

ОТЧЕТ
по проекту РФФИ № 17-06-00412
«Выявление и идентификация органических материалов в
погребальном обряде культур степной зоны России на основе методов
почвенной микробиологии и энзимологии»

Целью фундаментального исследования является расширение представлений о материальной культуре и погребальном обряде населения бронзового и раннежелезного веков степной зоны России.

Основные задачи состояли в реконструкции одежды погребенного, устройства погребального ложа и реконструкции содержимого ритуальных сосудов с помощью методов почвенной микробиологии и энзимологии.

Поставленные задачи, связанные с целью Проекта, выполнены полностью. Основные результаты состоят в следующем.

1. Методический блок

Для расширения имеющейся методической базы были выполнены следующие исследования.

1.1. Микробиологический метод определения остатков шерсти в погребениях

Разработан новый метод микробиологического выявления следов шерсти в погребениях. Метод заключается в оценке численности КОЕ кератинофильных грибов на дисках из шерстяной ткани, обезжиренной гексаном и обработанной соляной кислотой. Обработка шерсти соляной кислотой увеличивает доступность этого субстрата для кератинофилов без риска сделать его легкодоступным для широкого спектра гетеротрофных микроорганизмов. Существуют условия, при которых обработка кислотой не приводит к обширному разупорядочиванию белковой структуры кератина. После обработки шерсти соляной кислотой в течение 18 часов при 30°C, гидролизу подвергались только 2,62% пептидных связей от их общего количества в исходном материале. При этом в нем заметно увеличивалось количество групп -SS- и -SH (Crewther, Dowling, 1960).

В данной работе для увеличения усвояемости неизмельченного шерстяного полотна кератинофильными грибами применялась обработка 36% соляной кислотой в течение 1 часа при 25 °С. В качестве контроля, использовалось стерилизованное шерстяное полотно, без предварительной кислотной обработки. Для сравнения микробной усвояемости экспериментальных и контрольных образцов шерстяной ткани, тестировались образцы верхнего слоя современной (серой лесной) почвы, отобранные в местах содержания скота. На шерстяной ткани без обработки соляной кислотой колонии кератинофильных грибов не выявлялись.

Этапы процедуры

Приготовление шерстяных дисков

Полотна 50:70 см 100% шерстяной ткани обрабатывались органическим растворителем – гексаном в течение 1 часа для удаления липидных примесей. После высушивания ткань выдерживали в течение 1 часа в 36% соляной кислоте при 25 °С, многократно промывали до нейтрального pH и автоклавировали. Из полученного материала изготавливали диски диаметром 90 мм, по диаметру чашек Петри. Диски выравнивали утюгом и вторично стерилизовали в сухожаровом шкафу при температуре 160 °С в течение 3 часов. Для оценки действия автоклавирования и сухого жара на усвояемость шерстяного субстрата микроорганизмами, отдельно стерилизовали шерстяную ткань, обезжиренную

гексаном, но без обработки соляной кислотой. Готовые шерстяные диски увлажняли стерилизованной водопроводной водой и помещали в стерильные пластиковые чашки Петри.

Приготовление почвенной суспензии

Для приготовления почвенной суспензии навеску грунта 1 г помещали в стерильную фарфоровую ступку. Из колбы, содержащей 100 мл стерильной водопроводной воды, к почве приливали одну каплю (100 – 200 мкл). Полученную пасту растирали пальцем в стерильной перчатке до полного разрушения структурных агрегатов, затем количественно переносили в колбы со стерильной водопроводной водой. Получали почвенную суспензию II разведения (1 г грунта в 100 мл воды). На подготовленный шерстяной диск, уложенный в чашку Петри, наносили 1 мл полученной суспензии и растирали шпателем. Чашки Петри закрывали и помещали в стерильные пластиковые пакеты с кусочком ваты, смоченным в стерильной воде для поддержания влажности.

Инкубация и счет грибных колоний

Рост кератинофильных грибов на шерстяном субстрате продолжался в течение 4 – 7 дней в термостате при температуре 26°C. После счета грибных колоний на шерстяных дисках, рассчитывали численность кератинофильных грибов на 1 г погребального грунта. Эксперименты проводили в трехкратной повторности. Для статистической обработки данных применяли стандартные методы, а также кластерный анализ и метод главных компонент (программа Statistica).

1.2. Микроскопирование остатков шерсти

В отношении запланированной разработки метода определения остатков шерсти на основе фильтрации почвенно-грунтовых суспензий на мембранных фильтрах, специфического окрашивания и микроскопирования для применения в археологических контекстах получены следующие результаты. Хотя биодеградация шерсти протекает медленнее по сравнению с деградацией целлюлозных материалов (Broda et al., 2016), шерстяные изделия в погребениях практически не сохраняются, распадаясь на отдельные чешуйки, которые не фиксируются современными оптическими микроскопами (Гольева, 1999). В известных публикациях по восстановлению структуры шерстяной ткани с применением микрофото съемки ее фрагментов в ИК- и УФ-диапазоне (Пахунов и др., 2007), оптической поляризационной микроскопии (Орфинская, 2014) и электронной микроскопии шерстяных волокон (Елкина и др., 2017; Марсадилов и др., 2017) в качестве объекта исследования, как правило, выступали фрагменты ткани хорошей сохранности. Однако сохранение шерстяного волокна в условиях погребения – чрезвычайно редкий случай, требующий специфических условий высушивания, засоления или заболачивания (Good, 2001).

Отработку микроскопического метода определения остатков шерсти в погребениях проводили на почве, обогащенной шерстяными нитями в модельном эксперименте №1, заложенном в 2017 году, и образцах самой шерсти. Проводили экстракцию шерстяных остатков и нитей из почвенного матрикса и окрашивание полученной фракции белковыми красителями (кумасси и нингидрин). Используемая нами бинокулярная микроскопия препаратов почвенной суспензии не позволила выявить наличие сохранившихся шерстяных волокон в серой лесной почве спустя 1 год их разложения в модельном эксперименте. Таким образом, предполагаемый подход к выявлению остатков шерсти в почве оказался неперспективным, и основное внимание мы уделили микробиологическому методу выявления следов шерсти в погребальном грунте.

1.3. Модельные эксперименты по разложению органических материалов

Заложенный в 2017 году модельный эксперимент по разложению в почве разных типов органических материалов показал высокую результативность и использовался в

качестве базы для сравнения с почвенно-грунтовыми образцами археологических контекстов. Однако этот вариант модельного эксперимента содержал варианты с однородными животными белками (казеином и желатином) и не позволял различать белковые материалы растительного и животного происхождения. Поэтому в 2019 году был заложен второй модельный эксперимент на каштановой почве с включением вариантов, обогащенных более сложными композитными материалами, содержащими животные белки (баранье мясо и творог) и растительные белки (пшено). Этот эксперимент успешно проходит по настоящий день, и получаемые результаты накапливаются для прояснения вопросов, возникших в течение первого модельного эксперимента.

1.4. Разработка статистической программы

Разработана статистическая программа для реконструкции исходного содержания органических материалов в археологических контекстах на основании данных первого модельного эксперимента. В настоящее время проводится ее верификация на полевом материале.

1.5. Применение новых методов исследования

Новыми методами, которые были включены в исследования 2019 года, были оценка микробной биомассы по содержанию ДНК для сопоставления с данными, полученными фосфолипидным методом, а также определение ферментативной активности липаз и эстераз для реконструкции присутствия жиров в археологических контекстах.

2. Полевые исследования

В течение 2019 года продолжалось пополнение коллекции почвенно-грунтовых образцов из погребальных комплексов, исследуемых археологическими экспедициями ИА РАН, ВолГУ, Музея Востока, ГИМ, МГУ и др. Полученный материал был подготовлен к лабораторным исследованиям, часть материалов была включена в проводимые микробиологические и энзиматические исследования.

3. Результаты исследований

3.1. Разложение органических материалов различной природы в модельных экспериментах

Для реконструкции содержимого ритуальных сосудов в захоронениях различных культур, а также выявления исходного присутствия органических материалов в археологических контекстах были заложены модельные долгосрочные эксперименты, в которых анализировали динамику разложения органических материалов микробными сообществами. Целью экспериментов было исследование процесса разложения органических материалов почвенными микроорганизмами и поиск микробных и энзиматических параметров, информативных для реконструкций различных археологических контекстов.

Описание модельных экспериментов

Эксперимент №1. В первый год выполнения проекта был заложен пилотный лабораторный модельный эксперимент на серой лесной почве при оптимальных и постоянных для микробных сообществ условиях влажности и температуры (60% полной влагоемкости почвы и 25°C). Было поставлено семь экспериментальных вариантов, в которых почву обогащали одним из следующих органических материалов: казеином, желатином, шерстяными нитями (три белковых варианта), подсолнечным маслом и бараньим жиром (два липидных варианта), крахмалом и высушенным сбором разнотравья (два полисахаридных варианта). Восьмым вариантом был контроль – почва без внесения органических материалов. Эксперимент продолжался на протяжении всего срока выполнения проекта.

Состояние микробных сообществ оценивали по их живой биомассе (определением содержания фосфолипидов и ДНК), динамику разложения органических субстратов анализировали измерением дыхательной активности микробных сообществ (Anderson,

Domsch, 1978) и определением потерь органического углерода. Сукцессию микробных сообществ в процессе эксперимента отслеживали по активности нескольких групп ферментов: целлюлозолитический комплекс (углеродный цикл, 10 ферментов: глюкозидаза, галактозидаза, маннозидаза (все альфа и бета ферменты), целлюбиогидролаза, ксилозидаза, глюкуронидаза, хитиназа), азотный (лейцинаминопептидаза), серный (арилсульфатаза) и фосфорный (бис-, пиро-, кислая и щелочная фосфатазы) циклы, а также фермента, разрушающего жиры (нонаноат-эстераза), численности микробных клеток, образующих колонии на селективных средах, а также по изменению функционального (катаболического) разнообразия микробных сообществ. Катаболическое разнообразие микробных сообществ оценивали методом мультисубстратного тестирования (МСТ, Degens, Harris, 1997). В нем дыхательную активность микробных сообществ измеряли в ответ на внесение низкомолекулярных соединений 3х групп, которые служат индукторами дыхательной активности микроорганизмов. Это группы аминокислот (глицина, аланина, аргинина, гистидина, тирозина и цистеина), углеводов (маннозы, арабинозы, сахарозы, фруктозы, мальтозы, глюкозы) и натриевых солей карбоновых кислот (аскорбиновой, лимонной, малеиновой, молочной, уксусной, щавелевой и янтарной). Полученный массив экспериментальных данных был обработан статистически с использованием кластерного анализа и метода главных компонент.

Эксперимент №2. На третьем году выполнения проекта был заложен второй лабораторный модельный эксперимент на каштановой почве, которая чаще всего является фоновой для археологических материалов, исследуемых в лаборатории. Схема эксперимента была сходной с предыдущим экспериментом. Эксперимент включал пять вариантов: каштановую почву обогащали не однородными белками, а более сложными композитными белковыми материалами животной и растительной природы – вареным постным бараньим мясом, обезжиренным коровьим творогом, пшеном (три белковых варианта), бараньим жиром (липидный вариант), пятым вариантом был контроль – без внесения материалов. В течение первого месяца измеряли дыхательную активность микробных сообществ, затем ежемесячно проводили мультисубстратное тестирование дыхательной активности микроорганизмов и измерение содержания органического углерода и азота. К настоящему моменту получен массив данных (8 серий измерений), которые находятся в статистической обработке.

Результаты модельных экспериментов

В ходе модельного эксперимента № 1 было установлено, что белковые материалы были полностью минерализованы микробными сообществами в течение первых двух месяцев, а в вариантах, обогащенных жирами (липидами), активное разложение в эти сроки только началось. Ферментативная активность, соответствующая разлагаемому органическому материалу, как правило, превышала контрольные показатели в 1,5-17 раз.

