

DOI 10.53278/2306-9139-2025-1-24-11-26

УДК 624.131.1; 504.064

**ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ДИСПЕРСНЫХ ГРУНТОВ:
СТОЯЩИЕ ЗАДАЧИ И ОПЫТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ****THE ENZYMATIC ACTIVITY OF DISPERSED SOIL:
CURRENT CHALLENGES AND EXPERIMENTAL EVALUATION EXPERIENCE**© 2025 г. И. Ю. Григорьева¹, М. А. Гладченко², А. В. Морозов³© 2025 Iya Yu. Grigorieva¹, Marina A. Gladchenko², Andrey V. Morozov³^{1,3}Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, геологический факультет, кафедра инженерной и экологической геологии, ул. Ленинские горы д. 1, г. Москва, 119991, Россия^{1,3}Department of Engineering and Ecological Geology, Geological Faculty, Lomonosov Moscow State University, bld. 1, Leninskie gory, Moscow, 119992 Russia²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, химический факультет, кафедра химической энзимологии, ул. Ленинские горы д. 116, г. Москва, 119992, Россия²Department of Chemical Enzymology, Chemical Faculty, Lomonosov Moscow State University, bld. 11b, Leninskie gory, Moscow, 119992 Russiaikagrig@inbox. ru¹, gladmarina@yandex. ru², morozov8pro@yandex. ru³

Аннотация. Ферментативная активность дисперсных грунтов является одним из важных показателей их биотических свойств. Однако эти вопросы достаточно слабо отражены как в учебной, так и научной литературе по вопросам грунтоведения и экологической геологии. В статье на основе кратких сведений о ферментах, их группах, механизме каталитического действия рассмотрены источники поступления ферментов в дисперсные грунты, проанализированы особенности их поведения в зависимости от степени связи с компонентами грунта. Проанализированы основные методические особенности оценки уровня ферментативной активности, обобщены немногочисленные сведения о величинах ферментативной активности для различных типов дисперсных грунтов. Сформулированы задачи дальнейших исследований по оценке ферментативной активности дисперсных грунтов и приведены сведения о величинах активности, полученные на основе собственных экспериментальных исследований авторов.

Abstract. The enzymatic activity of dispersed soils is one of the important indicators of their biotic properties. However, these issues are rather poorly reflected in both educational and scientific literature on soil science and environmental geology. In the article, based on brief information on enzymes, their groups, the mechanism of catalytic action, the sources of enzymes entering dispersed soils are considered. The features of catalytic activity depending on the degree of connection with soil components are analyzed. The main methodological features of assessing enzymatic activity are analyzed. The literary data on the values of enzymatic activity for various types of dispersed soils are summarized. Information on the activity values obtained on the basis of the authors' own experimental studies is provided. The tasks for further studies of the enzymatic activity of dispersed soils have been determined.

Ключевые слова: ферментативная активность, биокаталитические свойства, биотические свойства, дисперсные грунты, качество природных сред, экологическая геология

Key words: enzymatic activity, biocatalytic properties, biotic properties, dispersed soils, quality of natural environments, environmental geology

Введение

Сведения о ферментативной активности почв широко представлены в научной литературе, рассматривающей вопросы почвоведения [1–3, 22, 28]. Однако

в рамках теории грунтоведения ферментативная активность или, иными словами, биокаталитические свойства грунтов практически не изучены. Как и все биотические свойства, они обусловлены процессом

жизнедеятельности грунтовой биоты и заключаются в способности грунтовых систем ускорять процессы превращения более сложных веществ (в том числе поллютантов), поступающих в верхние горизонты литосферы, в более простые. Эти свойства в настоящее время принято оценивать показателями ферментативной активности [15]. При этом в своё время было высказано мнение о том, что микроорганизмы обнаружены во всех изученных типах грунтов [4]. В отличие от почв, где число микроорганизмов резко падает вниз по профилю, в дисперсных грунтах изменение их численности не подчиняется асимптотическому закону и в зависимости от типа разреза может изменяться самым разным образом, вплоть до резкого увеличения и даже до значений, превышающих величины, характерные для почвенных горизонтов. За пределами почвенного профиля (в самой верхней части разреза литосферы) распределение микроорганизмов не зависит от глубины залегания пород и при повышении влажности их численность может увеличиваться с глубиной, что выражается в наличии в грунтах ряда ферментов в количестве, сравнимом с их содержанием в почвах. Накопление большого количества ферментов в верхних горизонтах

литосферы и обуславливает возникновение особых биокаталитических свойств грунта, инструментальная оценка которых возможна через показатели ферментативной активности. От присутствия ферментов зависят все биохимические преобразования, происходящие в динамичной многокомпонентной грунтовой системе. Эти показатели могут помочь в изучении и описании микробного функционального разнообразия, мониторинге направленности изменений биохимических процессов, происходящих в грунтовых массивах под воздействием природных или антропогенных факторов, что имеет определяющее значение с позиций геоэкологии как междисциплинарной науки и экологической геологии как её части [13].

В связи с этим в рамках настоящей статьи авторы попытались обобщить имеющиеся на сегодняшний день сведения о ферментативной активности дисперсных грунтов и методах её определения, рассмотреть круг задач, которые необходимо решить для успешного продолжения изучения этого показателя биотических свойств грунтовых систем.

Ферменты и их группы

В строгом виде ферменты (энзимы) — обычно белковые молекулы, молекулы РНК¹ или их комплексы, ускоряющие химические реакции в живых системах. Обмен веществ в живом организме — это превращение одних химических веществ в другие. Ферменты выполняют функцию биокатализаторов и создают условия для этого процесса или ускоряют его. Большинство ферментов, так называемые протеиды (сложные белки), состоят из белковой части (апофермента) и небелковой (кофермента). Обе части образуют холофермент — функционально действенный энзим (рис. 1). Ферменты обычно представляют собой глобулярные белки² с молекулярной массой примерно от 10 000 до нескольких миллионов.

Каждый фермент обладает уникальной последовательностью аминокислот³, которая заставляет его сворачиваться в характерную трехмерную форму с определенной конфигурацией поверхности. Это позволяет ферменту находить правильный субстрат из большого количества разнообразных молекул в клетке. Апофермент, неактивная форма фермента, активируется после связывания с кофактором. Коферменты представляют собой небольшие органические



Рис. 1. Строение фермента (энзима) [на основе 3, 16]

¹ Рибонуклеиновая кислота (РНК) — сложное органическое соединение, играющее важную роль в передаче генетической информации и участвующее в синтезе белка в организме. Одна из трёх основных макромолекул (наряду с ДНК и белками), которые содержатся в клетках всех живых организмов.

² Глобулярная молекула — характер упаковки белковой молекулы в виде сферы.

³ Аминокислоты — органические соединения, содержащие карбоксильную группу (-COOH) и аминогруппу (-NH₂). Являются основными составляющими живой материи, поскольку молекулы белка состоят из молекул аминокислот, соединённых вместе. Известно более 30 аминокислот.

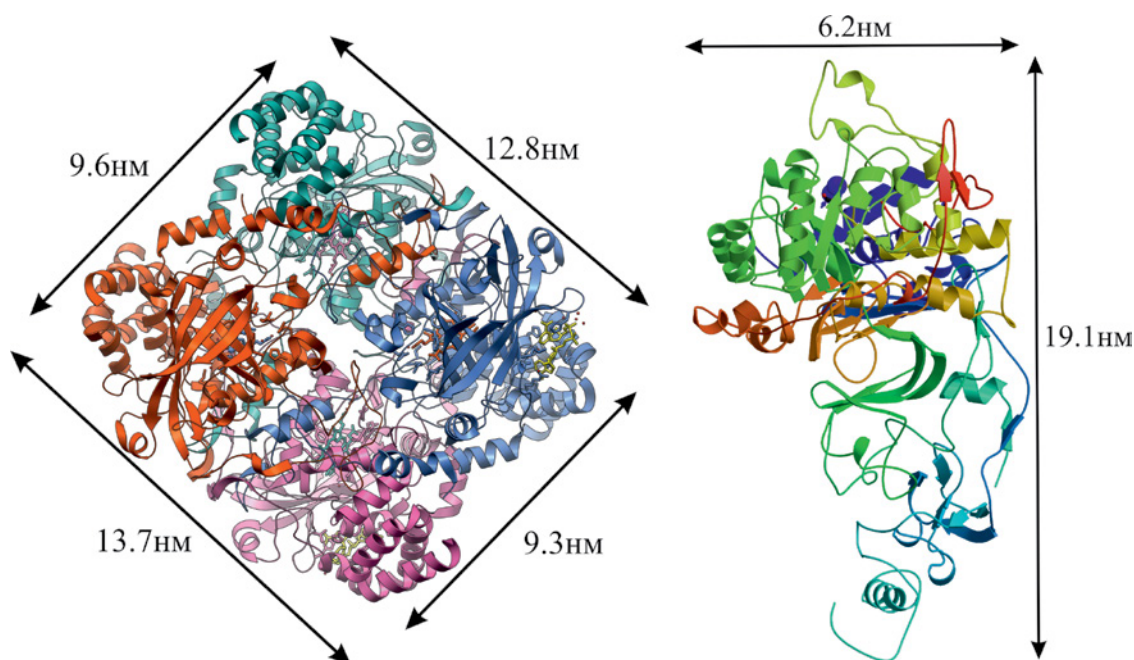


Рис. 2. Сравнительные размеры белков: каталаза (слева), уреаза (справа)

молекулы, которые могут быть слабо связаны с апоферментом и переносят химическую группу от одного фермента к другому. Размеры подобных органических молекул составляют первые нанометры (рис. 2). Кофактор представляет собой химическое соединение или ион металла, который необходим для активности фермента. Например, некоторые кофакторы представлены ионами металлов, включая железо (Fe), медь (Cu), магний (Mg), марганец (Mn), цинк (Zn), кальций (Ca) и кобальт (Co). Если кофактор плотно присоединен к апоферменту, он называется простетической группой. Простетическая группа может быть органической (витамин, сахар или липид) или неорганической (ион металла).

