



DOI: <https://doi.org/10.15688/nav.jvolsu.2020.1.10>

UDC 903'1:903.5
LBC 63.442-7

Submitted: 10.03.2020
Accepted: 29.04.2020

MICROBIOLOGICAL APPROACH TO RECONSTRUCTION OF THE ORIGINAL CONTENT OF POTS FROM THE BURIALS¹

Tatiana E. Khomutova

Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russian Federation

Kamilla S. Dushchanova

Pushchino Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russian Federation

Alexandr V. Borisov

Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russian Federation

Abstract. In a model soil experiment, microbial decomposition nature and its rate applying to various organic substrates were studied. It is shown that the decomposition of various materials changes the functional features of microbial communities. These changes are assessed using multisubstrate testing of respiratory activity of microbial communities – this testing assumes application of low- molecular respiratory inducers (aminoacids and carboxylic acids) to the soil and registration the changes of the intensity of carbon dioxide release by microorganisms. Indicative compounds such as ascorbate, lactate, acetate (from the group of carboxylic acid salts) and cysteine (from the group of aminoacids) have been identified to be promising for use in reconstructing the original contents of ritual vessels. As an example, the article presents the results of reconstruction of one of bronze age burial pots original content, obtained by multisubstrate testing. High microbial biomass in the bottom layer of the vessel and the specific microbial communities' respiratory responses to carboxylic acids salts (ascorbate, lactate and acetate) and aminoacid cysteine addition, indicate that the vessel originally contained a nutritional product, the decomposition of which led both to increase of microbial biomass and to changes in the functional structure of microbial community in the soil filling of the bottom layer. The results of statistical analysis of the reactions of soil microbial communities from the pot and from soils of the model experiment with known materials decomposed indicate that the vessel initially contained a protein product with a possible component of oil and starch.

Key words: burials, pots, funeral food, model soil experiment, soil microbial community.

Citation. Khomutova T.E., Dushchanova K.S., Borisov A.V., 2020. Microbiological Approach to Reconstruction of the Original Content of Pots from the Burials. *The Lower Volga Archaeological Bulletin*, vol. 19, no. 1, pp. 188-201. (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.15688/nav.jvolsu.2020.1.10>

УДК 903'1:903.5
ББК 63.442-7

Дата поступления статьи: 10.03.2020
Дата принятия статьи: 29.04.2020

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К РЕКОНСТРУКЦИИ ИСХОДНОГО СОДЕРЖИМОГО ГОРШКОВ ИЗ ПОДКУРГАННЫХ ЗАХОРОНЕНИЙ¹

Татьяна Эдуардовна Хомутова

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
г. Пушкино, Российская Федерация

Камилла Савировна Дуцанова

Пушинский естественнонаучный институт. г. Пушкино, Российская Федерация

Александр Владимирович Борисов

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
г. Пушкино, Российская Федерация

Аннотация. В модельном почвенном эксперименте изучены характер и скорость микробного разложения различных органических субстратов. Показано, что при этом процессе изменяются функциональные особенности микробных сообществ. Эти изменения оцениваются с помощью мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов, когда почвенным микробным сообществам предлагаются низкомолекулярные индукторы дыхания (аминокислоты и карбоновые кислоты) и регистрируют изменение интенсивности выделения углекислого газа почвенными микроорганизмами. Выявлены индикаторные соединения, такие как аскорбат, лактат, ацетат – из группы солей карбоновых кислот, цистеин – из группы аминокислот, которые перспективны для использования в реконструкциях исходного содержимого ритуальных сосудов. В качестве примера в статье приводятся результаты реконструкции исходного содержимого одного из горшков из погребения эпохи бронзы с помощью мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов. Высокая микробная биомасса в придонном слое и специфические дыхательные отклики микробных сообществ на внесение солей карбоновых кислот (аскорбата, лактата и ацетата) и аминокислоты цистеина указывают на то, что в горшке находился питательный продукт, разложение которого привело как к увеличению микробной биомассы, так и к изменению функциональной структуры микробного сообщества в почвенно-грунтовой загрузке придонного слоя. Результаты статистического анализа реакций микробных сообществ почвы из горшка и почв модельного эксперимента с известными органическими материалами указывают на то, что горшок изначально содержал белковый продукт с возможной составляющей масла и крахмала.