Для удобства представления результатов, дыхательные отклики на 18 субстратов были сгруппированы как суммы откликов на вещества близких химических свойств: группы углеводов (УВ) аминокислот (АМК) и карбоновых кислот (КК). Отклик на внесение КК был самым высоким для всех вариантов эксперимента и превышал контроль в 1,5-2,7 раз, отклик на внесение УВ был сходным и тесно коррелировал с величиной микробной биомассы. Отклики на внесение аминокислот (АМК) различались в зависимости от варианта эксперимента: суммарные отклики в вариантах с внесением безазотистых материалов (липидных и полисахаридных - жиров, крахмала, растительных остатков) был высоким, а в белковых - низким. Учитывая это, были рассчитаны соотношения микробных откликов на группу КК к таковому на группу АМК как индикатор продуктов разложения субстратов белковой природы. Это соотношение в вариантах с внесением белковых (азотсодержащих материалов) было стабильно выше контроля в 1,5-6 раз, а в вариантах с липидными и полисахаридными материалами существенно ниже контроля и составляли 38-63%.

Таким образом, были выявлены группы соединений-индукторов, на которые реагирует полное микробное сообщество и лишь отдельные его группировки. Устойчивость выявленных откликов прослеживалась на разных сроках эксперимента. Спустя 8, 10, 13 и 19 месяцев от его начала показатели оставались специфичными для вариантов с разложением белков (азотсодержащий материал) и безазотистых материалов (липиды и полисахариды) и различия оставались достоверными.

С целью сокращения количества субстратов в системе МСТ для археологических реконструкций были выбраны 4 субстрата: из гильдии КК – аскорбиновая, молочная и уксусная кислоты, из гильдии АМК – цистеин. Соотношения дыхательных откликов на аскорбиновую кислоту к откликам на уксусную (АУ), молочную (АМ) и цистеин (АЦ) впервые были использованы для индикации материалов белковой и липидной (полисахаридной) природы природы. Показатель АУ был индикаторным в отношении разложения на 8 и 13 месяцы эксперимента, показатель АМ – на 10 месяц, а показатель АЦ был индикаторным на протяжении всех измерений. Результаты МСТ для 9 и 13 месяцев эксперимента представлены на рис. 1. Азотистые (белковые) и безазотистые (липидные и полисахаридные) варианты занимали различные позиции в координатах двух факторов, описывающих 61% (фактор 1) и 20% (фактор 2) дисперсии.

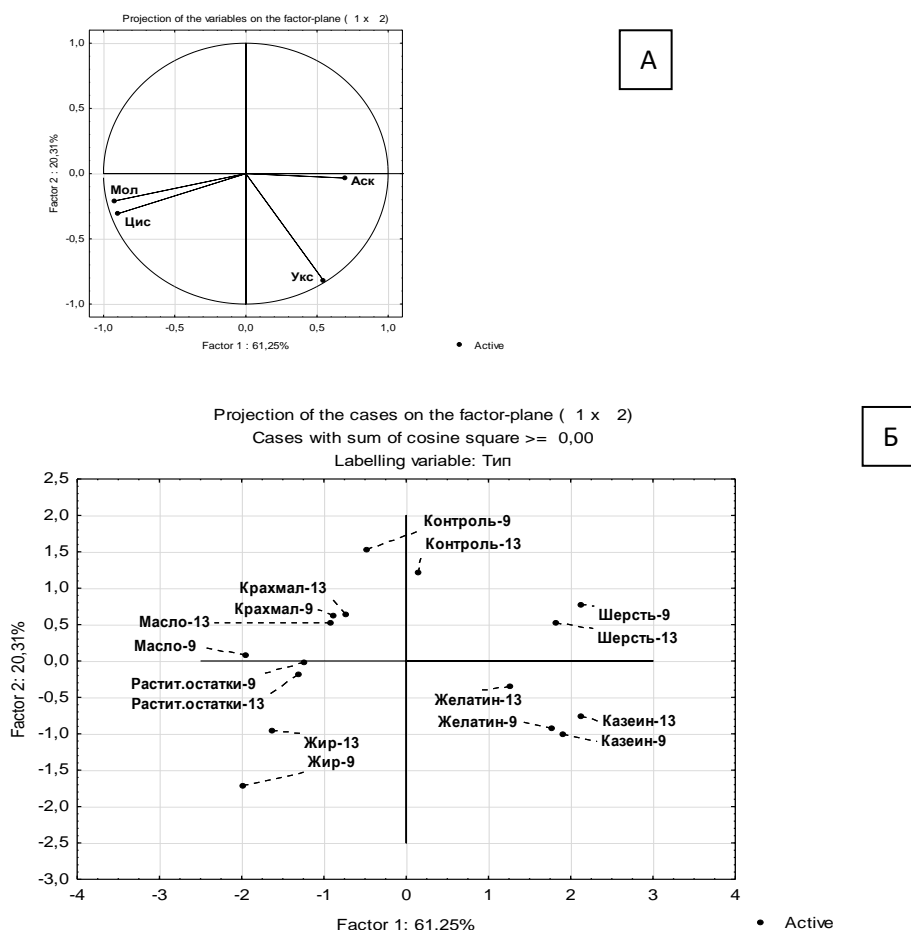


Рисунок 1. Результаты статистической обработки данных мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов в почвах модельного эксперимента №1 методом главных компонент, полученных через 9 и 13 месяцев от его начала: А – наиболее индикаторные низкомолекулярные индукторы, по которым вели анализ: аскорбиновая – Аск, молочная – Мол и уксусная – Укс кислоты и аминокислота цистеин - Цис; Б – распределение вариантов модельного эксперимента в поле главных компонент: ГК1 (factor 1) описывает 61%, ГК 2 (factor 2) – 20% дисперсии; цифры 9 и 13 у

каждого варианта указывают на срок измерения дыхательной активности (месяцы) от начала модельного эксперимента

Анализ результатов энзиматической активности на 13 месяц проведения эксперимента показал, что варианты модельного экспериментов в соответствии с природой внесенных органических материалов группировались в белковый, липидный и полисахаридный кластеры (рис. 2 А).

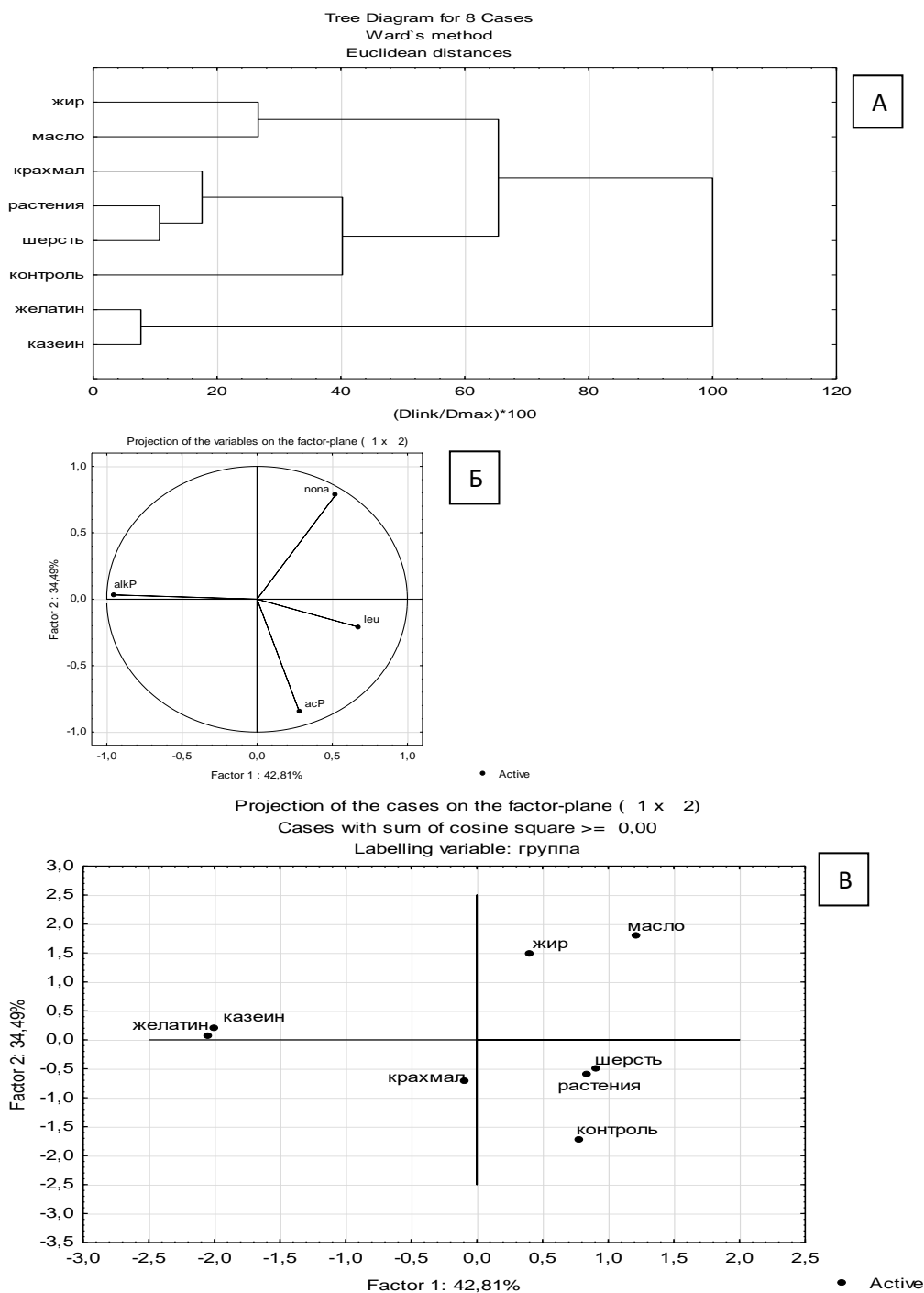
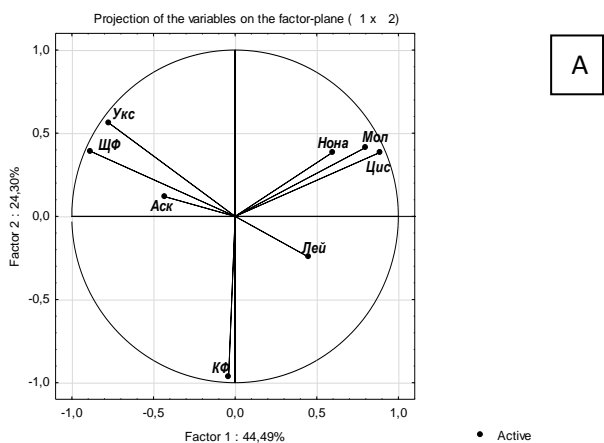


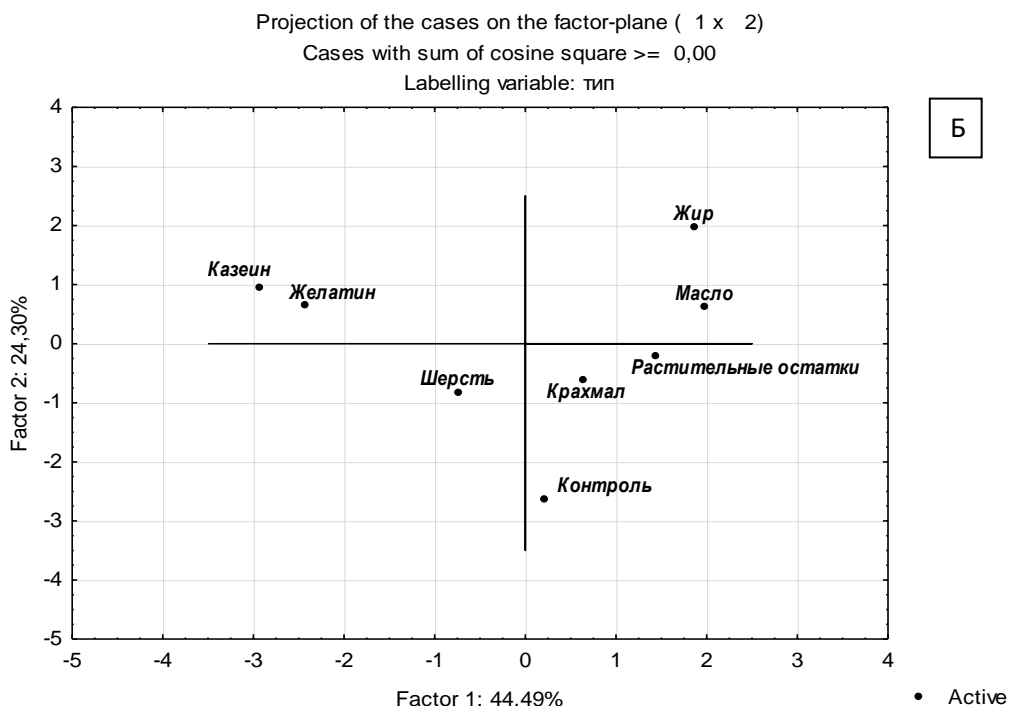
Рисунок 2. Результаты статистической обработки данных ферментативной активности почв модельного эксперимента №1, полученных спустя 13 месяцев от его начала: А – кластерный анализ по активности 17 ферментов; Б – наиболее индикаторные ферменты, по которым вели анализ методом главных компонент: кислая –асР и щелочная –alkР фосфатазы, лейцин-

аминопептидаза – leu, нонаноат-эстераза – nona; В – распределение вариантов модельного эксперимента в поле главных компонент: ГК1 (factor 1) описывает 43%, ГК 2 (factor 2) – 34.5% дисперсии.