Действие фермента заключается в связывании с веществом, участвующим в реакции (субстратом), и преобразовании его в другое вещество. Реагенты в реакции, катализируемой ферментами, называются субстратами, а получающиеся вещества — продуктами (рис. 3). Выбор объекта действия определяется апоферментом. Кофермент играет важную роль в протекании каталитической реакции. Ферменты специфичны и действуют на определенные субстраты, каждый фермент катализирует только одну реакцию.

Область фермента, где молекулы субстрата связываются и подвергаются химической реакции, является его активным центром. Каждый активный центр специализирован для взаимодействия со своим субстратом. После образования комплекса «фермент-субстрат» воздействие, оказываемое ферментом на субстрат, заставляет его вступать в реакцию и превращаться в ее продукт. Например,

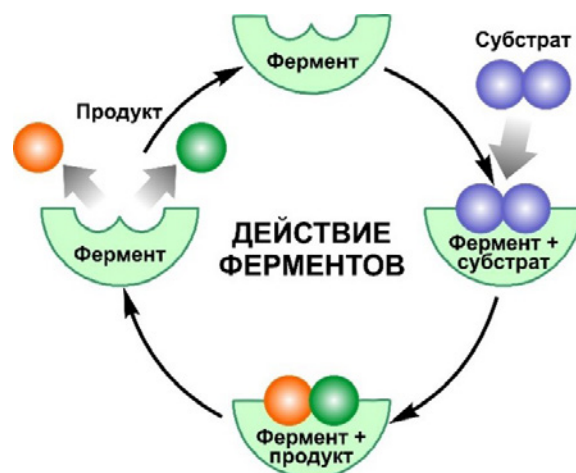


Рис. 3. Общий принцип работы ферментов [на основе 3, 27]

сахараза катализирует гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы.

На сегодняшний день описано свыше 3000 различных ферментов (ещё в 1964 году в литературе было описано только 800), но в природе по некоторым оценкам их существует около 25000. Первый список классификации и номенклатуры ферментов был впервые утвержден Международным союзом биохимиков в 1961 году [16]. Номенклатура ферментов основана на типе катализируемой реакции. До некоторого времени выделяли шесть классов ферментов: оксидоредуктазы (EC 1), трансферазы (EC 2), гидролазы (EC 3), лиазы (EC 4), изомеразы (EC 5) и лигазы (EC 6). Однако позднее стало очевидно, что ни один из перечисленных типов не может описать важную группу ферментов, которые катализируют

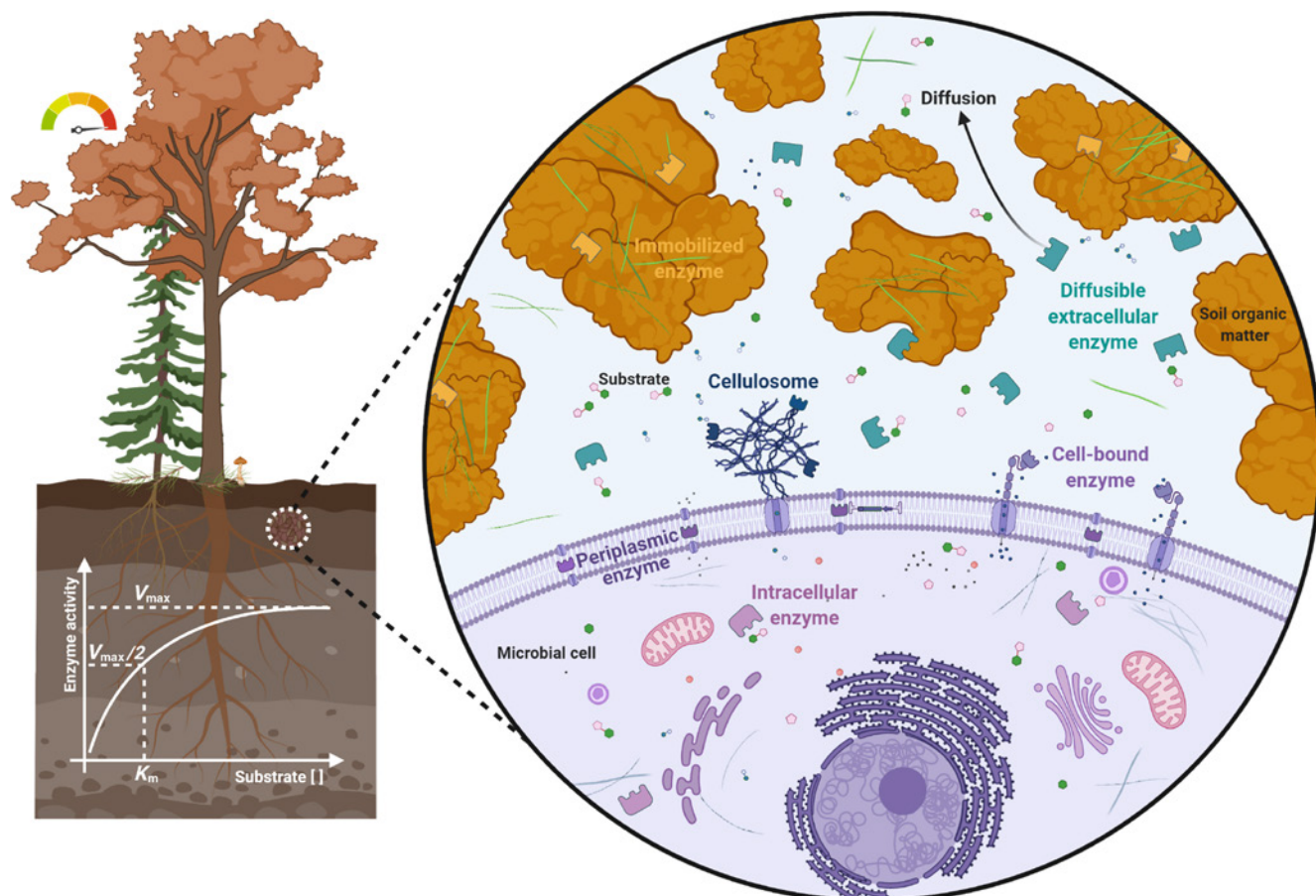


Рис. 4. Формы нахождения ферментов в почвенных системах по N. Fanin, M. Mooshammer, etc. [21]

перемещение ионов или молекул через мембраны или их разделение внутри мембран. Таким образом, в 2018 году был выделен 7 класс ферментов (ЕС 7). Таким образом, на сегодняшний день номенклатурный список ферментов включает семь классов.

1) Оксидоредуктазы. Катализируют окислительно-восстановительные реакции (перенос электронов). Примеры: каталаза, пероксидазы, дегидрогеназы.

2) Трансферазы. Катализируют перенос химических групп с одной молекулы субстрата на другую. Примеры: трансаминазы, киназы (переносят фосфатную группу с АТФ — аденозинтрифосфат — вещество, поставляющее энергию для большинства биохимических реакций, происходящих в клетке, так как расщепление этой молекулы ведет к большому выделению энергии).

3) Гидролазы. Катализируют гидролиз химических связей, т. е. добавления к ним молекулы воды или наоборот, ускоряя реакции гидролитического распада. Примеры: амилаза (гидролизует крахмал), протеазы (гидролизуют белки), в том числе пепсин, трипсин, лизоцим.

4) Лиазы. Катализируют разрыв химических связей без гидролиза с образованием двойной связи в одном из продуктов, а также обратные реакции. Например, декарбоксилазы, альдолазы.

5) Изомеразы. Катализируют структурные или геометрические изменения в молекуле субстрата (делают изомеры). Пример: топоизомеразы, рацемазы, мутазы.

6) Лигазы (синтетазы). Катализируют образование химических связей за счёт реакций, сопряжённых с гидролизом АТФ. Пример: лигаза.

7) Транслоказы. Катализируют перемещение субстрата с одной стороны мембраны (например, клетки) на другую.

Таким образом, ферменты (энзимы) — это биологические катализаторы белковой природы, ускоряющие процесс метаболизма в клетке. Эффективность ферментов намного выше, чем небиологических катализаторов (скорость протекания реакции при участии фермента выше на несколько порядков). Наиболее хорошо изучены ферменты классов оксидоредуктаз и гидролаз, для них в основном и разработаны методы определения.