Ключевые слова: подкурганное погребение, ритуальный сосуд, исходное содержимое, модельный почвенный эксперимент, микробные сообщества.

Цитирование. Хомутова Т. Э., Дуцанова К. С., Борисов А. В., 2020. Микробиологический подход к реконструкции исходного содержимого горшков из подкурганных захоронений // Нижневолжский археологический вестник. Т. 19, № 1. С. 188–201. DOI: <https://doi.org/10.15688/nav.jvolsu.2020.1.10>

Введение

Ритуальные сосуды встречаются в подкурганных погребениях различных культур, и реконструкция их исходного содержимого является важной задачей для понимания обрядово-духовных традиций жизни древних обществ. Для реконструкции ранее применялись различные подходы, включающие археоботанические, биохимические, изотопные, микробиологические и другие методы [Борисов и др., 2004, с. 55–60; Борисов и др., 2006, с. 376–387; Демкин и др., 2014, с. 148–159, с. 376–378; Khomutova, Demkin, 2011, p. 690; Pető et al., 2013, p. 58–71; Isaksson et al., 2012, p. 3600–3609; Craig et al., 2004, p. 613–634; и др.]. Следует признать, что, несмотря на явный и неугасающий интерес к вопросам реконструкции погребальной пищи в сосудах, к настоящему времени в этой области исследований сложилась ситуация, требующая глу-

бокого переосмысления. Очевидно, что сейчас нет какого-либо одного метода, способного достоверно определить характер ритуальной пищи в горшке. Попытки сравнительного анализа результатов, получаемых разными методами, не всегда плодотворны в силу присущих каждому методу ограничений.

В настоящее время методы реконструкции исходного содержимого сосудов основаны на количественном подходе. При этом исследователи стремятся установить количество того или иного компонента в единице массы грунта в горшке. Но количественный подход в данном случае нельзя считать обоснованным, так как существует бесконечно много неопределенностей и возможных механизмов распределения по объему грунта в горшке тех индикаторных компонентов, которые учитываются с помощью конкретного метода. На этом следует остановиться подробно и представить себе, как происходило заполнение горшка грунтом.

Не вызывает сомнений, что на момент погребения в горшке была либо пища, либо вода, либо он был пуст. Было бы нелепо предполагать, что в могилу помещали горшок, уже заполненный грунтом. Таким образом, грунт попал в сосуд либо в процессе засыпки могилы, либо после. С этого момента начинаются те неопределенности, о которых было сказано выше и которые ставят под сомнение перспективность количественного анализа.

Во-первых, встает вопрос – было ли закрыто пространство вокруг погребенного и попадал ли внутрь могильной камеры грунт в процессе засыпки могилы? Ответ на этот вопрос отнюдь не очевиден. Лишь в могилах с явным и мощным деревянным перекрытием и лишь для незначительной части катакомбных конструкций с длинным дромосом с закладом можно предполагать, что могильная камера длительное время не была заполнена грунтом. В этом случае пища, находившаяся в горшке, медленно разлагалась, уменьшаясь в объеме, и концентрировалась у дна сосуда. После этого в горшок попадал грунт и смешивался с остатками пищи. Только в этом случае в нижней части грунта в горшке можно ожидать превышение содержания тех или иных компонентов, которые перешли в грунт из остатков пищи. Но и в этом случае количественный подход для ее реконструкции проблематичен, так как результат будет зависеть от условий отбора грунта для анализа. Очевидно, что в слое 0–1 см от дна концентрация биомаркеров² пищи будет выше, чем в слое 1–2 см или 2–3 см. Поэтому, даже если образцы отбирает один человек, субъективный фактор будет столь значительным, что вопрос достоверности результатов количественного анализа остается дискуссионным.

