			
Захоронения с кремированными останками			
Раскоп 1, участок 8, погребение 5, заполнение канавки			
Северная часть, придонный слой	1.66 ± 0.26	1.31 ± 0.03	нет
Восточная часть, низ кремации	0.97 ± 0.01	1.11 ± 0.09	14
Левая сторона восточной части, коричневый грунт	0.68 ± 0.08	0.71 ± 0.05	нет
Правая сторона восточной части	2.03 ± 0.07	1.95 ± 0.69	нет
Нижний слой восточной части, черный грунт	1.26 ± 0.16	1.22 ± 0.22	нет
Восточная часть, коричнево- охристый грунт	1.44 ± 0.24	1.54 ± 0.08	нет
Западная часть	1.50 ± 0.12	1.31 ± 0.05	нет
Заполнение канавки, усредненный образец грунта	3.04 ± 0.04	3.07 ± 0.09	нет
Раскоп 1, участок 9, погребение 8			
Центр погребения, дно	2.53 ± 0.07	2.30 ± 0.11	нет
Центр погребения, придонная часть	1.06 ± 0.08	1.24 ± 0.05	17
Правая сторона придонной части	1.33 ± 0.03	1.38 ± 0.02	нет
Левая стенка	0.71 ± 0.10	0.69 ± 0.12	нет
Моги́льник Щурово, кремированные захоронения			
Раскоп II, участок 15, яма 47, обрамление кремации, коричневый грунт	0.57 ± 0.01	0.73 ± 0.01	29
Раскоп II, участок 15, яма 47, «тело» кремации	0.57 ± 0.08	0.54 ± 0.02	нет
Раскоп II, участок 18, кв. 577, круговая канавка	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.01	нет

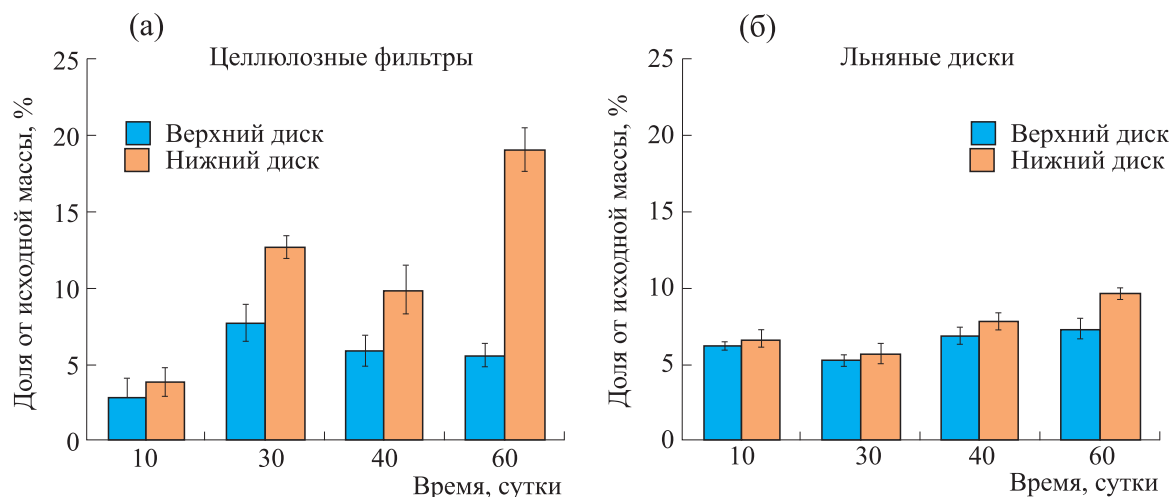


Рис. 1. Целлюлазная активность усредненных почвогрунтов круговой канавки погребения 5 (Кремень) в термостатном 60-суточном эксперименте при использовании целлюлозных фильтров (а) и льняных дисков (б).

действия, в частности, загонного содержания скота, к кремированным захоронениям, остановимся на фоновых значениях почвы курганной насыпи 800-летнего возраста, выступающей корректным одновозрастным фоном для наших исследуемых кремированных погребений. Здесь отмечено достоверное увеличение КОЕ в верхнем горизонте фоновой почвы до 97% (табл. 1), что свидетельствует о работоспособности примененного метода.