Источники ферментов в грунтовых системах

В грунт ферменты поступают с прижизненными выделениями растений и животных, а также после их отмирания. Они представляют собой совокупность

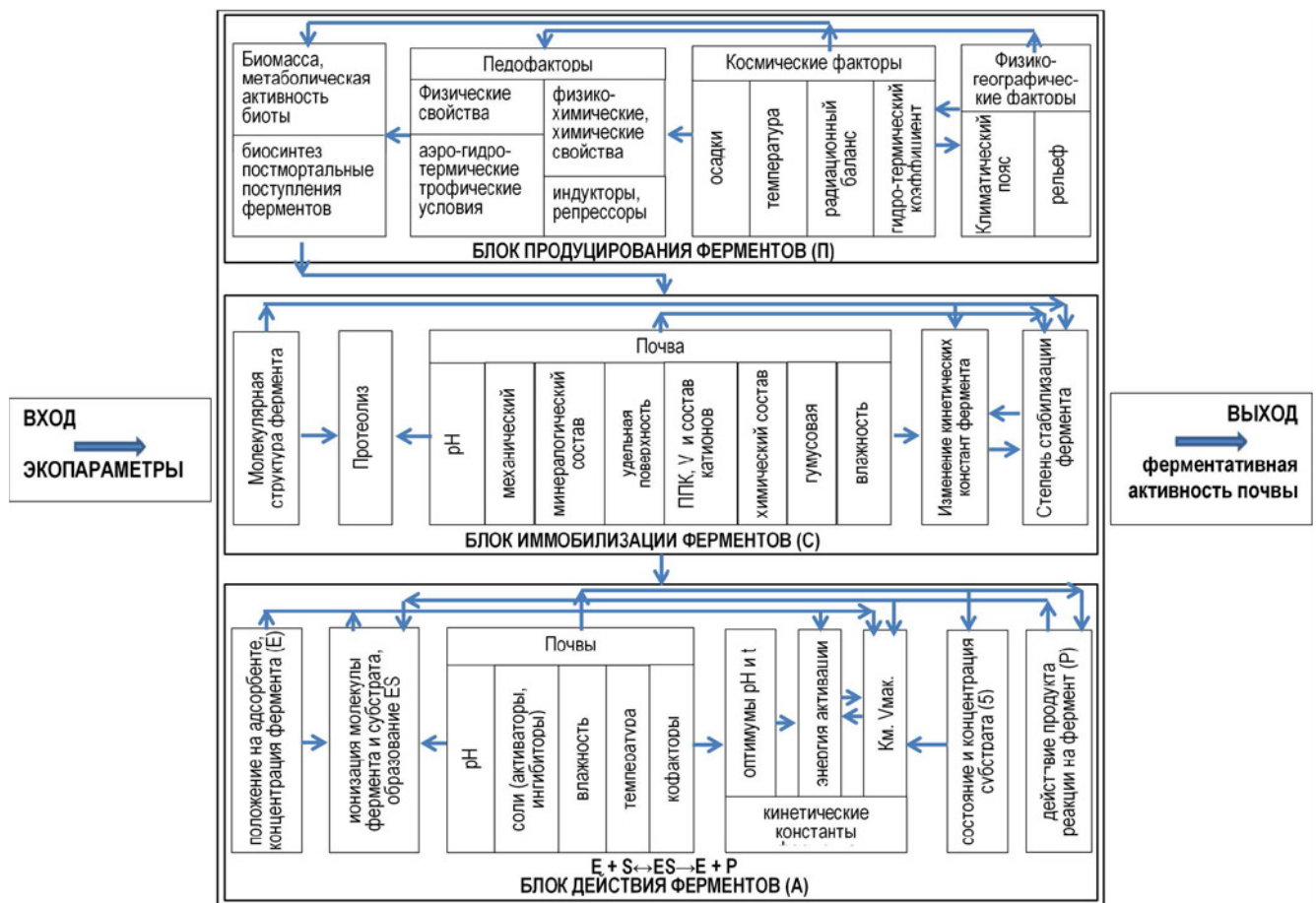


Рис. 5 Концептуальная модель формирования ферментативной активности почвы по Хазиеву Ф. Х. [15]

различных внутриклеточных и внеклеточных ферментативных компонентов, вырабатываемых микробными организмами (бактериями, грибами) или получаемых из животных и растительных источников (корни растений, лизированные растительные остатки, пищеварительные тракты мелких животных и т. д.). Так, например, как показано на рисунке 4, в почвенных системах принято выделять три основные категории ферментов: внутриклеточные, внеклеточные и ферменты, иммобилизованные (сорбированные) на поверхности почвенных частиц

Согласно концептуальной модели, предложенной Ф. Х. Хазиевым [15], ферменты в почве не синтезируются, а поступают из живых организмов. Согласно системно-экологическому принципу анализа ферментативной активности, предложенному этим же автором (рис. 5), создание ферментного потенциала почвы (пула) и его динамика представляет собой единство процессов поступления ферментов, их стабилизации (иммобилизации) на твердых частицах и действия (активности).

Безусловно, что по аналогии с почвенной системой все биохимические преобразования, происходящие в дисперсных грунтах, также зависят от присутствия энзимов. Все ферменты, встречающиеся

и функционирующие в живых клетках (микробных, растительных и животных), находящихся в дисперсных грунтах, относятся к первой категории (внутриклеточные) и рассматриваются как единое целое микробного, растительного и животного метаболизма. Ферменты, вырабатываемые живыми клетками, но секретируемые наружу, принято считать внеклеточными [15, 27]. Они могут проявлять свою активность, все еще связанную или ассоциированную с их производящей клеткой или на расстоянии от родительской клетки, будучи свободными в жидкой фазе. Внеклеточные ферменты, в свою очередь, можно разделить на большое количество категорий (рис. 6), которые не имеют определенной границы, будучи взаимосвязанными друг с другом и, возможно, трансформирующимися друг в друга. В большинстве случаев деградация макромолекул, содержащих ферменты, происходит на границе раздела «клетка-грунтовый раствор».

Следует заметить, что многие ферменты не используют в клетке всей своей каталитической силы, тогда как в растворе (*in vitro*) они могут проявлять огромную каталитическую активность [15]. Подобное обстоятельство связано с тем, что условия в клетке не всегда могут быть благоприятными

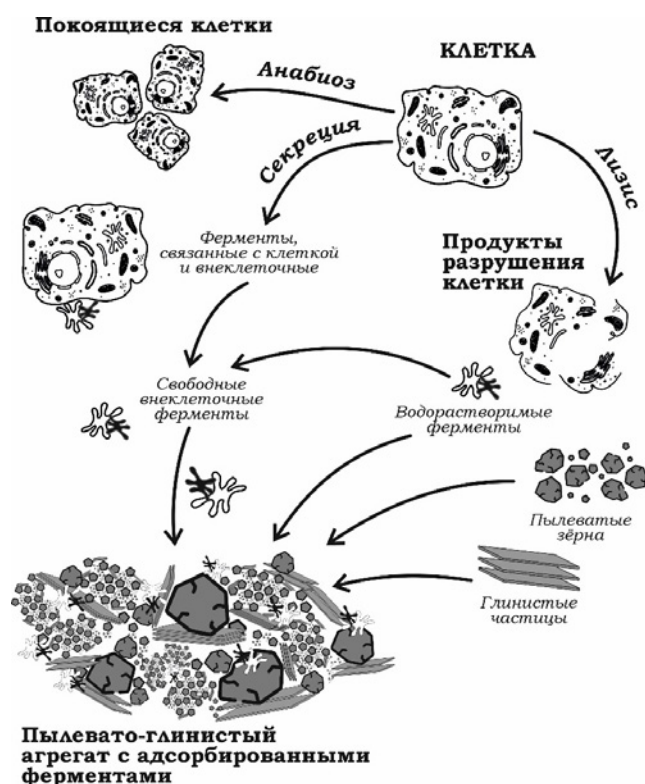


Рис. 6. Схема поступления ферментов в грунтовую систему [на основе 13, 15, 17, 27]

для максимальной скорости действия ферментных систем. Физиологический же смысл сохранения ферментами некоторого «запаса мощности» состоит в возможности повышения скорости того или иного биохимического процесса, если в этом возникает временная необходимость, например, вследствие изменения условий и показателей внешней среды. Так в клетке, как известно [11–14, 20], существуют агенты, регулирующие активность ферментов и создающие возможность приспособительных изменений метаболизма.

Часть внеклеточных ферментов подвергается протеолизу⁴, другая часть связывается через различные механизмы (адсорбция, химические связи: ковалентные, водородные и др.) с минеральными и органическими компонентами грунта и формирует *иммобилизованный ферментный пул* [15]. Общий ферментный пул грунта состоит из сложного комплекса источников по локализации, составу и состоянию. В грунтовом агрегате миллиарды ферментов, которые распределены в грунтовой системе неравномерно, их пространственная изменчивость в разрезе и локализация в структурных фракциях грунта различной природы и разного размера будут

соответственно влиять на их активность и производительность.

Благодаря фиксации (иммобилизации) преимущественно илистой и пылевой фракций грунтов, а также их органического вещества, ферменты в верхних горизонтах литосферы значительное время сохраняют свою активность. Следует заметить, что именно на этом распространенном в природе свойстве ферментных систем основаны методы модификации поверхности кремнезема и иных минеральных носителей для создания эффективных сорбентов, способных селективно извлекать из сложных растворов нужные компоненты за счёт действия «привитых» на минеральной поверхности молекул ферментов [15]. В этих случаях искусственно проводят иммобилизацию ферментов на минеральных носителях (преимущественно кремнеземе), при этом получая эффект, например, повышения их термической устойчивости после закрепления на поверхности.

Деятельность ферментов, находящихся в грунтовой системе, играет основополагающую роль в проявлении химических и ряда физико-химических свойств. Именно ферменты опосредуют многочисленные химические реакции между компонентами грунта, в том числе обеспечивая круговорот химических элементов, трансформацию и минерализацию органических веществ, разложение и деградацию потенциально опасных загрязняющих веществ, тем самым способствуя восстановлению и рекультивации нарушенных территорий.

Следует признать, что основными источниками как внутри-, так и внеклеточных ферментов в дисперсных грунтах являются микроорганизмы. Именно они обладают огромным разнообразием ферментных систем и большой лабильностью метаболизма [16]. Микроорганизмы способствуют во многом многочисленным преобразованиям сложных веществ, происходящих в грунтовой системе.

Как известно из многочисленных работ отечественных и зарубежных микробиологов [2, 7–9, 8–26], микроорганизмы — наиболее многочисленные обитатели биосферы, занимающие все доступные для жизни уголки планеты. Именно они сформировали биосферную систему Земли, в которой появились и смогли существовать все остальные организмы. По образному выражению А. И. Нетрусова, основную часть своей истории (более $\frac{3}{4}$) биосфера была «бактериосферой», представленной только прокариотами [16]. В геологическом прошлом Земли, в силу распространенности

⁴ Протеолиз — процесс гидролиза белков, катализируемый ферментами протеазами из класса гидролаз. Расщепляют пептидную связь —CO—NH— между аминокислотами в белках, превращают их в полипептиды или одиночные аминокислоты, ускоряя образование новых белков.