Если же горшок на протяжении многих лет после погребения стоял пустой и не заполнялся грунтом, органическая составляющая пищи могла разложиться полностью, а ее минеральные остатки адсорбироваться на стенках и на дне сосуда. В таком случае грунт, попавший в уже пустой сосуд, может вовсе не содержать биомаркеров пищи, даже в придонной части заполнения. При этом ситуацию весьма осложняет все тот же субъективный фактор – если при отборе образца грунт будет соскребаться со стенок и дна,

концентрация в нем биомаркеров пищи резко возрастает. Здесь следует особо отметить ситуацию с нагаром внутри горшка. Так, если в анализируемый образец грунта попадет нагар – результат перестает отражать исходно внесенный пищевой продукт. Естественно, полагаться на результаты количественного анализа в данном случае нельзя.

Если же в могиле не было перекрытия либо изолирование погребенного носило символический характер, то неясно, в каком слое заполнения оказались те или иные биомаркеры пищи при быстром заполнении горшка грунтом и насколько они рассеяны по объему этого грунта. Можно было бы предположить, что в случае с могилами в форме простых ям горшки одновременно заполнялись грунтом во время погребения. Но это, по всей видимости, не соответствует действительности, так как есть все основания предполагать, что горшок в момент погребения был чем-то закрыт – циновкой, куском кожи и т. д. В этом случае возрастает неопределенность относительно дальнейших процессов распределения биомаркеров пищи в грунте горшка, что исключает возможность количественного анализа.

Осложняет ситуацию и зоогенный фактор. Очевидно, что пища, находившаяся в горшке, неизбежно должна была привлекать внимание всех видов почвенной микро- и мезофауны, которые могли полностью и неоднократно перемешивать весь объем грунта, сводя на нет все попытки количественного анализа.

В связи с этим представляется разумным отказаться от количественного анализа того или иного элемента или включения и попытаться разработать качественные подходы к реконструкции ритуальной пищи. Перейти на качественный уровень реконструкции исходного содержимого ритуальных сосудов можно с помощью микробиологического подхода, потенциал которого до сих пор полностью не использован. При разложении органических материалов, внесенных человеком в ходе хозяйственной деятельности, в том числе в погребениях и др., численность специфических микробных группировок нарастает, а после разложения или остановки этого процесса микробные группировки отмирают и частично переходят в покоящееся состояние. Однако

микробные характеристики такой почвенно-грунтовой массы неизбежно изменяются по сравнению с фоновыми показателями [Khomutova, Borisov, 2019, p. 104004; Peters et al., 2014, p. 162–171; Chernysheva et al., 2015, p. 24–31; Kashirskaya et al., 2019, pp. 569–574]. В подкурганых захоронениях почвенно-грунтовой заполнение ритуальных сосудов в ограниченный промежуток времени оказывалось в квази-постоянных условиях влажности и температуры, развивающаяся на продуктах при этом внутри сосуда микрофлора полностью или частично разлагала их. В определенном смысле почвенно-грунтовой заполнение ритуального сосуда можно рассматривать как специфический экотоп, в котором микробные сообщества являются индикаторами происходящих процессов [Margesin et al., 2017, p. 925–938]. При этом открывается возможность отхода от количественных критериев при реконструкции исходного содержимого горшков и получения более надежной информации о качественном составе ритуальной пищи.

В связи с вышесказанным целью данной работы является демонстрация возможностей *качественной* реконструкции исходного содержимого горшков из погребений на основе анализа функционального разнообразия микробных сообществ в грунте заполнения.

Объекты и методы исследования

Модельный эксперимент по разложению в почве различных пищевых продуктов

Для обоснованной реконструкции исходного содержимого сосудов из подкурганых захоронений нами был заложен долгосрочный модельный лабораторный эксперимент, в котором исследована динамика разложения материалов белковой, липидной и полисахаридной природы микробными сообществами. Подробное описание, результаты, а также способ выявления наиболее информативных (индикаторных) показателей микробных сообществ относительно природы внесенных материалов были опубликованы ранее [Khomutova et al., 2019, p. 968].