Из 17 ферментов различной специфичности выделяется группа ферментов, активность которых резко различается в зависимости от природы внесенного материала. Были выявлены четыре фермента (щелочная и кислая фосфатазы, лейцин-аминопептидаза и нонаноат-эстераза), активность которых по вариантам модельного эксперимента варьировала в наибольшей степени. На рис. 2 (Б, В) приведены результаты статистической обработки данных активности этих ферментов методом главных компонент. В плоскости двух главных факторов, описывающих 43% (фактор 1) и 34% (фактор 2) дисперсии, отчетливо разделились белковые (казеин, желатин) и липидные (бараний жир и растительное масло) варианты, наиболее близки контролю оказались полисахаридные варианты (растения и крахмал), а также шерсть. Совмещение даны ферментативной активности и мультисубстратного тестирования (рис. 3) также удовлетворительно разделяет экспериментальные варианты в плоскости двух факторов, описывающих 45% и 24% дисперсии: наиболее обособлены варианты, обогащенные липидами (бараний жир и подсолнечное масло) и белками (казеином и желатином). Полисахаридные варианты, а также вариант с шерстью располагаются ближе к контролю.



А



Б

Рисунок 3. Результаты статистической обработки совмещенных данных мультисубстратного тестирования дыхательной активности микробных сообществ и ферментативной активности почв на 13 месяц проведения модельного эксперимента №1: А — наиболее индикаторные ферменты и низкомолекулярные индукторы, по которым вели анализ: кислая –КФ и щелочная –ЩФ фосфатазы, лейцин-аминопептидаза – лей, нона-эстераза – нона, Аск – аскорбиновая, Мол – молочная, Укс – уксусная кислоты, Цис – аминокислота цистеин; Б – распределение вариантов модельного эксперимента в поле главных компонент: ГК1 (factor 1) описывает 44%, ГК 2 (factor 2) – 24% дисперсии.

Модельный эксперимент №2 в настоящее время продолжается, и получаемые данные накапливаются для последующей статистической обработки. По предварительным данным можно отметить, что живая микробная биомасса оказалась наибольшей в варианте, обогащенном пшеном (превышала контроль в три раза) как наиболее близким материалом к обычно поступающим в почву растительным продуктам, в остальных вариантах она была выше контрольных значений на 40-70%. В системе мультисубстратного тестирования наиболее высокие дыхательные отклики микробных сообществ в контроле и варианте с пшеном были получены (в порядке снижения отклика) на малеиновую, аскорбиновую и молочную кислоты, в вариантах с мясом и творогом – на малеиновую, янтарную и аскорбиновую кислоты и в варианте с жиром – на аскорбиновую, малеиновую и молочную кислоты.

3.2. Реконструкция исходного содержимого ритуальных сосудов на основании комплекса микробиологических и энзиматических данных и сопоставления их с результатами модельного эксперимента 1.

3.2.1. Реконструкция содержимого ритуальных сосудов из кургана №9 курганного могильника «Спокойный» (XXVI-XXIII, XIX-XVI, VII-IV вв. до н.э., Симферопольский район, Крым).

Выполнено исследование почвенно-грунтовых образцов заполнения серии ритуальных сосудов катакомбной и срубной культур эпохи средней бронзы, а также кизил-кобинской культуры эпохи раннего железа из курганного могильника «Спокойный» (Симферопольский район, Крым). Всего исследовано заполнение восьми сосудов кургана № 9 погребения № 3 (два сосуда №№ 9-3-1 и 9-3-2), погребения № 20 (три сосуда №№ 9-20-1, 9-20-2 и 9-20-3), погребения №16 (№ 9-16), погребения №7 (№ 9-7) и погребения №17 (№ 9-17). Анализировали материал из придонного слоя и на уровне венчика сосудов.

Все придонные образцы заполнения сосудов содержали повышенное количество микробной биомассы (содержание микробной биомассы на дне сосуда превышало таковое у венчика в 3-5 раз). Сопоставление данных мультисубстратного тестирования и ферментативной активности заполнения сосудов с результатами модельного эксперимента впервые позволило провести реконструкцию их исходного содержимого. Мультисубстратное тестирование проводили по четырем наиболее индикаторным субстратам (рис.4 А). По данным этого тестирования (рис. 4 Б) исходное содержимое одного из сосудов (№ 9-20-3) реконструируется как липидное (наиболее вероятно – масло), один из сосудов № 9-3-2 не показал явного содержимого, остальные сосуды содержали материал, который можно характеризовать как композитный материал, причем сосуды №№ 9-3-1, 9-3-2, 9-7 и 9-20-2 попадают в белковую полуплоскость, а №№ 9-16 и 9-20-1 – в липидно-полисахаридную полуплоскость.

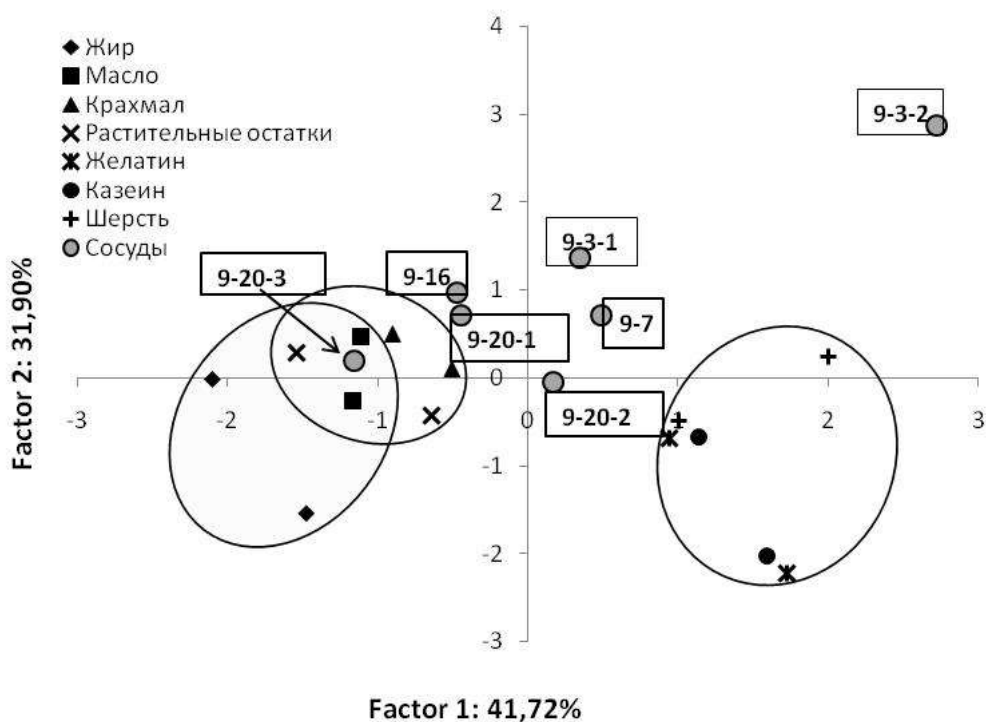
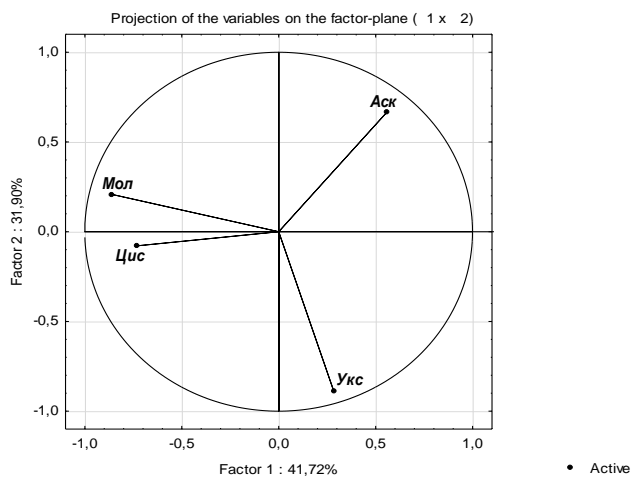
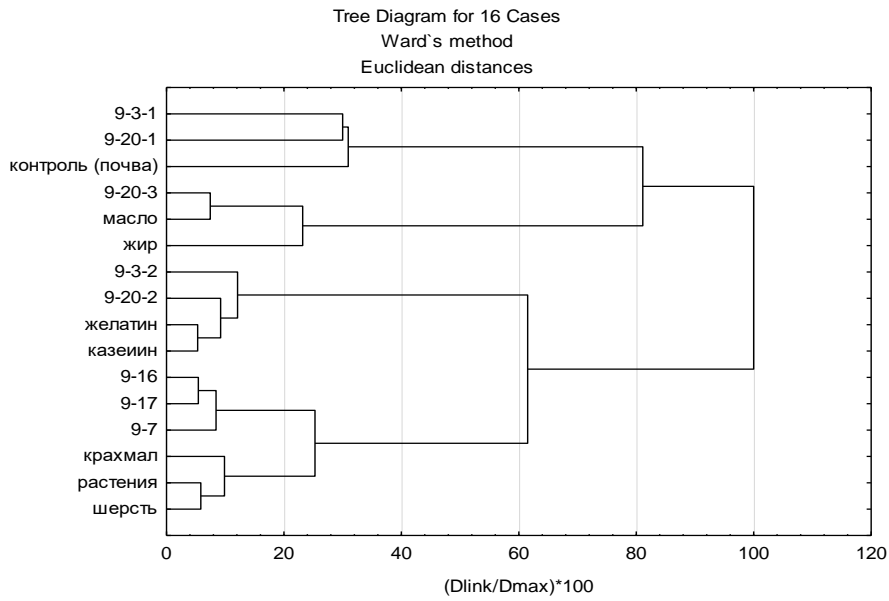
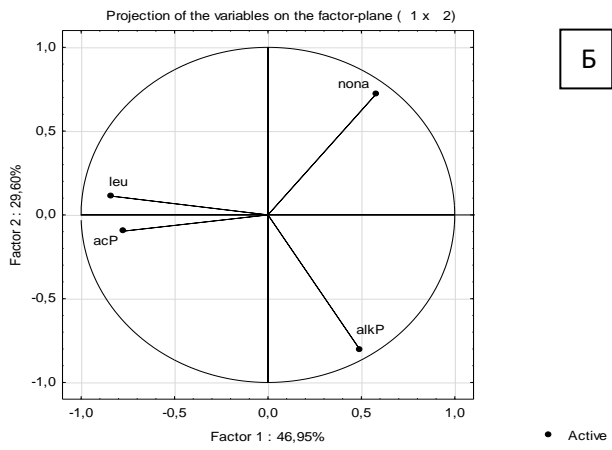


Рисунок 4. Результаты статистической обработки методом главных компонент данных мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов почвенно-грунтового заполнения сосудов курганного могильника «Спокойный» и почв модельного эксперимента №1, измеренные через 9 и 13 месяцев от его начала: А – низкомолекулярные индукторы, по которым вели анализ: аскорбиновая – Аск, молочная – Мол, уксусная – Укс кислоты и аминокислота цистеин – Цис; Б положение сосудов в поле модельного эксперимента: ГК1 (factor 1) описывает 42%, ГК 2 (factor 2) – 32% дисперсии. Овалами обозначены области, в которых расположены данные модельного эксперимента (жиры, крахмал и растительные остатки – левая полуплоскость, белки – правая полуплоскость).