мелководных водоемов, преобладали бентосные фототрофные сообщества, в которых доминировали цианобактерии. Бентосные фототрофные сообщества чрезвычайно высокопродуктивны, в них тесно взаимодействуют аэробно-анаэробные продукционные и деструкционные микробные процессы. Следует четко представлять, что среда обитания микроорганизмов в литосфере представляет собой не тонкую поверхностную пленку, а слой толщиной в несколько километров! При этом «автономные микробные системы литосферы не зависят от солнечной энергии, в качестве ресурсов используют глубинные газы (H_2 , CO_2 , CO , CH_4), а также некоторые соединения серы (S^0 , SO_3^{2-} , $S_2O_3^{2-}$) и запасы органического углерода. На сегодняшний день пространственно-временные характеристики глубинных микробных экосистем практически не изучены» [16, с. 93].

Способность к быстрой адаптации позволяет микроорганизмам приспосабливать свои ферментные системы к утилизации широкого спектра соединений антропогенной природы. На чем и основаны получившие широкое распространение методы рекультивации нарушенных территорий. Помимо биodeградации, которая в настоящее время широко применяется при биоремедиации территорий, возможна и биокоррозия материалов. Достаточно подробно данные аспекты освещены в трудах исследователей в области грунтоведения [4, 5].

Методы определения и показатели ферментативной активности

На сегодняшний день ферментативная активность является одним из показателей, позволяющим оценить степень проявления биотических свойств грунтовой системы [5] и представляет собой совокупность процессов, катализируемых внеклеточными и внутриклеточными ферментами. Наиболее функциональной характеристикой ферментативной активности грунтов является скорость, с которой ферменты катализируют ту или иную реакцию. Она представляет собой скорость превращения субстрата или скорость накопления продуктов реакции [15].

Рассматривая существующие на сегодняшний день методы определения ферментативной активности, следует отметить, что они подразделяются на две основные категории [18, 27]. Одну условно принято называть полевыми (или *in situ*), которые фактически представляют собой методы исследования на грунтах ненарушенного сложения. Вторая категория — это лабораторные методы (или *in vitro*), предполагающие разрушение исходной структуры грунта. К сожалению, в настоящее время оценка ферментативной

активности проводится только в отношении почвенных горизонтов. Аналогичные исследования дисперсных грунтов, залегающих гипсометрически ниже, по сути, единичны. При этом в большинстве опубликованных на сегодняшний день работ описаны исследования, которые проводятся при полном разрушении исходного сложения дисперсной системы.

Анализ работ, опубликованных за последние десятилетия, позволил М. А. Рао [27] обобщить методологические аспекты, которые следует учитывать при оценке ферментативной активности. С изменениями и уточнениями авторов эти сведения приведены в таблице 1.

Другим важным и сложным аспектом энзимологии является определение расположения или распределения ферментов в структуре грунта, т. е. пространственной изменчивости в разрезе и локализации в структурных фракциях грунта различной природы и разного размера.

Наиболее достоверным методом оценки ферментативной активности в дисперсных грунтах является их прямая визуализация в ненарушенных образцах, т. е. измерения *in situ* (подразумеваемые как измерения на месте). Попытки сделать это были предприняты Дж. Лэддом и др. [26] с использованием электронно-микроскопических наблюдений за почвенными срезами после их обработки соединениями, которые позволили локализовать ферменты в структуре грунта. Гистохимическое окрашивание также считается чувствительным и приемлемым методом оценки ферментативной активности [20]. Оно основано на реакции молекул ферментов с субстратами, дающими продукты, легко визуализируемые в виде окрашенных соединений. Однако эти методы не нашли широкого применения для оценки ферментативной активности. И в первую очередь это обусловлено иммобилизацией ферментов на частицах грунта, а также возникновением возможных искажений со стороны минералов и органических веществ, которые являются в данной ситуации электронно-плотными. Более того, в условиях *in situ* скорости диффузии применяемых реагентов могут снижать скорость, с которой ферменты и субстрат способны взаимодействовать друг с другом [28].

Наиболее перспективным в этой связи для анализа распределения активности ферментов в грунте является опыт применения энзимографии [24]. С помощью тонких гелей с внедренными субстратами С. Донг и др. удалось количественно определить активность протеазы и амилазы в ризосфере люпина (*Lupinus polyphyllus*) [20]. Авторы пришли к выводу, что поскольку энзимография не требует разрушения структуры грунта, то этот метод более точно, чем стандартные лабораторные анализы,

Таблица 1. Методы определения ферментативной активности дисперсных грунтов, их преимущества и ограничения [по данным 18, 27 с уточнениями авторов]

Применяемые методы оценки ферментативной активности	Измерения без нарушения строения грунта (<i>in situ</i>):		
	гистохимические методы электронная микроскопия энзимография*		
	Измерения с нарушением строения грунта (<i>in vitro</i>):		
	на грунтовых суспензиях на грунтовых вытяжках		
Возникающие неопределенности при отборе и подготовке образцов для анализа	Подготовка образцов:		
	отбор стерилизация		
	Хранение образцов:		
	воздушно-сухие или влажные охлажденные лабораторные температурные условия		
Условия анализа	Определение образования продукта или исчезновения субстрата при определенных условиях реакции:		
	насыщающие концентрации субстрата оптимальный pH оптимальная температура перемешивание		
Различия между условиями анализа <i>in vitro</i> и <i>in situ</i>		Анализы с нарушением строения (<i>in vitro</i>)	Анализы без нарушения строения (<i>in situ</i>)
	Субстрат	избыток гомогенный растворимый искусственный	предельный гетерогенный нерастворимый природный
	Буфер	присутствует	отсутствует
	Температура	оптимальная	варьирует
	Флора и фауна	отсутствует	присутствует
	Встряхивание	часто	неподвижно (стационарно)
	Воспроизводимость	высокая	низкая
Методические ограничения при определении ферментативной активности грунта	Вклад неорганических катализаторов в исследуемую реакцию		
	Возможный рост микроорганизмов и синтез ферментов (<i>de novo</i>) во время анализа		
	Стабильность продукта реакции в реакционной смеси		
	Влияние обработки грунта на анализ активности		
	Вклад различных категорий ферментов грунтовой системы		

* Энзимография (либо «зимография») — любая методика визуализации каталитической активности разных классов ферментов по исчезновению субстрата или появлению окрашенного продукта реакции.

отображает активность ферментов, По мнению этих исследователей, энзимография является многообещающим методом для картирования распределения активности ферментов в грунтовых системах, эффективным как с точки зрения простоты определения, так и затрат на его выполнение.

Не рассматривая подробно условия отбора проб грунта (время отбора, количество образцов, их горизонтальное и вертикальное распределение, процедуру отбора проб и применяемые устройства), следует отметить, что проба должна быть репрезентативной для естественного состояния изучаемых грунтов и должна учитывать временную и пространственную динамику биотических свойств [24]. Вполне очевидно, что активность ферментов может демонстрировать временные и пространственные изменения. В таком случае отбор проб и вся система опробования должна по возможности отражать состояние грунтовой системы в соответствии с поставленными задачами.

Большинство анализов, описанных в литературе, обычно проводились в лабораторных условиях. Грунт отбирался слоем 0–10, реже 20 см. До сих пор нет единого мнения о том, что предпочтительнее использовать при определении ферментативной активности грунтовые суспензии или вытяжки, хранить образцы до начала анализа в холодильной или морозильной камере либо сушить на воздухе при комнатной температуре, так как все манипуляции, происходящие при отборе проб, их подготовке, обработке и хранении образцов могут нарушить условия, изменив факторы, связанные с величиной активности фермента (например, активность микроорганизмов, статус фермента, иммобилизованный или свободный, доступность субстрата и т. д.). В этой ситуации важно определить и описать, как образцы были отобраны, обработаны и хранились до определения активности фермента [7–9, 22, 27]. Это позволит максимально воспроизвести процедуру и сравнить с другими результатами, приведенными в литературе.

В отношении условий хранения образцов, основываясь на литературных данных и опыте экспериментальных исследований авторов данной статьи, следует признать, что кратковременное хранение (максимум 10–15 дней или меньше) грунтов с естественной влажностью при температуре +4°C предпочтительнее по сравнению с другими вариантами хранения, которые могут повлиять на величину измеряемой ферментативной активности. При этом способ хранения очень часто зависит от физико-химических характеристик самих грунтов, от особенностей исследуемых территорий и типа анализируемого фермента. Исследование грунтовых суспензий обычно предпочтительнее грунтовых вытяжек. Условия анализа, перечисленные в таблице 1, например, наличие или отсутствие буфера, pH, субстраты и их концентрация, температура, встряхивание проб, ингибиторы микробной пролиферации⁵ и т. д., заметно влияют на измеряемую активность. Избежать многих неопределенностей в существующих методиках удастся за счёт того, что концентрация субстрата намного больше, чем концентрация фермента, которой в этом случае пропорциональна скорость реакции.

Высказывается мнение о том, что многие из неопределенностей, связанных с измерениями активности ферментов в грунтовых системах, можно преодолеть с помощью передовых и современных методологий, таких как геномные и транскриптомные инструменты, а также протеомные методы. Так, например, Л. Джаггоне и др. [23] продемонстрировали в модельных экспериментах, что высокое содержание монтмориллонита сильно влияет на реакцию микробных протеомных исследований. Однако эти молекулярные методы могут не дать желаемого результата при оценке неизвестных ферментов или ферментативного потенциала жизнеспособных, но некультивируемых клеток. Метагеномные подходы постоянно совершенствуются, они могут стать мощным инструментом для оценки ферментативного потенциала некультивируемых микроорганизмов, помочь распознать и выделить новые ферменты. Однако следует признать, что эти подходы и методы пока не получили сколько-либо значимого распространения в лабораторной практике грунтоведения.