Эксперимент проводился на серой лесной почве, которую инкубировали в контролируемых и оптимальных для микробного раз-

ложения условиях влажности и температуры. Эксперимент включал семь вариантов, в которых в почву добавляли один из следующих органических материалов: белковые материалы – казеин и желатин, липидные – растительное масло и бараний жир, полисахаридные – крахмал и растительные остатки (высушенный, растертый и просеянный сбор растительности с выбранного почвенного участка), седьмым контрольным вариантом была почва без добавок. Образцы почвы размещали в двойные полиэтиленовые пакеты с ватно-марлевыми пробками и располагали в термостате при 25 °С и постоянной влажности. На протяжении эксперимента оценивали динамику разложения органических материалов и состояние микробных сообществ.

Горшок из погребения 8 кургана 6 могильника «Бейсужек-35»

Изучали почвенно-грунтовой заполнение горшка (рис. 1), найденного в погребении катакомбной культуры (могильник «Бейсужек-35», кург. 6, погр. 8 (Краснодарский край). Руководитель раскопок – к.и.н. А.А. Клещенко. Образцы почвенно-грунтового материала были отобраны из сосуда в полиэтиленовые пакеты послойно (всего пять слоев) от его венчика до дна с соблюдением асептических условий. До анализа образцы сохраняли в закрытом контейнере при температуре, соответствующей моменту отбора.

Методы исследования

Биомассу микробных сообществ оценивали по содержанию почвенных фосфолипидов [Khomutova et al., 2017, p. 232–235], которые являются обязательным компонентом живых клеток, не содержатся в продуктах запасаения и после гибели клеток быстро разрушаются [Frostegård, Vååth, 1996, p. 59–65]. Определяемая таким методом биомасса микробных сообществ отражает биомассу активных и покоящихся микроорганизмов.

Основным методом исследования являлся анализ отклика почвенного микробного сообщества на внесение различных аминокислот, карбоновых кислот и полисахаридов [метод мультисубстратного тестирования дыха-

тельной активности микроорганизмов (далее – МСТ)]. МСТ проводили согласно Дегенсу и Харрису [Degens, Harris, 1997, p. 1309–1320]. Этот метод заключается в определении количества углекислого газа, выделяемого микроорганизмами в ответ на внесение низкомолекулярных индукторов микробного дыхания. Предлагая микроорганизмам разнообразные индукторы, мы получаем дыхательные отклики всего микробного сообщества или его отдельных (специфических) группировок. Таким образом достигается возможность оценки функционального разнообразия конкретного микробного сообщества. В отличие от других методов оценки микробного разнообразия, в которых она проводится по ростовым характеристикам, различающимся для разных группировок микробного сообщества, данный метод определения лишен такого недостатка, так как дыхательный отклик регистрируется за краткий интервал времени после внесения индуктора, что не позволяет клеткам переходить к росту и размножению. Микробная эмиссия CO_2 измерялась как реакция микробных сообществ на один из следующих низкомолекулярных индукторов дыхания: цистеин, натриевые соли аскорбиновой, молочной и уксусной кислот [Khomutova, Borisov, 2019, p. 104004]. Навески почв из каждого варианта модельного эксперимента и каждого из пяти слоев почвенно-грунтового заполнения ритуального сосуда (1 г), взятые в трех повторностях, помещали в пробирки с резиновыми пробками, предварительно инкубировали в течение 12 часов при температуре 22 °С и вентилировали. Затем добавляли 200 мкл одного из индукторов дыхания и закрывали пробирки. Количество выделившегося CO_2 измеряли через 4 ч инкубации при 22 °С на газовом хроматографе (Cristallux 4000 M, ИФХиБПП РАН). Дыхательную активность микробных сообществ выражали в мкг С / (г почвы h).