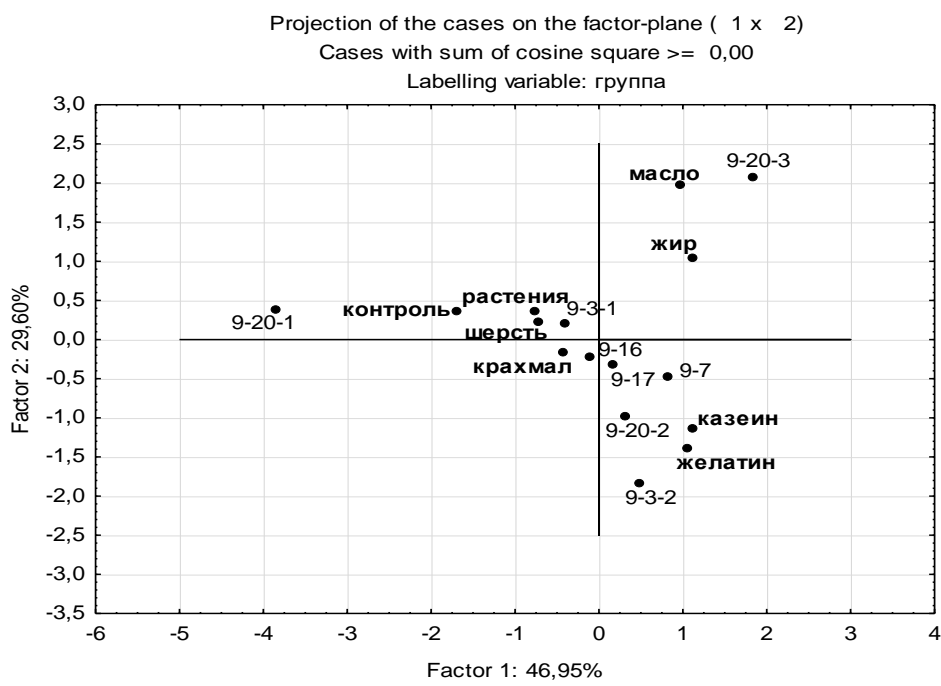
По результатам кластерного анализа активности 17 ферментов (рис. 5 А) содержимое сосуда № 9-20-3 реконструируется как липидное, сосудов №№ 9-20-2 и 9-3-2 – как белковое, сосудов №№ 9-16, 9-17 и 9-7 – как полисахаридное. Заполнение сосудов №№ 9-3-1 и 9-20-1 было близко контрольному варианту модельного эксперимента.



А



Б



В

Рисунок 5. Результаты статистической обработки данных ферментативной активности микроорганизмов почвенно-грунтового заполнения сосудов курганного могильника «Спокойный» и почв модельного эксперимента №1 (13 месяц проведения эксперимента): А

– кластеризация сосудов и вариантов эксперимента, выполненная по данным активности 17 ферментов; Б – ферменты, по которым вели анализ методом главных компонент: кислая – асРи щелочная –alkP фосфатазы, лейцин-аминопептидаза – leu, нона-эстераза – nona; В – распределение вариантов модельного эксперимента в поле главных компонент: ГК1 (factor 1) описывает 47%, ГК 2 (factor 2) – 30% дисперсии

Для уточнения реконструкций был проведен статистический анализ результатов активности четырех наиболее представительных ферментов (щелочная и кислая фосфатазы, нонаноат-эстераза и лейцин-аминопептидаза) методом главных компонент (рис. 5 Б). Результаты этого анализа (рис. 5 В) подтвердили реконструкцию заполнения сосудов № 9-20-3 как липидное, №№ 9-20-2 и 9-3-2 как белковое, № 9-20-1 как малопитательный отвар. Сосуд № 9-3-1 наиболее вероятно содержал растительный отвар, сосуды №№ 9- 16, 9-17 и 9-7– крахмалистое вещество, причем последний – возможно, с примесью белкового материала.

В целом, сопоставляя все полученные данные можно утверждать, что сосуд № 9-20-3 содержал наиболее вероятно, масло, сосуды №№ 9-3-2 и 9-20-2 – белковые продукты (возможно животного происхождения), сосуды №№ 9-16 и 9-17 крахмалистые вещества, № 9-7 крахмалисто-белковый продукт.

3.2.2. Реконструкция исходного содержимого сосудов из погребений курганного могильника «Неткачево-3»(XVI-XV вв. до н.э).

Исследован почвенно-грунтовый материал заполнения 22 ритуальных сосудов из 19 погребений (2 мужских, 2 женских, 13 детских и 1 –подросткового, для двух образцов данных о поле и возрасте погребенных нет) шести кургановмогильника «Неткачево-3» (XVI-XV вв. до н.э). Кластерный анализ данных суммарной ферментативной активности позволил разделить сосуды на четыре группы (рис. 6).

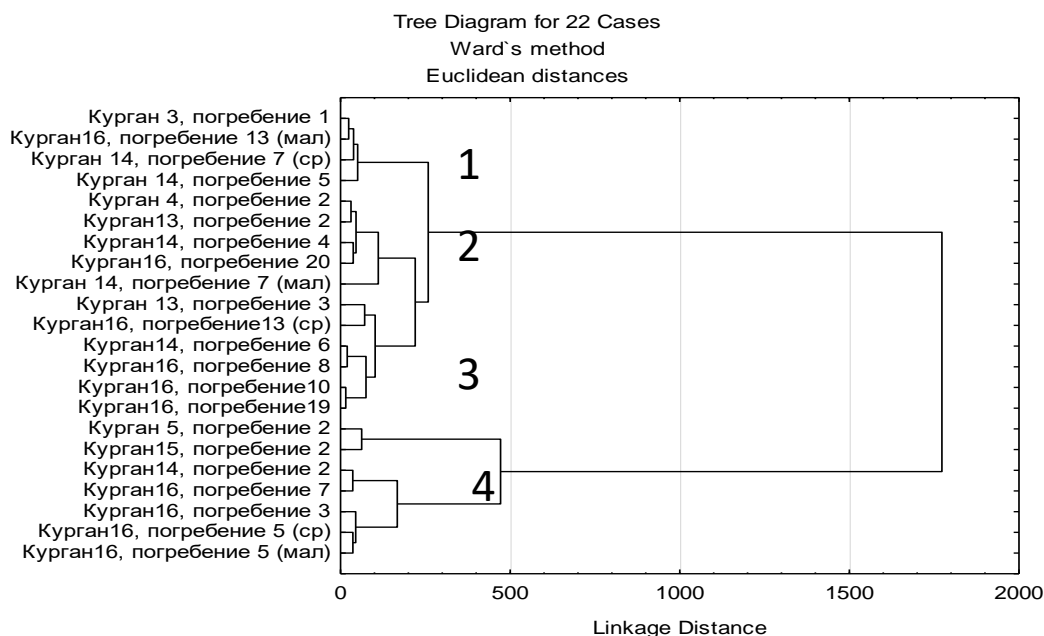


Рисунок 6. Группировка ритуальных сосудов курганного могильника «Неткачево-3» по результатам кластерного анализа активности 10 ферментов в почвенно-грунтовом заполнении

Первые три группы объединялись в большой кластер, характеризовавшийся более низкой ферментативной активностью: активность группы 1 была 77-137 у.е., второй – 108-195 у.е., третьей – 24-82 у.е. В четвертую группу вошли сосуды с наибольшей ферментативной активностью – 360-551 у.е. Можно предполагать, что градации ферментативной активности связаны с питательностью содержимого сосудов. На рис. 7 представлено распределение заполнения сосудов в поле модельного эксперимента №1.

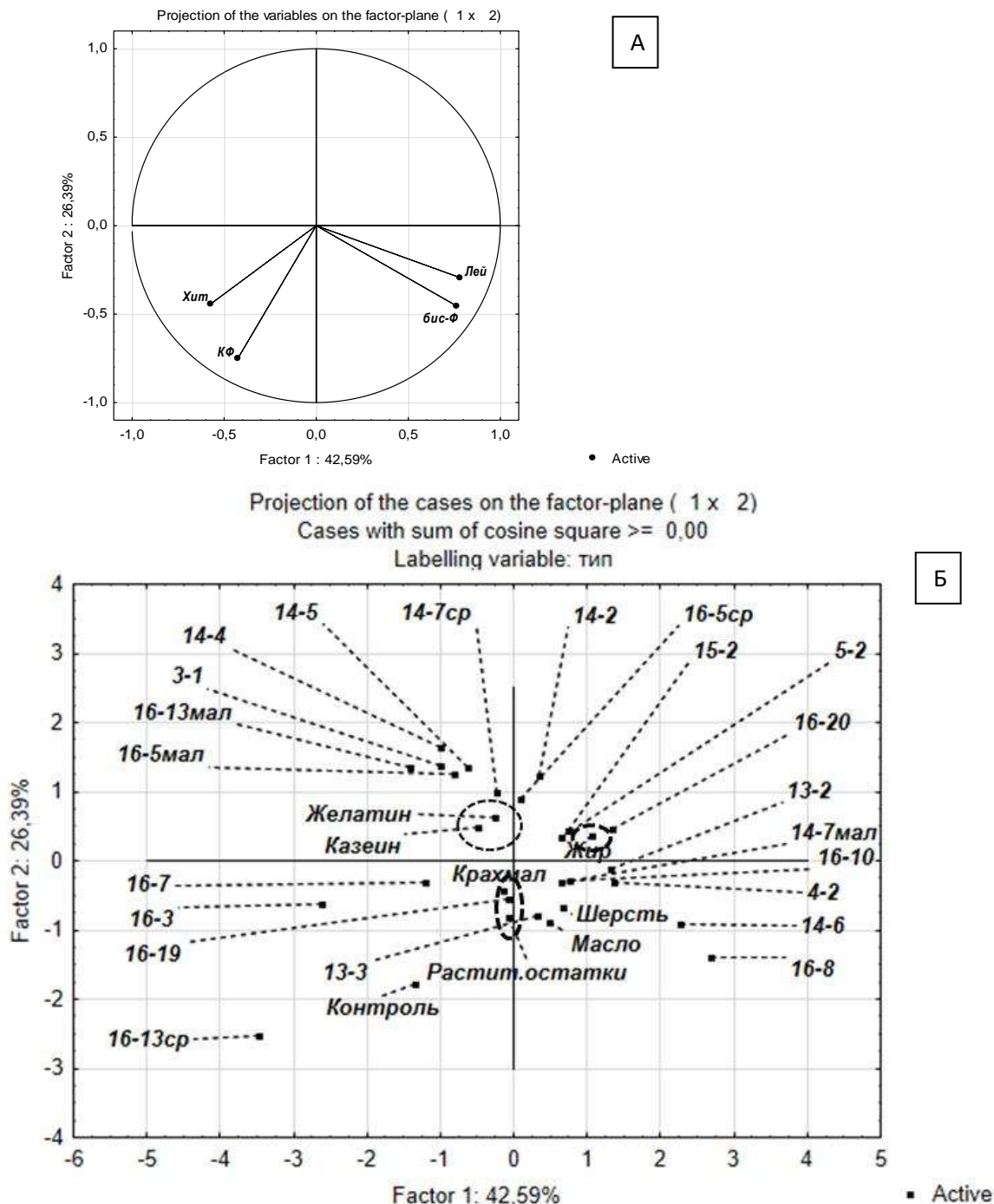


Рисунок 7. Результаты статистической обработки методом главных компонент данных ферментативной активности почвенно-грунтового заполнения сосудов курганного могильника «Неткачево-3» и почв модельного эксперимента №1, измеренные на 13 месяц от его начала: А – ферменты, по которым вели анализ: хитиназа – Хит, лейцин-аминопептидаза - Лей, кислая - КФ и щелочная - ЩФ фосфатазы; Б - положение сосудов в

поле модельного эксперимента: ГК1 (factor 1) описывает 43%, ГК 2 (factor 2) – 26% дисперсии.