Виды и значения ферментативной активности, характерные для дисперсных грунтов

Как уже было отмечено ранее, в литературе приведено довольно мало сведений о ферментативной активности грунтов, залегающих ниже почвенного

горизонта как такового. Для почв же в настоящее время разработаны методики для исследования более чем 60 ферментов [15]. Анализ опубликованных данных, полученных преимущественно по почвенному горизонту, показал, что, несмотря на разнообразие ферментного пула и обилие имеющихся методик, более половины всех исследований как в России, так и за рубежом проводятся в отношении трех ферментов: уреазы, фосфатазы и дегидрогеназы (рис. 7). Первые две относятся к классу гидролаз, дегидрогеназа — оксидоредуктаз. Соответственно, специфика гидролаз заключается в ускорении реакции гидролитического распада, оксидоредуктаз — в ускорении окислительно-восстановительных реакций.

Очевидно, что на активность ферментов в грунтовых системах могут влиять многочисленные факторы как естественного, так и антропогенного характера. При этом может происходить обратимое или необратимое воздействие на каталитически активный центр фермента, а также изменение конформации⁶ белка. Можно с уверенностью говорить о том, что химико-минеральный и гранулометрический состав оказывают заметное влияние на распределение различных групп ферментов и их активность в грунтовой системе. Так, карбогидразы содержатся в основном в более грубых фракциях, тогда как фосфатаза и лейцин-аминопептидаза преобладают во фракциях глинистого размера. Более того, ассоциации с различными по размеру частицами грунта, влияющие на сродство к субстрату каждого фермента, выражены в гораздо большей степени, нежели реакция величин ферментативной активности на искусственные приемы управления подобными системами. Подобные зависимости были получены в экспериментах Л. Джанфреда и П. Руджера на примере внесения азотных удобрений [24].

Исследования С. Крамера и др. [25] показали, что гидролитические ферменты в большей степени присущи и связаны в дисперсных грунтах с органическим веществом, тогда как окислительные ферменты в основном преобладают в минеральных фракциях. Более того, связь между микробной численностью и доступностью субстрата убедительно доказана только для гидролитических ферментов.

Полученные на основе анализа литературных сведений статистически обобщенные значения величин ферментативной активности для основных типов дисперсных грунтов приведены в таблице 2. Примечательно, что от ферментов, действующих

⁵ Пролiferация — разрастания ткани путем размножения клеток делением.

⁶ Конформация белка — пространственное расположение (всей целиком или отдельных участков) полипептидной цепи, способной изменять свое положение в пространстве без разрыва ковалентного скелета благодаря свободному вращению вокруг углерод-углеродных связей.

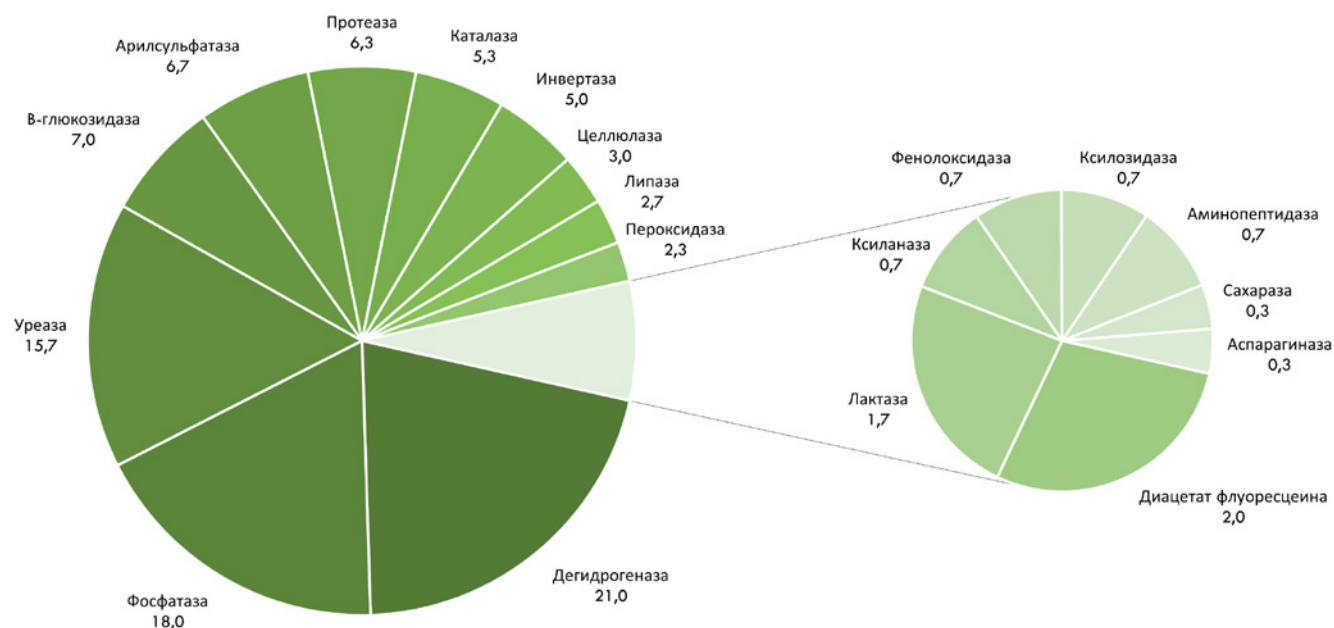


Рис. 7. Процентное распределение различных ферментов, проанализированных в исследованиях, проведенных по дисперсным грунтам (преимущественно по почвенному горизонту), оценивающих влияние различного вида загрязнения (тяжелыми металлами, стойкими органическими загрязнителями, углеводородами нефти и нефтепродуктов) и опубликованных за последние десятилетия [на основе данных 18, 24, 7]

в холодных областях, можно было бы ожидать особой температурной чувствительности, а также низких уровней активности. Однако экспериментальными исследованиями М. Д. Валленштейн и др. [29] величин сезонных колебаний и температурной чувствительности гидролитических ферментов при температурах +4 и +20 °C в разные сроки отбора проб дисперсных грунтов арктической тундры и донных осадков озера Тулик на Аляске показано, что наибольшая активность ацетилглюкозаминидазы, глюкозидазы и пептидазы наблюдалась в конце зимы. Подобные результаты позволяют предположить, что ферменты вырабатываются и в мерзлых грунтах. Это еще раз подтверждает то, что внеклеточные ферменты в дисперсных грунтах адаптированы к сезонным колебаниям температуры.

В целом же микробная активность дисперсных грунтов может способствовать круговороту веществ со скоростью, аналогичной скорости в почвенном горизонте. Это было подтверждено изменениями в кинетике фосфатазы и основных биофильных химических элементов, измеренными на глубинах 0, 20, 50, 80, 110 и 140 см в двух типах разрезов [27].

При воздействии на грунтовые системы различного рода загрязняющих веществ первоначальное снижение активности дегидрогеназы, по-видимому, является одним из наиболее распространенных наблюдаемых эффектов. Оно отражает летальное воздействие большинства соединений на грунтовую микробиоту. Изменения этой активности в ответ

на загрязнитель в значительной степени зависят от характеристик соединения, типа грунта и условий эксперимента. Уреаза обычно является наиболее чувствительным из гидролитических ферментов. Активность уреазы обычно снижается в меньшей степени, чем дегидрогеназы, что указывает на то, что большая часть уреазы в грунтах стабилизирована на частицах коллоидного размера и что в этих случаях фермент подвергается меньшей деградации, чем микробиота. Однако некоторые соединения могут дезактивировать стабилизированные ферменты либо путем инактивации активного центра, либо другими механизмами.

Выявление более устойчивых связей и закономерностей, раскрытие механизма работы ферментов в дисперсных грунтах возможно лишь по мере накопления большего объема сведений о ферментативной активности дисперсных грунтов.

Задачи, стоящие при оценке ферментативной активности дисперсных грунтов

В настоящее время в научном сообществе исследователей-естествоиспытателей активно обсуждается возможность разработки показателей, позволяющих оценить так называемое «здоровье» (health) либо качество различных природных сред: окружающей среды в целом, почвы, экосистем и т. д. [20, 22, 27]. При этом наиболее точную оценку «здоровья» или качества (используются как синонимы) природных систем возможно сделать только на основе

Таблица 2. Показатели ферментативной активности дисперсных грунтов, полученные на основе анализа и обобщения литературных данных