Также увеличение КОЕ целлюлозолитиков по сравнению с почвенным агаром без карбоксиметилцеллюлозы, получено еще в трех образцах из всей выборки в 22 образца. Слабое превышение — на 17% — было зафиксировано в центре погребения 8, в его придонной части. В канавке погребения 5, в восточной ее части, также было отмечено увеличение КОЕ целлюлозолитиков на 14%.

Превышение на 30% зафиксировано в коричневом грунте обрамления, в кремации ямы 47 могильника Щурово. Проявившие целлюлазную активность микроорганизмы позволяют реконструировать наличие у данной кремации обертки растительного происхождения. Поскольку температура горения при кремировании превышает 750°C, то неполное сгорание горящих материалов, входящих в состав самих кремированных останков, можно исключить. Поэтому, реконструируя диагенез, мы предполагаем либо укутывание этой кремации в ткани, либо размещение их на деревянной конструкции (метод не позволяет отделить лигнин), которая сгнила, и кости кремации просели вниз, где в данный момент грунты демонстрируют превышение численности микроорганизмов на почвенном агаре, содержащем карбоксиметилцеллюлозу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целлюлазная активность почвогрунтов погребальных сооружений и захоронений в зоне серых лесных супесчаных почв зафиксирована на уровне до 20% на примере образцов из окружной канавки погребения 5 в ходе лабораторного 60-суточного термостатного эксперимента при 22°C.

Впервые методом чашечного посева в шести повторностях, по разнице в числе колониеобразующих единиц на среде с внесением целлюлозного субстрата, зафиксированы превышения целлюлазной активности в трех образцах почвогрунтов кремированных захоронений 800-летнего возраста. Отметим, что при детальном изучении культурных слоев поселения Подкумское, значимая разница по целлюлазной активности получена всего в двух образцах [24], но хорошо и логично объяснима типом хозяйственного использования территории.

У нас фоновые значения естественной целлюлазной активности в верхнем горизонте значительно превышают активность почвогрунтов, но в горизонте на глубине до 40 см уже сопоставимы с максимумами в кремированных грунтах. Кремированные объекты позволяют предполагать выгорание привнесенных в древности целлюлозосодержащих предметов, но даже в этом случае придонная часть погребения 8 демонстрирует некоторое повышенное значение, что позволяет предполагать новую тканевую обертку при захоронении уже кремированных остатков, иными словами, уже кремированные остатки перенесли и захоронили в новой обертке, которая не побывала в огне. Этот же образец продемонстрировал повышенную кератинолитическую активность [20].

В кремации, расположенной в яме 47 Щуровского могильника, где превышение численности колониобразующих единиц целлюлозолитических микроорганизмов составляло 30%, предполагается исходное присутствие целлюлозы в древности. Это позволяет археологам предположить наличие при захоронении деревянного перекрытия над полостью, не имеющего морфологических следов к настоящему времени.

По сравнению с кератинолитической активностью, для которой ранее нами демонстрировалось превышение до восьми раз по сравнению с фоном [20], целлюлазная активность более сложна в интерпретации относительно фоновых значений ввиду высокой распространенности этого биополимера в природе и круговоротах в биогеоценозах. Но при этом, если превышение зафиксировано, оно не является случайностью, позволяя получать логичные объяснения археологическим контекстам.