Заполнение сосудов из группы 4 с наиболее высокой ферментативной активностью можно реконструировать как жир – эти образцы располагались рядом с жировым вариантом модельного эксперимента (№№ 15-2 и 5-2), как композитное белково-жировое – образцы располагались между жиром и белками (№№ 14-2 и 16-5 средний), белковое (№ 16-5 малый), а также как белково-крахмалистое (№№ 16-7 и 16-3). Заполнение сосудов из группы с наименьшей ферментативной активностью (группа 3) оказалось в нижней полуплоскости крахмала - растительных остатков - масла (№№ 16-19, 13-3, 16-10, 14-6 и 16-8), ближе к контрольному варианту оказалось заполнение сосуда № 16-13 (средний). Заполнение сосудов группы 1 и 2 группировалось в желатино-казеиновом квадранте (№№ 16-13 (малый), 3-1, 14-4, 14-5 и 14-7 (средний)), у жирового варианта группировались сосуды №№ 16-20, 13-2, 16-10 и 4-2. Итоги реконструкции исходного заполнения сосудов курганного могильника на основании анализа энзиматической активности заполнения сосудов приведены в таблице.

Таблица. Суммарная ферментативная активность заполнения сосудов курганного могильника «Неткачево-3» и реконструкция их исходного содержимого на основании сопоставления с данными по ферментативной трансформации органических материалов в модельном эксперименте №1

Положение сосуда	Суммарная ферментативная активность (у.е.)	Реконструкция исходного содержимого
Курган 3, погребение 1	110	Белки
Курган 16, погребение 13 (мал)	103	Белки
Курган 14, погребение 7 (ср)	77	Белки
Курган 14, погребение 5	137	Белки
Курган 4, погребение 2	114	Жир
Курган 13, погребение 2	114	Жир
Курган 14, погребение 4	108	Жир
Курган 16, погребение 20	131	Жир
Курган 14, погребение 7 (мал)	195	Жир
Курган 13, погребение 3	24	Крахмал-растения-масло
Курган 16, погребение 13 (ср)	61	Контроль-растения-крахмал
Курган 14, погребение 6	68	Крахмал-растения-масло
Курган 16, погребение 8	82	Крахмал-растения-масло
Курган 16, погребение 10	63	Крахмал-растения-масло
Курган 16, погребение 19	62	Крахмал-растения-масло
Курган 5, погребение 2	491	Жир
Курган 15, погребение 2	551	Жир
Курган 14, погребение 2	360	Белки - жир
Курган 16, погребение 7	371	Белки-крахмал
Курган 16, погребение 3	284	Белки-крахмал
Курган 16, погребение 5 (ср)	261	Белки-жир
Курган 16, погребение 5 (мал)	293	Белки-жир

3.2.3. Реконструкция исходного содержимого сосуда № 6 погребения № 8 из курганного могильника «Бейсужек-35» (Краснодарский край)

Почвенно-грунтовой материал был отобран из заполнения сосуда № 6 погребения № 8 курганного могильника «Бейсужек-35». Это погребение относится к ямной культуре эпохи ранней бронзы около 3000 л. до н.э. В отличие от остальных образцов, исследованных в лаборатории, этот материал был отобран послойно от его венчика до дна, всего пять слоев. В почвенно-грунтовой материале определяли активность 17 ферментов, живую биомассу микробных сообществ по их дыхательному отклику на внесение глюкозы, функциональное разнообразие микробных сообществ в системе мультисубстратного тестирования дыхательной активности микробных сообществ (МСТ) с использованием индикаторных субстратов (аскорбиновая, молочная, уксусная кислоты и аминокислота цистеин), определяли отношение величин откликов: аскорбиновая кислота/молочная кислота (АМ), аскорбиновая кислота/уксусная кислота (АУ) и аскорбиновая кислота/цистеин (АЦ). Результаты МСТ и распределение живой микробной биомассы в заполнении сосуда показывают, что живая микробная биомасса на дне сосуда в 2.2 раза была больше, а в середине сосуда существенно меньше (38- 43%), чем микробная биомасса у венчика (рис. 8).

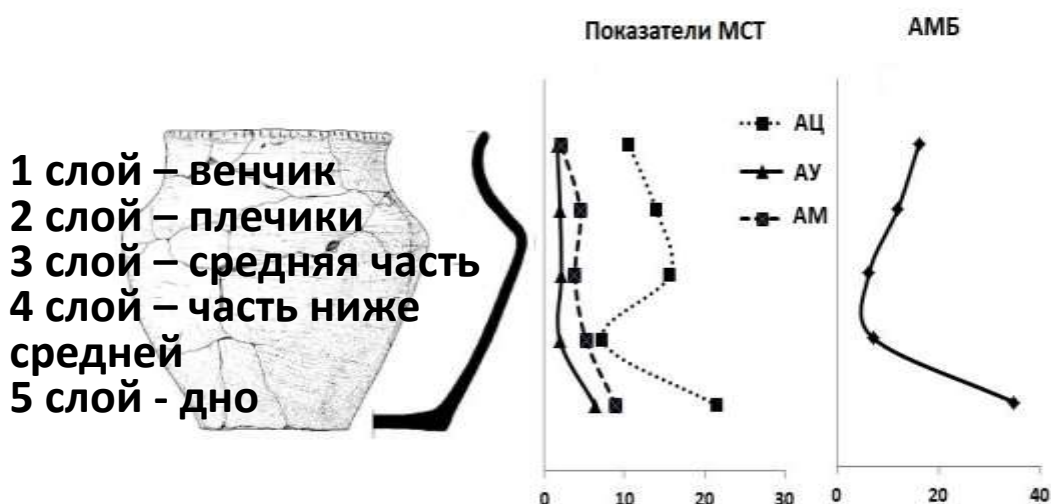


Рисунок 8. Реконструкция исходного содержимого ритуального сосуда из курганного захоронения эпохи бронзы «Бейсужек-35» на основании данных мультисубстратного тестирования дыхательной активности микробных сообществ. Показатели АЦ, АУ и АМ, а также активная микробная биомасса (АМБ) указывают на присутствие материала белковой природы.

Показатели АУ, АМ и АЦ однонаправлено менялись в направлении от венчика ко дну сосуда, увеличиваясь в 4, 4.3 и 2 раза, соответственно. Т.о. можно полагать, что

исходное заполнение сосуда было веществом белковой природы. Статистический анализ ферментативной активности почвенно-грунтового заполнения сосуда и сопоставление с результатами модельного эксперимента №1 показал, что при кластеризации данных активность придонного слоя (рис. 9А, придонный слой обозначен как v5) наиболее близка липидным вариантам. По наиболее индикаторным ферментам, выбранным для анализа главных компонент (кислая –acP и щелочная –alkP фосфатазы, лейцин-аминопептидаза – leu, нонаноат-эстераза – nona, рис. 9Б, В) удалось уточнить положение придонного слоя.

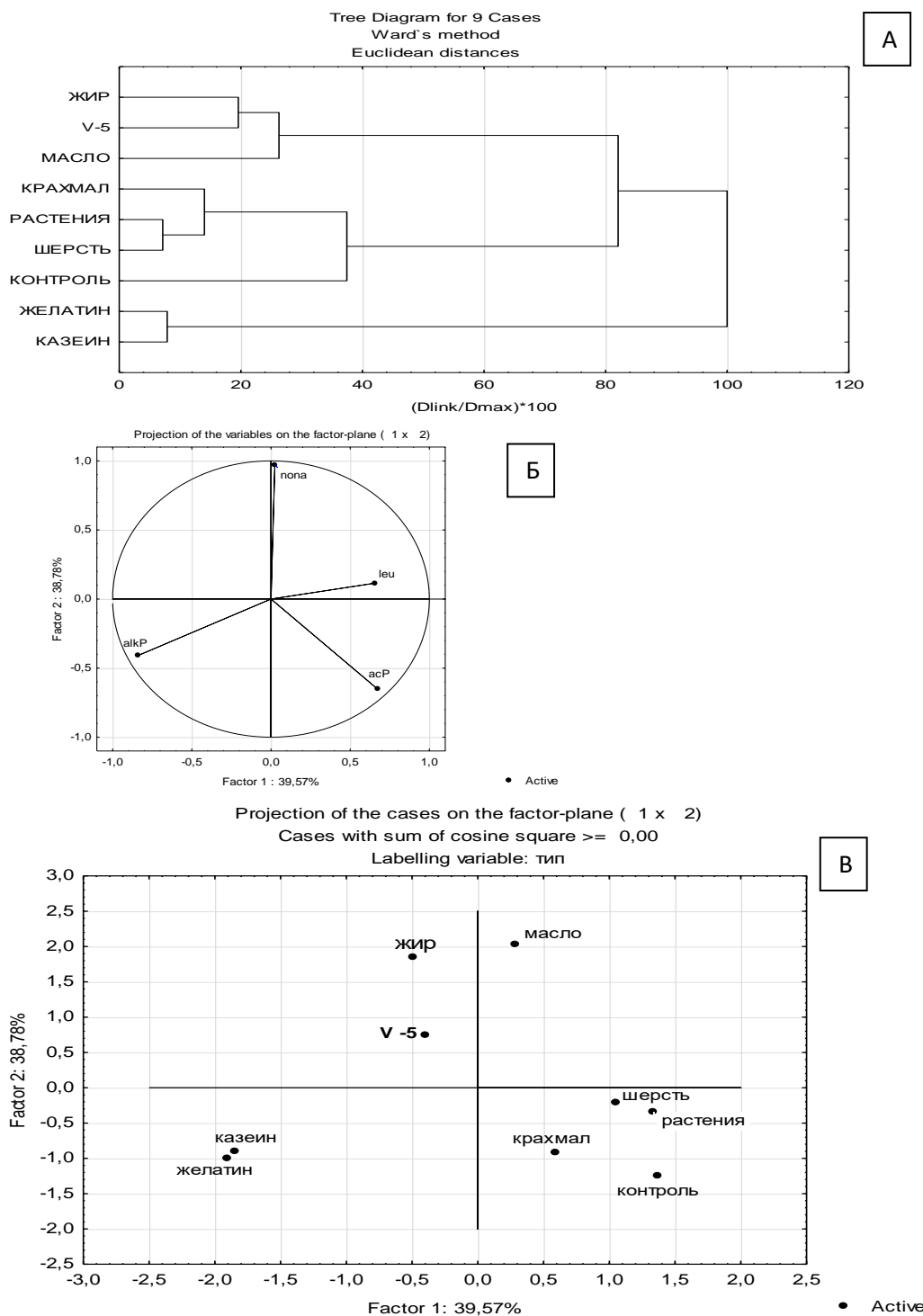


Рисунок 9. Результаты статистической обработки данных ферментативной активности почв модельного эксперимента и придонного слоя заполнения ритуального сосуда из курганного захоронения «Бейсужек-35» (v5 – придонный слой заполнения сосуда): А - кластерный анализ; Б - ферменты, по которым выполнялась статистическая

обработка: кислая – асРи щелочная – alkP фосфатазы, лейцин-аминопептидаза – leu, нона-эстераза – nona; В -положение сосуда относительно вариантов модельного эксперимента в поле ГК 1 и ГК 2, описывающих 40 и 39% дисперсии соответственно (метод главных компонент)

В координатах ГК1 (factor1), описывающих 40% дисперсии, придонный слой располагается в полуплоскости с жиром и белковыми вариантами, а в координатах ГК2 (factor2), описывающих 39% дисперсии, занимал промежуточное положение между жиром и маслом. Т.е. данные ферментативной активности указывают на то, что исходным содержимым сосуда был композитный белково-липидный продукт. Это согласуется и уточняет данные МСТ.