Модельный эксперимент проходил в оптимальных для микробных сообществ условиях. Можно полагать, что в археологических ситуациях в условиях погребенного состояния в почвенно-грунтовом заполнении горшка сходные процессы разложения пищевых продуктов идут существенно медленнее, но в течение гораздо более длительного времен-

ного интервала. Что касается механизма сохранения в микробной памяти почв информации об исходном присутствии того или иного органического субстрата, то в обоих случаях он однотипен. Для сравнения данных МСТ модельного эксперимента и заполнения сосуда из подкурганного погребения «Бейсужек-35» значения откликов микробных сообществ на каждый низкомолекулярный индуктор (аскорбат, лактат, ацетат и цистеин) в вариантах модельного эксперимента выражали в процентах от таковых контрольного варианта, а для сосуда – значения, определенные в нижнем слое, выражали в процентах от таковых верхнего слоя. Все измерения проводились не менее чем в трех повторностях, статистическая обработка и графическое представление общей вариации данных МСТ проводили методом главных компонент в программе STATISTICA.

Результаты и обсуждение

В ходе модельного эксперимента было установлено, что белковые материалы достаточно быстро были полностью минерализованы микробными сообществами, а в вариантах, обогащенных жирами (липидами), разложение шло гораздо медленнее. Спустя год после начала эксперимента величина микробной биомассы снизилась в вариантах с желатином и маслом и стала меньше таковой контроля, в варианте с казеином она снизилась до уровня контроля, в остальных вариантах она превышала контроль (см. табл. 1), то есть внесенные белковые материалы и масло были полностью минерализованы, а разложение растений, крахмала и жира продолжалось.

Использование метода мультисубстратного тестирования дыхательной активности микроорганизмов в модельном эксперименте позволило выявить различия в функциональном разнообразии сообществ в ходе их сукцессии при разложении различных органических субстратов. Так, величины дыхательного отклика микробных сообществ на внесение азотсодержащих субстратов (аминокислот) были наиболее высокими в экспериментальных вариантах с безазотистыми материалами – липидами (растительным маслом, бараньим жиром) и полисахаридами (крахмал, ра-

Таблица 1. Микробная биомасса и дыхательные отклики микробных сообществ в модельном эксперименте (13-й месяц от начала эксперимента, АЛ, АА, АЦ – соотношения откликов аскорбата к лактату, ацетату и цистеину соответственно)

Table 1. Microbial biomass and respiratory responses of microbial communities in the model experiment (13th month from the beginning of the experiment). AL, AA, AC – the ratio of ascorbate responses to lactate, acetate, and cysteine, respectively)

Вариант	Биомасса нмоль/г	Дыхательный отклик, мкг С-СО ₂ / г час				Соотношения		
		Аскорбат	Лактат	Ацетат	Цистеин	АЛ	АА	АЦ
Жир	27.2	57.1	5.5	2.0	7.0	10.5	29.1	8.2
Масло	19.9	57.7	4.5	1.2	4.4	12.8	46.3	13.1
Крахмал	34.0	57.7	4.5	1.2	3.5	12.8	46.3	16.5
Растения	37.3	53.9	5.6	1.7	3.9	9.7	32.5	13.8
Желагин	18.7	54.0	3.0	2.5	0.3	17.9	21.5	192.3
Казеин	23.0	75.3	3.1	2.8	0.0	24.0	27.0	∞
Контроль	23.1	48.6	3.0	1.2	1.7	16.2	39.2	29.2

стительные остатки) и низкими – в белковых вариантах эксперимента. Отношение дыхательного отклика микробных сообществ на внесение карбоновых кислот к дыхательному отклику на внесение аминокислот свидетельствует об условиях недостатка азота в почве и может быть индикатором исходного присутствия субстратов с низким содержанием азота (жиры, полисахариды). Было установлено, что такое использование соотношений дыхательных откликов на внесение аскорбиновой кислоты ко внесению других индукторов дыхания, особенно на внесение цистеина (АЦ) являются перспективным для их использования в качестве индикаторов в реконструкциях исходного присутствия белковых и липидных / полисахаридных материалов в различных археологических контекстах.