Изменения климатических условий и древние антропогенные воздействия отражаются в микробной памяти погребенных почв в виде изменения биомассы и эколого-трофической структуры почвенного микробного сообщества. В микробной памяти антропогенный привнос веществ в почву сохраняется в виде увеличения численности микроорганизмов, специализирующихся на разложении данного субстрата; в ферментативной памяти — в виде увеличения активности экзо- и эндоферментов [26], которые участвуют в утилизации этих субстратов почвенными микроорганизмами. Применительно к почвам со следами древнего антропогенного преобразования наряду с микробной памятью реализуется ферментная память, позволяющая реконструировать поступление в почву неспецифичных для нее субстратов, в первую очередь субстратов антропогенной природы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Лабораторный эксперимент по определению целлюлазной активности в динамике выполнен в рамках Государственного задания № АААА-А18-118013190175-5 «Развитие почв в условиях меняющегося климата и антропогенных воздействий». Определение целлюлазной активности почвогрунтов кремированных погребений, а также адаптация методики применительно к древним объектам, выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-68-00010, рук. А.В. Борисов).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. Н. Кудеяров, В. А. Демкин, Д. А. Гиличинский и др., Почвоведение, № 9, 1027 (2009).
2. Ю. Г. Чендев, А. Л. Александровский, О. С. Хохлова и др., Почвоведение, № 1, 3 (2017).
3. T. Alekseeva, A. Alekseev, V. Demkin, and B. A. Maher, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **249** (1–2), 103 (2007).
4. L. N. Plekhanova and V. A. Demkin, *Eur. Soil Sci.*, **41** (1), 1 (2008).
5. N. E. Ryabogina, A. S. Afonin, S. N. Ivanov, et al., *Quat. Intern.*, **528**, 73 (2019).
6. A. Rusakov, A. Popov, A. Makeev, et al., *Quat. Intern.*, **502** (Part B), 197 (2019).
7. T. S. Demkina, V. A. Demkin, and A. V. Borisov, *Eur. Soil Sci.*, **33** (9), 978 (2000).
8. T. E. Khomutova, N. N. Kashirskaya, T. S. Demkina, et al., *Quat. Intern.* **507**, 84 (2019). DOI: 10.1016/j.quaint.2019.02.013
9. Е. В. Благодатская, О. С. Хохлова, Т. Х. Андерсон и С. А. Благодатский, *Микробиология*, **72** (6), 847 (2003).
10. L. N. Plekhanova and V. A. Demkin. *Eur. Soil Sci.*, **38** (9), 973 (2005).
11. А. В. Борисов, *Поволжская археология*, № 4 (6), 235 (2013).
12. А. В. Борисов, А. В. Бухонов, Е. И. Гак и Л. Н. Плеханова, в сб. *Археология Восточно-Европейской степи. Материалы IV Нижневолжской международной археологической конференции* (Саратов, 2013), сс. 66–74.
13. L. N. Plekhanova, *Arid Ecosystems*, **9** (3), 187 (2019). DOI: 10.1134/S2079096119030077
14. E. Chernysheva, T. Khomutova., A. Borisov, et al., *J. Archaeol. Sci.: Reports*, **37**, 103012 (2021). DOI: 10.1016/j.jasrep.2021.103012
15. А. В. Борисов, Т. С. Демкина, Н. Н. Каширская и др., *Почвоведение*, № 7, 849 (2021). DOI: 10.31857/S0032180X21070029
16. Е. В. Чернышева, А. В. Борисов и В. Ю. Малашев, *Краткие сообщения Института археологии*, № 263, 105 (2021). DOI: 10.25681/IARAS.0130-2620.263.105-116
17. О. С. Тупахина, Д. С. Тупахин, Р. А. Колесников и Л. Н. Плеханова, *Российская археология*, № 2, 47 (2022). DOI: 10.31857/S0869606322020192
18. L. N. Plekhanova and O. S. Tupakhina, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **817**, 011001 (2021). DOI: 10.1088/1755-1315/817/1/011001
19. Т. Э. Хомутова, К. С. Душанова и А. В. Борисов, *Нижневолжский археологич. вестн.*, **19** (1), 188 (2020). DOI: 10.15688/nav.jvolsu.2020.1.10