3.2.4. Реконструкция присутствия жиров в ритуальных сосудах по активности ферментов класса липаз и эстераз

Проанализирована активность ферментов эстеразы, липазы и амилазы почвенно-грунтовых образцов из ритуальных сосудов (кувшинчиков, кувшинов, мисок и кружек) следующих курганных могильников: «Октябрьский», «Киевский-1», «Братские-1, -3 курганы», «Гвардейские курганы» (Чеченская Республика, аланская культура II-V вв. н.э.), «Адагум-10», «Варениковская-1» (Краснодарский край, новотитаровская и северокавказская культуры, эпоха бронзы, первая половина III тыс. до н.э.), «Волна» (Краснодарский край, античное время, VII-V вв. до н.э.). Всего изучено 75 сосудов. Эстеразная активность была выявлена в 50% кувшинчиков, 32% кувшинов, 57% мисок и 65% кружек. Липазная активность – в 67% кувшинчиков, 36% кувшинов, 57% мисок и 50% кружек. Амилазная активность – в 45% кувшинчиков, 36% кувшинов, 43% мисок и 38% кружек. В 20% исследованных сосудов ферментативной активности выявлено не было.

3.3. Реконструкция одежды погребенных, убранства погребального ложа

3.3.1. Результаты определения остатков шерсти в погребениях микробиологическим методом оценки численности кератинолитических грибов

Для выявления исходного присутствия шерсти в погребальной одежде была проведена оценка численности кератинофильных грибов в 147 образцах погребального грунта, отобранных под черепом, позвоночником, коленями и ступнями погребенных. Для выявления исходного присутствия шерсти в элементах погребального убранства были исследованы 62 образца тлена – продукта разложения органических материалов. Всего было изучено 43 погребения в составе 7 курганных могильников. В составе курганного могильника «Бейсужек-35» эпохи бронзы было исследовано 14 погребений в 4 курганах. В составе курганного могильника «Адагум» той же эпохи исследовались 9 погребений в 4 курганах. Образцы из 2 погребений, относящихся к 1 кургану, были отобраны из могильника «Гвардейские Курганы» (эпоха бронзы). На территории грунтового могильника «Волна», античного времени, были изучены 6 погребений, без курганных насыпей. Кроме того, исследовались грунты из 5 погребений средневекового могильника «Братские курганы». Для каждого курганного могильника проводили оценку варьирования численности КОЕ кератинофильных грибов в погребальных грунтах.

Была проведена кластеризация всех 209 образцов погребального грунта по эпохам (рис. 10) и по положению в погребении (рис. 11). Было показано, что грунты из могильников античности и Средневековья группируются отдельно от грунтов эпохи бронзы. Группировка по положению в погребении выявила наиболее близкое сходство между подскелетными грунтами – они группировались отдельно от грунтов, образованных в результате разложения погребальных подстилок. Среди подскелетных грунтов были обособлены образцы, отобранные под ступнями.

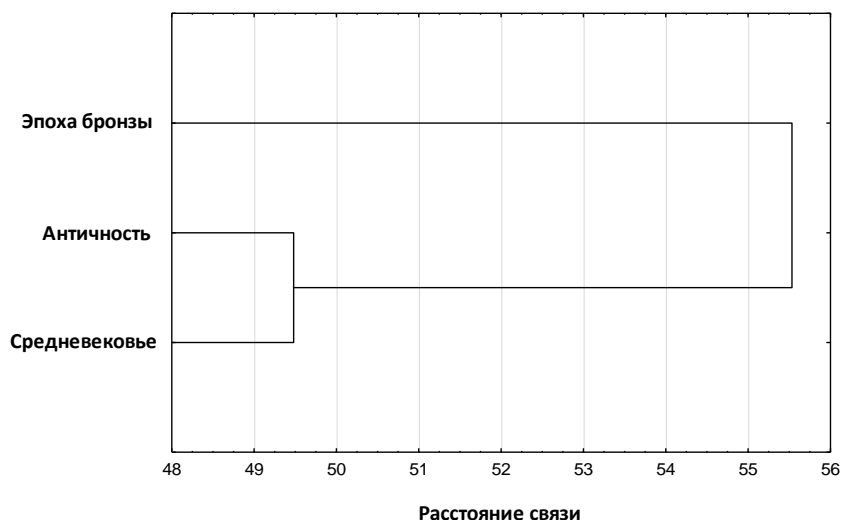


Рисунок 10. Результаты кластерного анализа численности кератинофильных грибов в грунтах из погребений эпохи бронзы, античности и Средневековья. Дендрограмма для 3 групп: одиночная связь, Эвклидово расстояние.

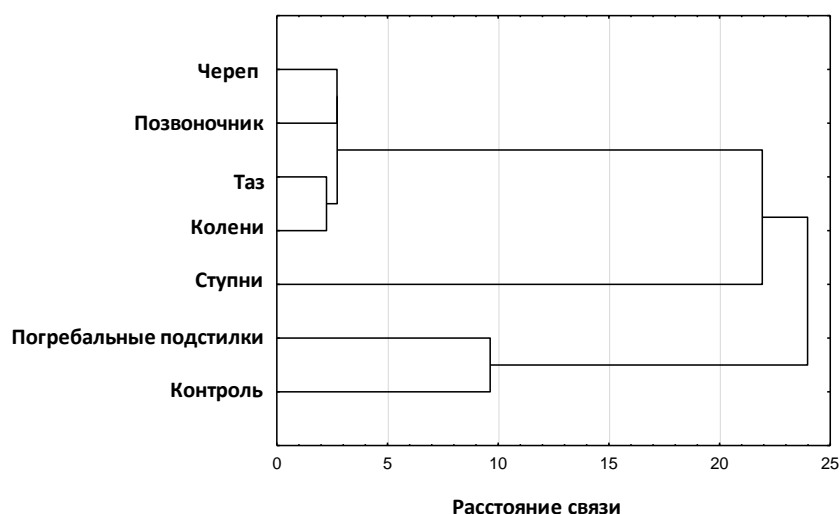


Рисунок 11. Результаты кластерного анализа численности кератинофильных грибов в грунтах из разновозрастных погребений. Группировка по положению грунта в погребении, дендрограмма для 7 групп: одиночная связь, Эвклидово расстояние.

Таким образом, анализ численности кератинофильных грибов в погребениях не выявил зависимости данного показателя от почвенного типа и времени погребения. Фактором, обуславливающим высокие величины данного показателя, является исходное присутствие субстрата, разлагаемого кератинофильными грибами.

3.3.2. Реконструкция одежды погребенных: грунтовый могильник «Волна» (Краснодарский край), курганный могильник «Бейсужек-35» (Краснодарский край)

Исследования были посвящены комплексному анализу микробной и энзиматической активности в образцах подскелетного грунта, а также в образцах тленов, возникших как результат разложения погребальных подстилок, из погребений эпохи бронзы (курганный могильник «Бейсужек-35»).

Был проведен статистический анализ кератинолитической и целлюлозолитической активности микробного сообщества в 54 образцах погребального грунта из курганного могильника «Бейсужек-35» (рис. 12-13).

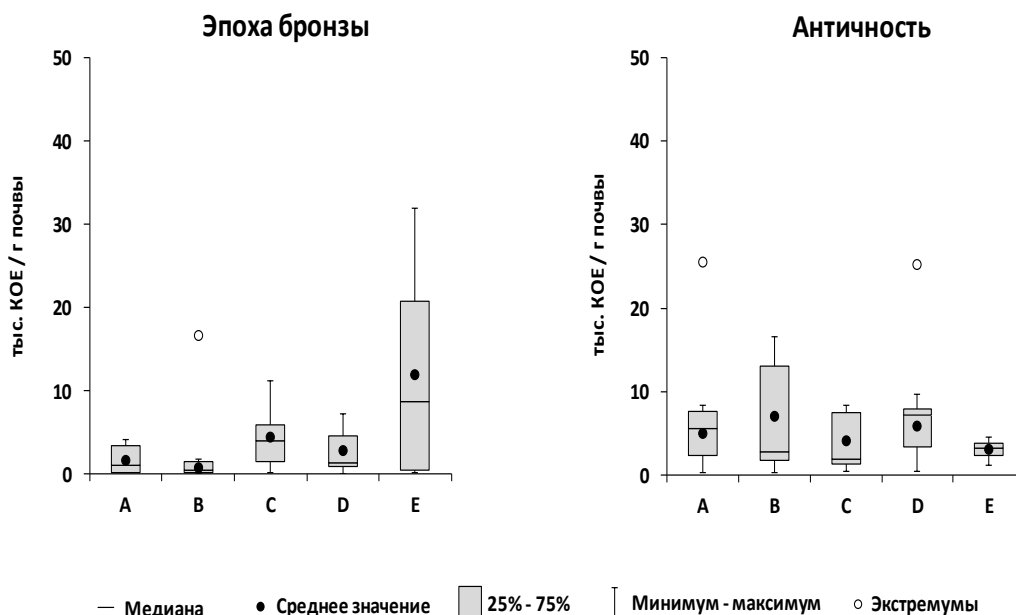


Рисунок 12. Разброс значений кератинолитической активности в подскелетных грунтах из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек») и античности (могильник «Волна»). А – грунт под черепом, В– грунт под позвоночником, С – грунт под тазом, D – грунт под коленями, Е – грунт под ступнями

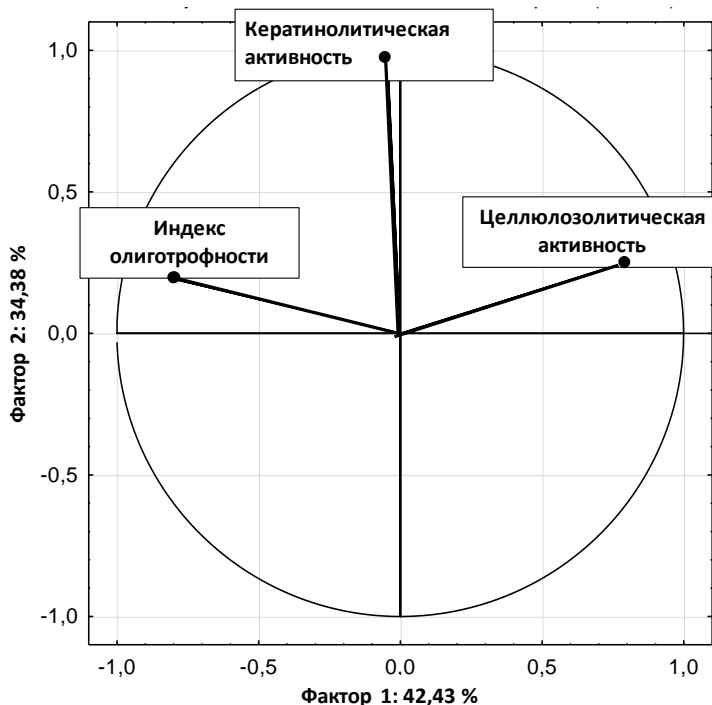


Рисунок 13. Результаты статистического анализа кератинолитической и целлюлозолитической активности микробного сообщества в тленах подстилок из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек-35»). Метод главных компонент, координаты переменных на факторной плоскости (1×2)

Кератинолитическая активность оценивалась по численности кератинолитических грибов, растущих на шерстяном субстрате, а целлюлозолитическая активность – по достоверному приросту общей численности КОЕ микробного сообщества на почвенном агаре с карбоксиметилцеллюлозой (ПА+КМЦ), по сравнению с почвенным агаром без добавок (ПА). Для оценки индекса олиготрофности определяли численность КОЕ микроорганизмов, использующих низкие концентрации питательных веществ (численность на ПА). Индекс олиготрофности рассчитывали как отношение численности КОЕ микроорганизмов, растущих на ПА, к численности КОЕ микроорганизмов, использующих легкодоступное органическое вещество и растущих на богатой питательной среде (БС) с высоким содержанием пептона и глюкозы.