Литологический тип грунта	Место отбора	Глубина отбора, м	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г грунта за 24 ч (*за 40 ч)	Каталаза, см ³ O ₂ на 1 г грунта за 1 мин (*за 20 мин)	Уреаза, мг NH ₃ на 1 г (*на 10 г) грунта за сутки	Фосфатаза, мг P ₂ O ₅ на 1 г (*на 100 г) грунта за сутки
Песок крупный	о. Хасуэлл, оазис Бангера (Восточная Антарктида) [25]	0,50–1,00 0,75	0,49–2,30 1,40	0,70–1,00 0,85	-	-
Песок средний	Архипелаг Хайджамп (Восточная Антарктида) [11], г. Полесск [18]	0,20–1,00 0,60	1,10–8,24 4,67	1,15	0,16–5,90 3,03	-
Песок мелкий	г. Минск, г. Кибрай, Узбекистан [3]	0,30–1,00 0,65	1,80–2,40 2,10	0,25–0,56 0,41	0,15–8,10 3,63	-
Песок пылеватый	Брестская обл., г. Омск [6]	0,25–0,5 0,38	5,40–16,20 10,80	1,02–1,71 1,37	0,95–1,21 1,08	-
Супесь песчаная	Гызыларбат (Туркменистан), Минск, Брестская обл., о. Хасуэлл (Восточная Антарктида) [30], г. Омск [11]	0,25–1,20 0,73	2,71–15,60 9,16	0,40–3,70 1,62	0,98–5,29 3,13	-
Суглинок с супесью	Брестская обл [19], г. Биробиджан [30], Томская обл. [11]	0,20–2,50 1,35	1,80–8,20 5,00	1,00–7,30 4,15	2,0–4,2* 3,1	0,5–1,3* 0,9
Суглинок легкий	арх. Хайджамп, о. Хасуэлл, оазис Бангера (Восточная Антарктида), Гызыларбат (Туркменистан), г. Минск [11, 23, 24]	0,48–2,10 0,86	0,13–4,50 3,13	0,30–1,90 1,34	-	-
	Ульяновская обл. [21]	0,40–1,00 0,70	9,90–11,90* 10,90	1,12–1,24* 1,18	-	0,33–0,56 0,45
Суглинок средний	г. Минск [8, 16], Северный Китай [25]	0,20–0,60 0,40	-	0,12–0,32 0,22	0,18–1,70 0,94	0,53–0,69 0,61
Суглинок тяжелый	Чанчжоу, Китай [17], Лексингтон, США [11, 17]	0,20–0,50 0,35	2,10–14,10 8,10	-	0,18–2,75 1,36	1,11–3,45 2,28
Суглинок тяжелый мергелистый	Брестская обл. [9]	0,40–0,70 0,55	3,10–3,80 3,50	0,20–0,20 0,20	-	-
Глина легкая	Витебская обл. [11]	0,50–8,75 6,00	0,00–1,60 0,59	1,00–11,60 4,74	0,42	0,51
Торф	Минская обл. [8]	0,40–0,40 0,40	83,5–100,00 90,00	2,50–6,80 4,35	-	-

Примечание: * обозначены величины ферментативной активности, определенные за иной временной промежуток, либо с использованием альтернативной массы навески грунта

комплексного подхода и учета ряда химических, физических и биотических показателей свойств этих систем. Всеми исследователями однозначно признается, что системный подход, основанный на различных видах индикаторов при оценке «здоровья» (качества) природных сред наиболее предпочтителен, нежели использование только одного вида атрибута. К тому же в динамике химических веществ задействовано несколько ферментов, следовательно, активность одного фермента не может использоваться в качестве ценного индикатора такой динамики [27].

Среди биотических свойств активность ферментов считается хорошим индикатором «качества» дисперсных грунтов и направлений его изменения во времени, вызванного загрязнением органическими и неорганическими веществами, воздействием биопрепаратов при осуществлении биологического этапа рекультивации нарушенных территорий и другими факторами. Действительно, активность ферментов зависит от природных и антропогенных условий [15]. Будучи легко измеряемой, она может стать надежным инструментом для

отслеживания изменений окружающей среды [28]. При этом достоверность измерений ферментативной активности как индикатора изменения качества дисперсных грунтов тесно связана с возможностью сравнения информации из разных лабораторий. Это диктует необходимость разработки нормативных документов по оценке ферментативной активности, учитывающих специфику разных типов дисперсных грунтов, условий их образования и современного положения в разрезе.

Задачи, стоящие при оценке ферментативной активности дисперсных грунтов по большей части связаны с унификацией применяемых методик оценки и разработки новых, которые бы учитывали особенности дисперсных грунтов как объектов энзимологии. При этом современные и стандартные методы почвенной энзимологии обычно дают ограниченную информацию о реальной активности ферментов. Анализы, проводимые в лабораторных условиях, измеряют только потенциальную, а не реальную активность, не давая никакой информации об активности *in situ* или о взаимосвязи между двумя этими типами активности. Более того,

они зачастую учитывают вклад стабилизированных ферментов, которые не могут быть активными в условиях *in situ*. Ферменты обычно измеряются косвенно, путем определения их активности в лаборатории с использованием биохимических анализов, которые, следовательно, не отражают истинные уровни активности *in situ*. К сожалению, эти анализы также не дают информации ни о производстве ферментов или их продуцирующих организмах, ни об их скорости оборота или их значении [27].

Субстраты, используемые в лабораторных анализах, представляют собой простые растворимые соединения, тогда как субстраты ферментативной активности в грунте обычно представляют собой более крупные сложные нерастворимые полимеры, которые разлагаются на более простые мономерные продукты.

Анализы в лабораторных условиях обычно проводятся при фиксированном pH, температуре, влажности грунта и т. д., и, таким образом, они не дают информации о чувствительности ферментативной активности к изменениям этих параметров. Незначительные изменения, происходящие в экспериментальных процедурах, могут привести к ошибкам и повлиять не только на конечные значения измеренной активности, но и на их сравнение с данными, собранными другими исследователями.

Поскольку активность ферментов может зависеть от нескольких факторов, таких как поступление в грунтовые массивы загрязняющих веществ, изменения в растительном покрове, климатических и иных условиях состояния окружающей среды, отражающих изменения эколого-геологических условий территорий, сложенных массивами дисперсных грунтов, существующие методы анализа часто не позволяют делать достоверные выводы о реакции ферментативной активности на эти факторы. Важным недостатком, ограничивающим правильную интерпретацию и использование активности ферментов (и ее изменений как абиотическими, так и биотическими процессами), является отсутствие универсальных, стандартизированных, единообразных и оптимизированных методик ее измерения. В силу этого в настоящий момент пока трудно использовать абсолютные значения активности ферментов в качестве мощного инструмента для понимания биотических свойств и процессов, происходящих в грунте.

Из информации, приведенной в этом разделе, может сложиться впечатление, что ферменты имеют ограниченную ценность в качестве индикаторов экологического состояния. Многие противоречивые результаты, представленные в литературе, трудно объяснить, потому что часто исследователи

не предоставляют подробную информацию об условиях, при которых произошло загрязнение, или об основных характеристиках состава и свойств грунтов. Очень часто исследования, рассматривающие загрязнение, не содержат сведений о контрольных значениях для незагрязненных грунтов. Такое отсутствие данных является серьезным упущением, так как динамика загрязнителей, как признает большинство авторов, будет зависеть от характеристик грунта.

Какой бы числовой индекс ни был предложен, его применимость требует проверки на широком спектре дисперсных грунтов, различающихся по свойствам и геологической истории формирования (генезису).

Опыт экспериментальной оценки ферментативной активности дисперсных грунтов

Для определения ферментативной активности авторами был выбран спектрофотометрический метод, который среди иных лабораторных методов отличается высокой чувствительностью, быстротой определения, малым расходом реактивов и позволяет следить за течением реакции во времени. Он основан на поглощении света в определенных участках спектра соединениями, находящимися в водной вытяжке грунта и являющимися продуктами ферментативной реакции. Активность ферментов рассчитывалась по предварительно построенным калибровочным графикам, отражающим зависимость оптической плотности исследуемой вытяжки от количества единиц фермента.

В большинстве экспериментов анализируемыми ферментами были представители оксидоредуктаз — дегидрогеназа (катализирует превращение трифенилтетразолий хлорида в трифенилформазан в процессе дыхания), пероксидаза (катализирует окисление гидрохинона до хинона за счёт кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода) и представитель гидролаз — уреазы (катализирует гидролиз мочевины) и фосфатаза (катализирует гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты).

В качестве объектов исследования выступали образцы грунтов различных литологических и гранулометрических разностей. География расположения мест отбора образцов грунта, в которых в дальнейшем проводили экспериментальное определение ферментативных активностей достаточно широкая, однако стоит отметить, что основной объем определений проводился на пробах, отобранных в пределах Московской городской агломерации, в связи с лучшей доступностью материала для проведения исследований (табл. 3).

Таблица 3. Показатели ферментативной активности дисперсных грунтов, полученные по результатам экспериментальных исследований

Литологический тип грунта	Место отбора	Стратиграфический индекс	Глубина отбора, м	Фосфатаза, мг PO ₄ на 10 г грунта за сутки			Пероксидаза, мг Хинона на 1 г грунта за 35 мин	Дегидрогеназа				Уреаза, мг NH ₄ на 10 г грунта за сутки	Каталаза, мл 0,1N KMnO ₄ на 1 г грунта за 20 мин
				кислая	щелочная	общая		мг ТФФ* на 10 г грунта за сутки	мг ТФФ* на 1 г грунта за сутки	мг Формазаны на 1 г грунта за сутки			
Песок гравелистый	Москва	aQ ₂ III	6,00	6,80	-	-	10,00	0,11	-	-	0,34	0,24	
Песок средней крупности	Москва, Рязань, Екатеринбург	C ₂ m, K _{1b} , N ₂ , aQ ₂ III, tQIV	<u>0,50–10</u> 2,96	<u>2,15–14,00</u> 6,78	2,78	-	<u>2,50–24</u> 9,47	<u>0,08–0,63</u> 0,37	-	-	<u>0,43–205,00</u> 34,74	0,22	
Песок мелкий	Москва, Сургут	aQ ₂ III	<u>0,50–3,00</u> 1,83	<u>3,00–3,20</u> 3,10	-	-	<u>4,0–5,0</u> 4,5	<u>0,05–1,13</u> 0,41	-	-	<u>0,05–0,88</u> 0,59	<u>0,04–0,16</u> 0,10	
Песок пылеватый	Москва, Московская обл	f, lgIst-dns, tQIV	<u>0,20–7,00</u> 1,58	<u>4,60–334,00</u> 88,83	-	-	<u>8,00–49,00</u> 32,00	<u>0,24–40,00</u> 10,28	-	-	<u>0,46–132,00</u> 50,10	-	
Супесь опесчанная	Краснодарский край	tQIV	<u>0,10–0,10</u> 0,10	<u>17,70–28,90</u> 22,77	<u>9,20–19,98</u> 14,56	-	<u>15,40–31,00</u> 21,39	<u>0,10–1,00</u> 0,40	-	-	<u>28,2–67,00</u> 46,40	-	
Супесь	Москва, Волгоградская обл	tQIV	<u>1,00–1,00</u> 1,00	4,10	-	-	<u>3,02–9,00</u> 6,01	0,09	-	0,42	<u>0,51–0,91</u> 0,71	0,22	
Суглинок легкий	Москва, Краснодар	gIms, f, lgIst-dns, f, lgIdns-Ims	<u>0,80–16,00</u> 9,73	<u>3,70–6,00</u> 4,99	-	-	<u>5,00–31,00</u> 14,00	<u>0,05–0,31</u> 0,09	-	-	<u>0,07–5,4</u> 1,06	<u>0,11–2,10</u> 0,53	
Суглинок тяжелый	Москва, Московская обл	J ₃ tt, tQIV	<u>0,20–21,00</u> 14,07	<u>6,89–259,00</u> 97,60	-	-	<u>45,0–211,00</u> 109,60	<u>0,68–10,00</u> 5,34	-	-	<u>0,18–176,00</u> 60,21	0,82	
Глина легкая	Москва, Владимирская обл	J ₃ tt, J ₃ km	<u>16,2–39,00</u> 29,04	<u>0,51–9,80</u> 5,41	2,13	-	<u>38,60–101,00</u> 66,60	-	-	-	<u>0,83–7,85</u> 3,04	-	
Глина каолиновая	Модельная	-	-	3,81	4,23	-	11,75	-	-	-	-	-	
Глина тяжелая	Москва, Санкт-Петербург, Московская обл	V ₂ , J ₃ ox, J ₃ tt	<u>12,00–84,00</u> 36,50	<u>0,30–27,30</u> 8,40	<u>0,25–2,60</u> 1,40	<u>4,80–7,40</u> 6,10	<u>24,4–171,00</u> 78,30	<u>0,12–0,22</u> 0,17	<u>0,04–0,06</u> 0,05	-	<u>0,04–1,61</u> 0,42	<u>0,05–1,00</u> 0,49	