20. Н. Н. Каширская, Л. Н. Плеханова, А. А. Петросян и др., *Нижеволжский археологич. вестн.*, **17** (2), 95 (2018). DOI: 10.15688/nav.jvolsu.2018.2.8
21. Е. В. Чернышева, Н. Н. Каширская, Е. В. Демкина и др., *Микробиология*, **88** (5), 624 (2019). DOI: 10.1134/S0026365619050045
22. В. А. Демкин, Т. С. Демкина и С. Н. Удальцов, *Вестн. археологии, антропологии и этнографии*, № 2 (25), 148 (2014).
23. *Методы почвенной микробиологии и биохимии* (Изд-во МГУ, М., 1991).
24. Е. В. Чернышева, Автореферат дис. ...канд. биол. наук (Воронеж, 2015)
25. N. Kashirskaya, E. Chernysheva, L. Plekhanova, and A. Borisov, in *Proc. 19th Int. Multidisc. Sci. Geoconf. SGEM 2022*, **19** (3.2), 569 (2019). DOI: 10.5593/sgem2019/3.2/S13.074
26. Н. Н. Каширская, Л. Н. Плеханова, С. Н. Удальцов и др., *Биофизика*, **62** (6), 1235 (2017). DOI: 10.1134/S0006350917060094.
27. Н. Н. Каширская, Л. Н. Плеханова, Е. В. Чернышева и др., *Почвоведение*, № 1, 89 (2020). DOI: 10.1134/S0032180X20010098.
28. Е. В. Чернышева, Н. Н. Каширская, А. В. Борисов и др., *Вестн. Тамбовского университета. Сер.: Естественные и технические науки*, **18** (3), 842 (2013).
29. В. Н. Кудяров и Т. В. Кузнецова, *Почвоведение*, № 11, 79 (1990).
30. Т. В. Кузнецова, А. К. Ходжаева, Н. А. Семенова, и др., *Агрохимия*, № 6, 5 (2006).
31. В. М. Семенов, Л. А. Иванникова, Т. В. Кузнецова и др., *Почвоведение*, № 5, 569 (2001).
32. I. A. Mendelssohn, B. K. Sorrell, H. Brix, et al., *Aquatic Botany*, **64** (3–4), 381 (1999).
33. И. К. Кравченко, В. М. Семенов, Т. В. Кузнецова и др., *Микробиология*, **74** (2), 255 (2005).
34. В. М. Семенов, Л. А. Иванникова, Т. В. Кузнецова и др., *Почвоведение*, № 11, 1352 (2007).
35. Е. Н. Мишустин и А. Н. Петрова, *Микробиология*, **32** (3), 479 (1963).
36. Е. Н. Мишустин и И. С. Востров, *Аппликационные методы в почвенной микробиологии // Микробиологические и биохимические исследования почв* (Изд-во «Урожай», Киев, 1971).
37. *Методы почвенной микробиологии и биохимии* (Изд-во МГУ, М., 1980).
38. *Почвенный и биотический мониторинг заповедных экосистем* (Изд-во КМК Scientific Press, М., 1996).
39. Л. А. Савченко, О. С. Бойко и И. С. Оликова, в сб. *Труды Центрально-черноземного госзаповедника* (Изд-во КМК Scientific Press, М., 1997), вып. 15, сс. 30–44.
40. А. В. Прохорова и Л. Н. Плеханова, *Проблемы региональной экологии*, № 2, 67 (2016).
41. L. N. Plekhanova, in *Proc. 19th Int. Multidisc. Sci. Geoconf. SGEM 2018*, **18** (5.2), 173 (2018). DOI: 10.5593/sgem2018/5.2/S20.023
42. А. С. Сыроватко, *Российская археология*, № 4, 48 (2014).
43. А. С. Сыроватко и Э. Э. Фомченко, в сб. *Оки связующая нить: археология Среднего Поочья: Матер. VII–VIII региональной науч.-практич. конф.* (Ступинский историко-художественный музей, Ступино, 2015), сс. 132–138.
44. Е. А. Дмитриев, *Математическая статистика в почвоведении* (Изд-во МГУ, М., 1995).

Low-Active Forms of Cellulosolitic Microorganisms in Archaeological Contexts

L.N. Plekhanova*, S.N. Udaltsov*, A.S. Syrovatko**, ***, and N.N. Kashirskaya*

**Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Archaeological Center of Kolomna, Kremlevskaya ul. 5, Kolomna, Moscow Region, 140400 Russia*

****Institute of Geography, Russian Academy of Sciences, Staromonetny per. 29/4, Moscow, 119017 Russia*

This article presents the results of the study on low-active forms of cellulosolitic microorganisms in the soils of archaeological sites. The objects of the study were soils with traces of wooden structures in Vyatichi burials (12th century). To date, traces of wood are not visible at the macro level. The data obtained are compared with the results of a laboratory experiment to determine rates of cellulose decomposition in soils from various archaeological contexts. Cellulosolitic activity was determined by the application method. It has been shown that the cellulase activity of soils with traces of burial wooden structures is 20% of the level of modern soils. This suggests the awakening or presence of living, low-active microorganisms that have survived in the soil for 800 years.

Keywords: paleosols, cellulose, cellulase, microorganisms, burial soil, cremations, burials