Метод главных компонент на основе корреляций в рядах трех переменных (кератинолитическая активность, целлюлозолитическая активность и индекс олиготрофности), позволил построить факторную плоскость (рис. 14), используемую в дальнейшем для группировки 54 образцов погребального грунта и 1 образца контрольной погребенной почвы в координатных осях ОХ (фактор 1) и ОУ (фактор 2).

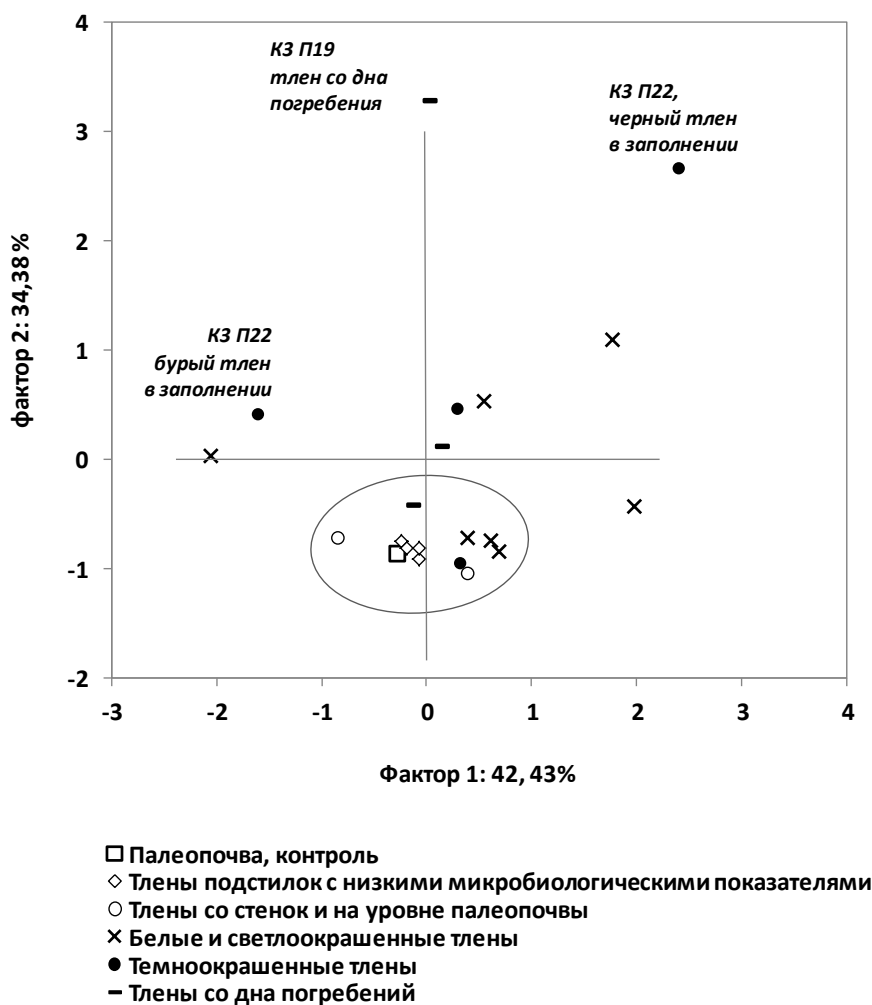


Рисунок 14. Результаты анализа кератинолитической и целлюлозолитической активности микробного сообщества в тленах подстилок из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек-35», курганы № 2, № 3, № 4). Метод главных компонент, диаграмма рассеяния наблюдений на факторной плоскости (1× 2)

На рис. 15 представлена аналогичная диаграмма рассеяния погребальных грунтов из четырех погребений кургана № 6 в составе могильника «Бейсужек-35». Тлены, отобранные вблизи костяка, демонстрировали большой разброс данных. Часть из них была отнесена к образцам с низкими микробиологическими показателями, которые практически не отличались от фоновых. Остальные – демонстрировали высокие значения кератинолитической активности (погребение 15, тлен за головой) и целлюлозолитической активности (погребение 8, грунты перед коленями и перед лицом). Микробиологические показатели цветных тленов из погребения 7 и тлена, отобранного в 30 см от костяка в погребении 6, оказались заметно выше фонового уровня, несмотря на широкий разброс данных.

Статистический анализ подскелетных грунтов на той же диаграмме рассеяния (рис. 16) позволил выделить несколько областей, наиболее заметная из которых объединяла грунты из погребения № 7 с высокой кератинолитической активностью на фоне сравнительно высокого индекса олиготрофности микробного сообщества. Грунты из погребений № 6 и № 8 проявляли тенденцию к увеличению целлюлозолитической активности, а грунты из погребения № 15 – к увеличению кератинолитической активности. Высокими микробиологическими показателями характеризовались 3 из 4 образцов грунта, отобранных под ступнями.

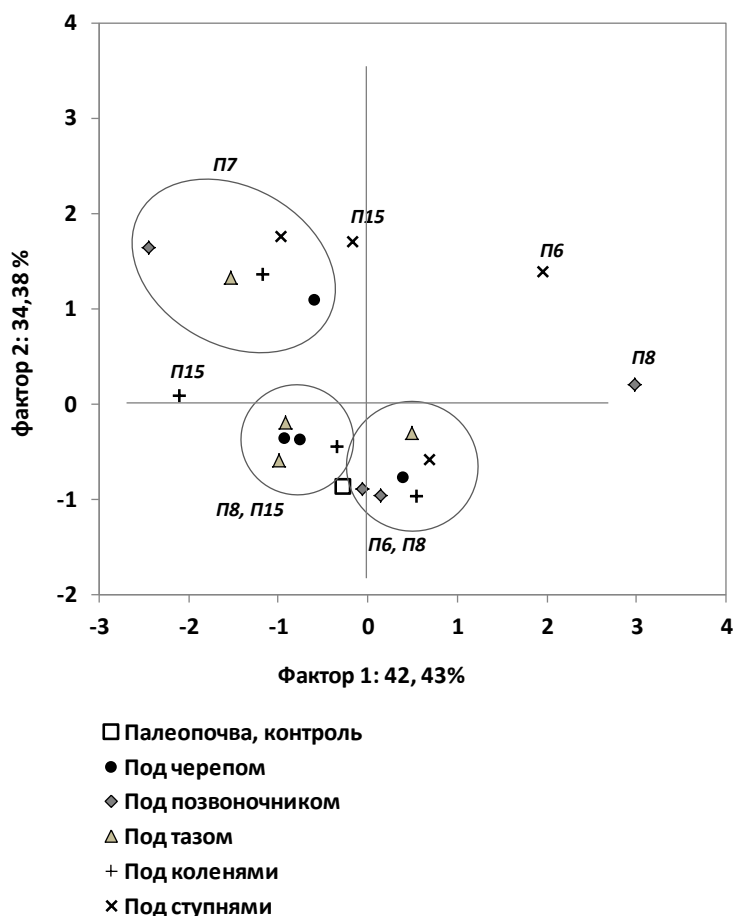


Рисунок 16. Результаты анализа кератинолитической и целлюлозолитической активности микробного сообщества в подскелетных грунтах из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек-35», курган № 6). Метод главных компонент, диаграмма рассеяния наблюдений на факторной плоскости (1× 2).

Таким образом, метод главных компонент позволил разделить образцы погребального грунта на группы с низкой микробиологической активностью и группы с повышенной кератинолитической и / или целлюлозолитической активностью. Среди образцов с высокой микробиологической активностью были выявлены тлены в заполнении могильной ямы погребения № 22 кургана № 3, по-видимому, образовавшиеся в результате разложения могильного перекрытия, тлены со дна погребений – особенно со дна погребения № 19 кургана № 3, тлены подстилки в погребении № 7 кургана № 6 и грунты под ступнями погребенных в погребениях № 6, № 7 и № 15 кургана № 6.

3.3.3. Выявление жирового субстрата в погребениях на основании липазной активности

Для выявления жировых субстратов была проведена оценка липазной активности погребальных грунтов. Результаты статистического анализа структуры микробного сообщества и липазной активности в 52 образцах погребального грунта из курганного могильника «Бейсужек-35» представлены на рис. 17. В качестве показателей структуры микробного сообщества были выбраны численность КОЕ микроорганизмов, использующих легкодоступное органическое вещество и индекс олиготрофности микробного сообщества. Для оценки численности КОЕ микроорганизмов, использующих легкодоступное органическое вещество, использовали богатую питательную среду (БС) с высоким содержанием пептона и глюкозы. Для оценки индекса олиготрофности определяли численность микроорганизмов, использующих низкие концентрации питательных веществ и растущих на почвенном агаре (ПА). Индекс олиготрофности рассчитывали как отношение численности КОЕ на ПА к численности КОЕ на БС.

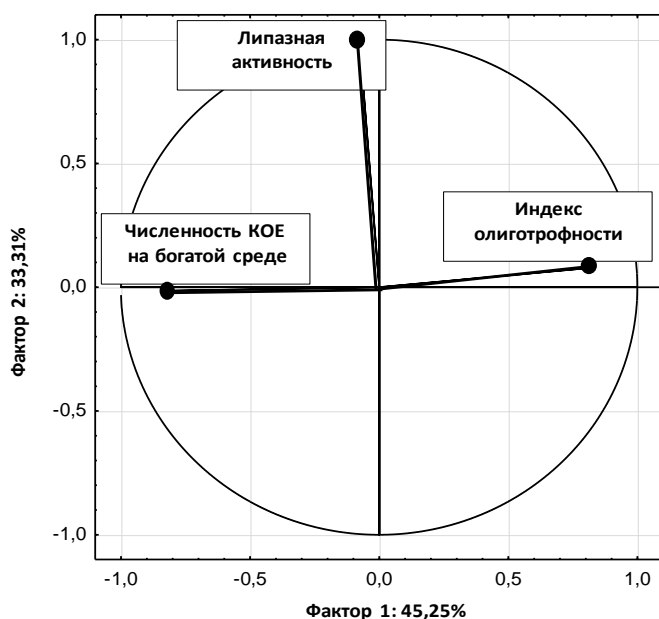


Рисунок 17. Результаты статистического анализа структуры микробного сообщества и липазной активности в грунтах из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек-35»). Метод главных компонент, координаты переменных на факторной плоскости (1× 2)

Смещение координат на факторной плоскости по оси ОУ (фактор 2) в положительную область связано с увеличением липазной активности. При этом смещение координат в положительную область по оси ОХ (фактор 1) связано с ростом индекса

олиготрофности, а в отрицательную область – с ростом численности микроорганизмов, использующих легкодоступное органическое вещество.

На полученной факторной плоскости была построена диаграмма рассеяния образцов погребального грунта (рис. 18). Повышенная липазная активность была выявлена в одном из образцов с охрой, в погребении № 15 кургана № 6, что, очевидно, свидетельствует о способе приготовления охристого красителя на жировой основе, а также в образцах под черепом, который является источником поступления жира в почвенный грунт, поскольку содержит головной мозг – субстрат с высоким содержанием липидов.