Примечание: ТФФ — трифенилформазан

Для получения более полной картины характера распределения показателей ферментативной активности по глубине были проведены детальные исследования на образцах грунтов, отобранных в диапазоне глубин от 0,2 м до 84,0 м на примере скважины на юго-западе г. Москвы (рис. 8).

Исходя из полученных данных, можно заключить, что распределение показателей различных ферментативных активностей не имеет однозначной линейной зависимости от глубины залегания. Существуют локальные области, приуроченные к определенным литологическим и гранулометрическим разностям, в которых наблюдается достаточно значимое снижение или увеличение показателей ряда активностей. Причиной подобного явления может служить история геологического развития территории, обстановки, в условиях которых проходило осадконакопление и формирование данных типов грунтов. Помимо нелинейного распределения показателей активностей по разрезу, можно отметить взаимосвязь изменения исследованных показателей между собой. Определенные значения ферментативных активностей, относящихся к одному классу (дегидрогеназа и пероксидаза), имеют схожую закономерность распределения по разрезу, ферменты других классов, отвечающие за иные биокаталитические процессы, также отличаются и характером распределения.

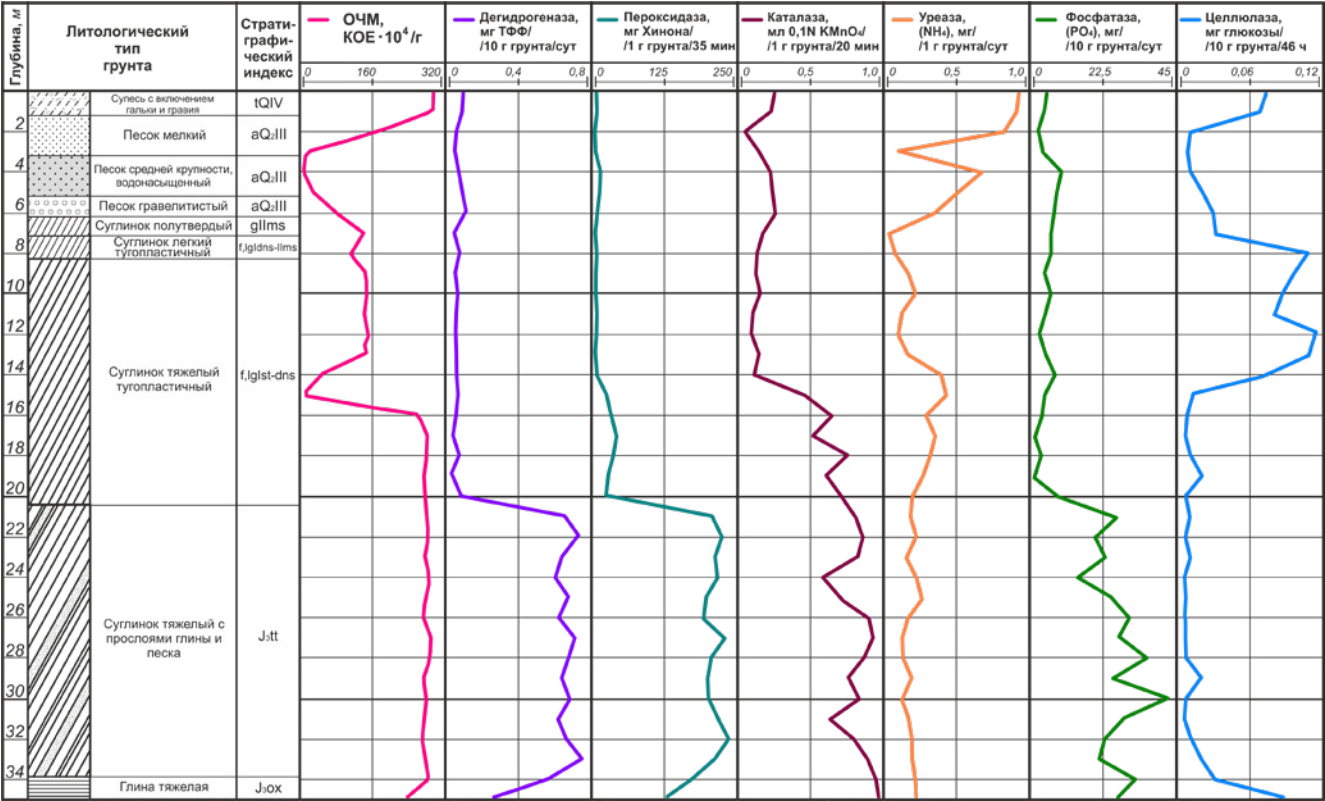


Рис. 8. Изменение общей численности микроорганизмов (ОЧМ) и показателей ферментативной активности для дисперсных грунтов по разрезу скважины на примере юго-западной части территории г. Москвы

Примечательно, что уреазная активность грунтов в поверхностном слое (менее 1,0 м) составила 205 мг [NH₄]/10 г грунта/сут. Однако уже на глубине 1,5 м она снижается до 1 мг [NH₄]/10 г грунта/сут. Для всего профиля грунтового массива до глубины 7,0 м характерны высокие значения фосфатазной активности (5–15 мг PO₄/10 г грунта/сут). На глубине 1,5 м (песок средний) наблюдалось резкое снижение значений рН с 7,2 до 6,4 с одновременным снижением фосфатазной (до 3,3 мг PO₄/10 г грунта/сут) и пероксидазной активностей (с 24 мг Хинона/1 г грунта/35 мин на глубине 0,5 м до 2,7 мг Хинона/1 г почвы/35 мин). При этом на расстоянии 4,0 м от поверхности наблюдается резкий скачок пероксидазной активности до 11 мг Хинона/1 г грунта/35 мин. Эта отметка соответствует залеганию моренного суглинка, послужившего биогеохимическим барьером на рассматриваемой территории. Этот факт подтверждают и результаты исследований общей численности микроорганизмов (ОЧМ), где было выявлено, что их содержание на глубине 4 м резко возрастает (с 3·10⁶ до 12·10⁶ КОЕ).

Исходя из имеющегося арсенала методик оценки ферментативной активности, которые могут быть применены к дисперсным грунтам, и собственного опыта, на сегодняшний день можно рекомендовать к экспериментальным исследованиям на образцах

нарушенного сложения проведение оценок активности ферментов из класса гидролаз — фосфатазы и уреазы, оксидоредуктаз — пероксидазы и дегидрогеназы.

Накопление экспериментальных данных позволит выявить характерные ферментные пулы для разных типов дисперсных грунтов, как об этом было справедливо отмечено в одном из учебников «Грунтоведения» [4]. На основе выявленных пулов возможна дальнейшая разработка показателей качества («здоровья») территорий, сложенных массивами дисперсных грунтов.

Заключение

Следует признать, что характеристика биотических свойств дисперсных грунтов и их экологических особенностей возможна только в случае учета ферментативной активности, отражающей направленность биохимических процессов, происходящих в грунтах. Ферментативная активность является перспективным показателем не только для оценки состояния почвенно-растительного слоя, но и для горных пород верхней части разреза, представленных, в первую очередь, дисперсными грунтами.

На сегодняшний день отсутствие в теории грунтоведения сведений о структуре, роли, механизмах работы, типах ферментов в различных дисперсных

грунтах не позволяет в полной мере решать экологически значимые вопросы. Уровень решения экологических задач в отношении грунтовых систем без учета этих сведений можно сравнить с попыткой объяснения физико-химических свойств дисперсных грунтов без знаний кристаллохимических особенностей глинистых минералов. На взгляд авторов, вполне очевидно, что, например, ионно-обменные свойства грунтов во многом будут определяться присущим им ферментным пулом. Анализ оценки ферментативной активности может и должен занять свое место в лабораторной практике грунтоведения. Накопление фактологических данных для различных по составу и свойствам грунтов и со многими субстратами позволит получить значительную повторяемость в разных лабораториях и с грунтами, различными по химико-минеральному составу, микробиологическим характеристикам, химическим и физическим свойствам. Есть основание полагать, что активность ферментов в последующем может быть использована как индикатор экологического состояния массивов дисперсных грунтов различных видов.