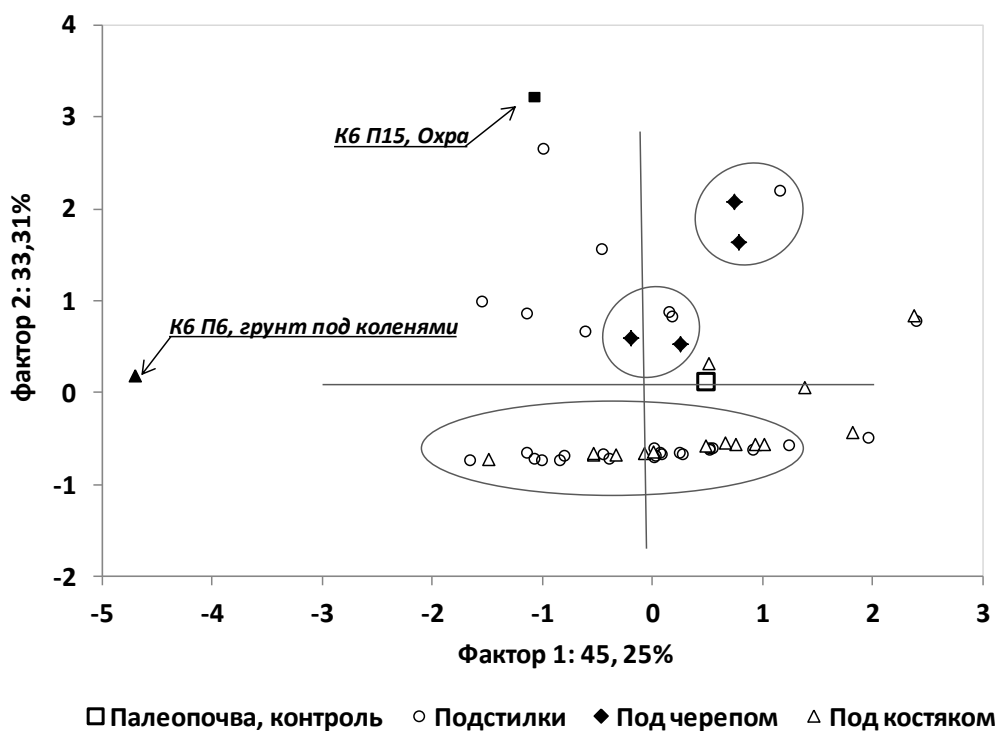


Рисунок 18. Результаты статистического анализа структуры микробного сообщества и липазной активности в грунтах из погребений эпохи бронзы (курганый могильник «Бейсужек-35»). Метод главных компонент, диаграмма рассеяния наблюдений на факторной плоскости (1× 2).

Заключение

В пилотном лабораторном модельном эксперименте выявлены основные закономерности динамики разложения белковых, липидных и полисахаридных материалов. Выявлены несколько ферментов (щелочная и кислая фосфатазы, нонаноат-эстераза и лейцин-аминопептидаза), активность которых оказалась наиболее специфичной в отношении разлагаемых материалов. В системе мультисубстратного тестирования дыхательной активности микробных сообществ установлено, что соотношения дыхательных откликов на внесение аскорбиновой кислоты к таковому на внесение уксусной (АУ) и молочной (АМ) кислот, а также цистеина (АЦ) являются индикаторными в отношении внесенных органических материалов. В процессе выполнения пилотного эксперимента очищенные белки - казеин и желатин разлагались быстро, со сходной динамикой и характером сукцессии микробных сообществ. Поэтому на третий год проекта был заложен модельный эксперимент №2, в котором по настоящее время проходит исследование разложения более сложных материалов естественного происхождения – животных и растительных белков - постного бараньего мяса, творога и пшена. По предварительным результатам наиболее высокой микробной биомассой к 8 месяцу разложения характеризовался вариант с

внесением пшена как наиболее естественного для поступления в почву материала. В системе мультисубстратного тестирования отслеживаются дыхательные отклики микробных сообществ в протекающей сукцессии.

Проведена реконструкция содержимого ритуальных сосудов из кургана №9 курганного могильника «Спокойный» (Симферопольский район, Крым). Выполнено исследование почвенно-грунтовых образцов заполнения серии ритуальных сосудов катакомбной и срубной культур эпохи средней бронзы, а также кизил-кобинской культуры эпохи раннего железа из курганного могильника «Спокойный». Всего исследовано заполнение восьми сосудов погребения №3 (два сосуда № 9-3-1 и №9-3-2), №20 (три сосуда №9-20-1, №9-20-2 и №9-20-3), №16 (№9-16), №7 (№9-7) и №17 (№9-17). Анализировали материал из придонного слоя и на уровне венчика сосудов. Все придонные образцы заполнения сосудов содержали повышенное количество микробной биомассы, превышающее таковое у венчика в 3-5 раз. Реконструкция исходного содержимого сосудов была проведена впервые на основании сопоставления данных мультисубстратного тестирования и ферментативной активности заполнения сосудов с результатами модельного эксперимента. Исходное содержимое сосуда № 9-20-3 реконструируется как липидное (вероятно, масло), сосудов №9-20-2 и №9-3-2 как белковое, сосуда №9-16, №9-17 и №9-7 – крахмалистое вещество, причем последний – возможно, с примесью белкового материала, сосуда №9-20-1 и №9-3-1 как малопитательный растительный отвар.

Исследован почвенно-грунтовый материал заполнения 22 ритуальных сосудов из 19 погребений (2 мужских, 2 женских, 13 детских и 1 – подросткового, для двух образцов данных о поле и возрасте погребенных нет) шести курганов могильника «Неткачево-3» (XVI-XV вв. до н.э.). Кластерный анализ данных суммарной ферментативной активности позволил разделить сосуды на четыре группы, градации ферментативной активности связаны с питательностью содержимого сосудов. Заполнение сосудов из группы с наиболее высокой ферментативной активностью можно реконструировать как жир (№15-2 и 5-2), как композитное белково-жировое (№14-2, 16-5 средний), белковый (№16-5 малый), а также как белково-крахмалистый (№16-7 и 16-3) продукты. Заполнение сосудов из группы с наименьшей ферментативной активностью реконструируется как менее концентрированный крахмалисто-масляно-растительный продукт (№16-19, 13-3, 16-10, 14-6 и 16-8), сосуд № 16-13 (средний) наиболее вероятно содержал растительный отвар. Заполнение сосудов двух других групп (с промежуточной величиной суммарной активности ферментов) реконструируется как белковый (№16-13 малый, 3-1, 14-4, 14-5 и 14-7 средний) и жировой (№16-20, 13-2, 16-10 и 4-2) продукты.

Реконструкция исходного содержимого сосуда №6 погребения №8 из курганного могильника «Бейсужек-35» (Краснодарский край, ямная культура эпохи ранней бронзы, около 3000 л. до н.э.) была выполнена в исследовании пяти слоев заполнения от венчика сосуда до его дна. На основании микробных и энзиматических индикаторов исходное заполнение реконструируется как композитный белково-липидный продукт.

Реконструкция присутствия жиров в ритуальных сосудах по активности ферментов класса липаз и эстераз была выполнена для ритуальных сосудов (кувшинчиков, кувшинов, мисок и кружек) следующих курганных могильников: «Октябрьский», «Киевский-1», «Братские-1, -3 курганы», «Гвардейские курганы» (Чеченская Республика, аланская культура II-V вв. н.э.), «Адагум-10», «Варениковская-1» (Краснодарский край, новотитаровская и северокавказская культуры, эпоха бронзы, первая половина III тыс. до н.э.), «Волна» (Краснодарский край, античное время, VII-V вв. до н.э.). Всего изучено 75 сосудов. Эстеразная активность была выявлена в 50% кувшинчиков, 32% кувшинов, 57% мисок и 65% кружек. Липазная активность – в 67% кувшинчиков, 36% кувшинов, 57% мисок и 50% кружек. Амилазная активность – в 45% кувшинчиков, 36% кувшинов, 43% мисок и 38% кружек. В 20% исследованных сосудов ферментативной активности выявлено не было.

Реконструкции одежды погребенных и убранства погребального ложа были выполнены на основании анализа кератинолитической и целлюлозолитической активности микроорганизмов. В отдельных экспериментах было установлено, что численность кератинофильных грибов в погребениях не зависит от почвенного типа и времени погребения. Фактором, обуславливающим высокие величины данного показателя, является исходное присутствие субстрата, разлагаемого кератинофильными грибами, т.е шерстяного материала, волос и кожи.

Для выявления исходного присутствия шерсти в погребальной одежде была проведена оценка численности кератинофильных грибов в 147 образцах погребального грунта, отобранных под черепом, позвоночником, коленями и ступнями погребенных. Для выявления исходного присутствия шерсти в элементах погребального убранства были исследованы 62 образца тлена – продукта разложения органических материалов. Всего было изучено 43 погребения в составе 7 курганных могильников. В составе курганного могильника «Бейсужек» эпохи бронзы было исследовано 14 погребений в 4 курганах. В составе курганного могильника «Адагум» той же эпохи исследовались 9 погребений в 4 курганах. Образцы из 2 погребений, относящихся к 1 кургану, были отобраны из могильника «Гвардейские Курганы» (эпоха бронзы). На территории грунтового могильника «Волна», античного времени, были изучены 6 погребений, без курганных насыпей. Кроме того, исследовались грунты из 5 погребений средневекового могильника «Братские курганы». Для каждого курганного могильника проводили оценку варьирования численности КОЕ кератинофильных грибов в погребальных грунтах

Была проведена кластеризация всех 209 образцов погребального грунта по эпохам и по положению в погребении. Показано, что грунты из могильников античности и Средневековья группируются отдельно от грунтов эпохи бронзы. Группировка по положению в погребении выявила наиболее близкое сходство между подскелетными грунтами – они группировались отдельно от грунтов, образованных в результате разложения погребальных подстилок. Среди подскелетных грунтов были обособлены образцы, отобранные под ступнями. Таким образом, анализ численности кератинофильных грибов в погребениях не выявил зависимости данного показателя от почвенного типа и времени погребения. Фактором, обуславливающим высокие величины данного показателя, является исходное присутствие субстрата, разлагаемого кератинофильными грибами.

Статистическим анализом (метод главных компонент) удалось разделить образцы погребального грунта (курганного могильника «Бейсужек-35»), на группы с низкой микробиологической активностью и группы с повышенной кератинолитической и / или целлюлозолитической активностью. Среди образцов с высокой микробиологической активностью были выявлены тлены в заполнении могильной ямы погребения № 22 кургана № 3, по-видимому, образовавшиеся в результате разложения могильного перекрытия, тлены со дна погребений – особенно со дна погребения № 19 кургана № 3, тлены подстилки в погребении № 7 кургана № 6 и грунты под ступнями погребенных в погребениях № 6, № 7 и № 15 кургана № 6.

Выявление жирового субстрата в погребениях было проведено на основании оценки липазной активности погребальных грунтов. Результаты статистического анализа структуры микробного сообщества и липазной активности в 52 образцах погребального грунта из курганного могильника «Бейсужек-35» представлены на рис. 9. В качестве показателей структуры микробного сообщества были выбраны численность КОЕ микроорганизмов, использующих легкодоступное органическое вещество и индекс олиготрофности микробного сообщества. Повышенная липазная активность была выявлена в одном из образцов с охрой, в погребении № 15 кургана № 6 (могильник «Бейсужек-35»), что, очевидно, свидетельствует о способе приготовления охристого красителя на жировой основе, а также в образцах под черепом, который является источником поступления жира в почвенный грунт, поскольку содержит головной мозг – субстрат с высоким содержанием липидов.

Таким образом, главным итогом выполнения проекта стало обоснование нового носителя археологической информации – почвенных микробных сообществ археологических памятников. Их количественные и качественные характеристики позволяют реконструировать исходное присутствие целого спектра органических материалов в различных археологических контекстах. Это позволяет существенно расширить наше представление о бытовой, производственной деятельности и особенностях погребального обряда древнего населения.