Дальнейшие исследования и накопление опытных экспериментальных данных позволит установить характерные виды и величины ферментативной активности для различных типов грунтов и в дальнейшем рекомендовать к рассмотрению возможность включения показателя ферментативной активности в систему инженерно-экологических изысканий в строительстве.

Совершенствование новых методических подходов, таких как методы *in situ* энзимографии,

а также новые инновационные подходы, основанные на молекулярной биологии, позволят преодолеть многие методические сложности при оценке биотических свойств грунтов.

Биотические свойства грунтовых систем отражают интенсивность воздействия на них техногенных факторов и играют ключевую роль при решении прикладных задач грунтоведения, связанных с рекультивацией нарушенных территорий. Ферментативная активность имеет первостепенное значение для оценки функции микроорганизмов в дисперсных грунтах, круговорота веществ и разложения ряда загрязнителей. И это позволит более полно решать многие вопросы, стоящие при решении геоэкологических и эколого-геологических задач.

Публикацией данной статьи авторы выражают особую признательность и благодарность уже, к сожалению, ушедшему от нас настоящему энтузиасту науки, инициатору создания «Охотинского общества грунтоведов», основателю журнала «Грунтоведение» доктору геолого-минералогических наук Дмитрию Юрьевичу Здобину за внимание к работам творческого коллектива по исследованию ферментативной активности дисперсных грунтов. Его поддержка и признание актуальности обсуждаемой темы придавала сил и вселяла уверенность в необходимость расширения подобных исследований. На многие вопросы Дмитрия Юрьевича авторы постарались ответить в настоящей статье.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М. В. Ломоносова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусова Е. Н., Белоусов А. А. Динамика активности ферментов углеродного цикла в условиях перехода на минимальные технологии обработки. //Вестник Красноярского государственного аграрного университета. — 2024. — № 5 (206). — С. 19–26. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-5-19-26.
2. Биссвангер Х. Практическая энзимология. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. — 328 с.
3. Вилкова В. В., Казеев К. Ш., Привизенцева Д. А., Нижельский М. С., Колесников С. И. Изменение активности ферментов постпирогенных почв заповедника «Утриш» (Россия) на ранних стадиях сукцессии // Nature Conservation Research. Заповедная наука. — 2023. — № 3. — С. 10–23.
4. Грунтоведение / под редакцией академика Е. М. Сергеева. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 392 с.
5. Грунтоведение / В. Т. Трофимов, В. А. Королёв, Е. А. Вознесенский, Г. А. Голодковская, Ю. К. Васильчук, Р. С. Зиангиров. 6-е изд. — М.: Изд-во МГУ, 2005. — 1024 с.
6. Евстегнеева Н. А., Колесников С. И., Минникова Т. В., Тимошенко А. Н., Цепина Н. И., Казеев К. Ш. Влияние загрязнения таллием на активность ферментов циклов углерода, азота и фосфора в почвах разной буферности //Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. — 2023. — № 4 (220). — С. 156–163. DOI: 10.18522/1026-2237-2023-4-156-163.
7. Зайцева Н. В., Землянова М. А., Долгих О. В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современные инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды //Гигиена и санитария. — 2020. — Т. 99 — № 1. — С. 6–12.
8. Ковалева Е. И., Трофимов С. Я., Шоба С. А. Функционирование почв в условиях нефтяного загрязнения в таежной зоне Западной Сибири //Вестник

- Московского университета. Серия 17: Почвоведение. — 2024. — № 4. — С. 214–227. DOI: 10.55959/MSU0137-0944-17-2024-79-4-214-227.
9. Козлов С. Н. Перспективы применения зимографических методов для изучения гидролитических ферментов микроорганизмов / С. Н. Козлов, Е. Ю. Марков, В. Б. Николаев [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. — 2023. — № 12 (138). — URL: <https://research-journal.org/archive/12-138-2023-december/10.23670/IRJ.2023.138.194> (дата обращения: 14.10.2024). — DOI: 10.23670/IRJ.2023.138.194.
 10. Колесников С. И. Методологические аспекты биодиагностики: принципы отбора биологических систем для нормирования качества среды и интегральные оценки // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: материалы IV международного симпозиума (Москва, 28–31 августа 2023 г.). Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. — Москва: Научная библиотека МГУ, 2023. — С. 127–132.
 11. Купревич В. Ф., Щербакова Т. А. Почвенная энзимология. — Минск: Издательство «Наука и техника», 1966. — 275 с.
 12. Рыжова И. М., Романенков В. А., Степаненко В. М. Современное развитие моделей динамики органического вещества почв (обзор) // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. — 2024. — № 4. — С. 122–129. DOI:10.55959/MSU0137-0944-17-2024-79-4-122-129.
 13. Степанов А. В., Манучарова Н. А., Никитин Д. А., Семенов М. В. Достижения и перспективы развития почвенной микробиологии в московском университете // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. — 2023. — № 4. — С. 63–69. DOI:10.55959/MSU0137-0944-17-2023-78-4-63-69.
 14. Терехова В. А. Здоровье почв: интегральные индикаторы абиотического и биотического состояния // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: материалы IV международного симпозиума (Москва, 28–31 августа 2023 г.). Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. — Москва: Научная библиотека МГУ, 2023. — С. 237–241.
 15. Хазиев Ф. Х. Экологические связи ферментативной активности почв. // Экобиотех. Том 1. — 2018. — № 2. — С. 80–92.
 16. Экология микроорганизмов: учебник для бакалавров / А. И. Нетрусов, Е. А. Бонч-Осмоловская, В. М. Горленко [и др.]; под общ. ред. А. И. Нетрусова. 2-е изд. — М.: Издательство Юрайт, 2017. — 268 с.
 17. Aduña F., Geshere A., Fan Y., Chunyan L., Qian Z., Xiaoli C. Soil enzyme activity and stoichiometry in secondary grasslands along a climatic gradient of subtropical China. — Science of The Total Environment, 2022. — Volume 825. DOI: [org/10.1016/j.scitotenv.2022.154019](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154019).
 18. Bello-Currás D., Trasar-Cepeda C., Gil-Sotres F. Enzymes and environmental contaminants significant to agricultural sciences. — OMICS G. Inc. V., 2014. — P. 1–155.
 19. Bradford M. A., Wood S. A., Addicott E. T., Fenichel E. P., Fields N., González-Rivero J., Jevon F. V., Maynard D. S., Oldfield E. E., Polussa A., Ward E. B. & Wieder W. R. Quantifying microbial control of soil organic matter dynamics at macrosystem scales. — Biogeochemistry, 2021. — P. 1–22. DOI: 10.1007/s10533-021-00789-5.
 20. Dong S., Brooks D., Jones M. D., Grayston S. J. A method for linking in situ activities of hydrolytic enzymes to associated organisms in forest soils. // Soil Biol Biochem — 2007. — No 39. — P. 2414–2419.
 21. Fanin N., Mooshammer M., Sauvadet M., Meng C., Alvare G., Bernard L., Bertrand I., Blagodatskaya E., Bon L., Fontaine S., Niu S., Lashermes G., Maxwell T. L., Weintraub M. N., Wingate L., Moorhead D. & Nottingham A. T. Soil enzymes in response to climate warming: Mechanisms and feedbacks // Functional Ecology — 2022. — No 36. — P. 1378–1395. DOI:10.1111/1365-2435.14027.
 22. Fatichi S., Manzoni S., O. D. & Paschalis A. A mechanistic model of microbially mediated soil biogeochemical processes: A reality check // Global Biogeochemical Cycles. — 2019. — No 33. — P. 620–648. DOI:10.1029/2018GB006077.
 23. Giagnoni L., Migliaccio A., Nannipieri P., Renella G. (2013) High montmorillonite content may affect soil microbial proteomic analysis. Appl Soil Ecol 72: P. 203–206.
 24. Gianfreda L., Ruggiero P. (2006) Enzyme activities in soil. In: Nannipieri P., Smalla K. (Ed.). Nucleic acids and proteins in soil. Series Soil biology. Springer-Verlag — Berlin, Germany 8 — P. 257–311.
 25. Kramer S., Marhan S., Haslwimmer H., Ruess L., Kandeler E. (2013) Temporal variation in surface and subsoil abundance and function of the soil microbial community in an arable soil // Soil Biol Biochem 61 — P. 76–85.
 26. Ladd J. N., Forster R. C., Nannipieri P., Oades J. M. (1996) Soil structure and biological activity. In: Stotzky G., Bollag, J.-M. (Eds.). Soil biochemistry. Marcel Dekker, New York, 9 — P. 23–78.
 27. Maria A Rao., Scelza R., Gianfreda L. Soil Enzymology, In G. Shukla & A. Varma (Eds.). Springer Berlin. 1. — XVI. — P. 384 P. DOI: doi.org/10.1007/978-3-642-14225-3 (2011).
 28. Steinweg J. M., Dukes J. S., Wallenstein M. D. (2012) Modeling the effects of temperature and moisture on soil enzyme activity: Linking laboratory assays to continuous field data. // Soil Biol Biochem 55 — P. 85–92.
 29. Wallenstein M. D., McMahon S. K., Schimel J. P. (2009) Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. // Glob Change Biol 15 — P. 1631–1639.
 30. Yao, T., Zhang, W., Gulaqa, A. et al. Effects of Peanut Shell Biochar on Soil Nutrients, Soil Enzyme Activity, and Rice Yield in Heavily Saline-Sodic Paddy Field. // J Soil Sci Plant Nutr 21 — P. 655–664 (2021). DOI: [org/10.1007/s42729-020-00390-z](https://doi.org/10.1007/s42729-020-00390-z).