Дыхательные отклики микробных сообществ на внесение солей карбоновых кислот были высокими для всех вариантов эксперимента и превышали контроль в 1,5–2,7 раз, отклики на внесение аминокислот (соединения, богатые азотом) различались в зависимости от варианта эксперимента: в вариантах с внесением безазотистых материалов (липидных и полисахаридных – жиров, крахмала, растительных остатков) были высокими, а в белковых (азотсодержащих) – низкими. Таким образом, недостаток азота, сформировавшийся в почве в результате разложения безазотистых материалов, был причиной высокого отклика микроорганизмов на внесение аминокислот, богатых азотом, и наоборот, разлагая белковые материалы,

микробные сообщества не испытывали недостатка в этом элементе и отклик на внесение аминокислот был невысоким. Отношение откликов на внесение карбоновых кислот к таковому на внесение аминокислот в вариантах с белковыми (азотсодержащими) материалами было стабильно выше контроля в 1,5–6 раз, а в вариантах с липидными и полисахаридными материалами существенно ниже контроля, составляя 38–63 %. Устойчивость выявленных откликов прослеживалась на разных сроках эксперимента, спустя 8–13 месяцев от его начала показатели оставались специфичными и достоверными [Khomutova et al., 2019, p. 963–965].

С целью сокращения количества субстратов в системе МСТ для археологических реконструкций были выбраны только четыре: из группы солей карбоновых кислот – аскорбат, лактат и ацетат, из группы аминокислот – цистеин (табл. 1). Соотношения дыхательных откликов на аскорбат к откликам на ацетат (далее – АА), лактат (далее – АЛ) и цистеин (далее – АЦ) были использованы для индикации материалов белковой и липидной (полисахаридной) природы. Показатель АА был индикаторным в отношении разложения на 8-й и 13-й месяцы эксперимента, показатель АЛ – на 10-й месяц, а показатель АЦ был индикаторным на протяжении всех измерений. Результаты МСТ для 13-го месяца эксперимента представлены на рисунке 2. Азотистые (белковые) и безазотистые (липидные и полисахаридные) варианты занимали различные позиции в координатах двух факторов, описы-

вающих 60 % (фактор 1) и 26 % (фактор 2) дисперсии.

Реконструкция исходного содержимого сосуда из подкурганного погребения «Бейсужек-35» (табл. 2) проводилась на основании исследования состояния микробных сообществ в пяти слоях заполнения, отобранных от венчика (V-1) до дна (V-5). Величина микробной биомассы, оцененная по содержанию фосфолипидов (далее – ФЛ) увеличивалась от венчика до дна сосуда и в придонном слое в 4,5 раза превышала таковую в верхнем слое. Это однозначно указывает на то, что исходно в сосуде находился питательный продукт, причем его разложение не достигло конечных стадий минерализации. В данной статье впервые приводится сопоставление данных мультисубстратного тестирования почв модельного эксперимента и грунта в заполнении конкретного горшка из подкурганного захоронения. Отклики микробных сообществ на внесение дыхательных индукторов и их соотношения также были специфичны в придонном слое. На внесение аскорбата и цистеина в слое V-5 они были соответственно в 3 раза и на 60 % выше, чем в слое V-1, реакция на лактат и ацетат отличалась в меньшей степени, а соотношения ответов АЛ, АА и АЦ были соответственно в 4,2, 4 и 1,9 раза выше.

Можно заключить, что функциональное разнообразие микробных сообществ в придонном слое V-5 существенно отличается от вышележащих слоев, высокий показатель АЦ указывает на присутствие азотсодержащих материалов. Таким образом, характеристики

микробного сообщества придонного слоя сосуда свидетельствуют о композитной природе исходно содержащегося материала – можно полагать, что в его состав входили белки и трудно разлагаемые компоненты. Полученные данные свидетельствуют о том, что разложение питательного продукта привело не только к увеличению биомассы в придонном слое, но и к изменению функциональной структуры микробного сообщества. Результаты статистического анализа реакций микробных сообществ на введение четырех дыхательных индукторов для нижнего слоя (V-5) и модельного эксперимента представлены на рисунке 3. Положение придонного слоя заполнения сосуда находилось в полуплоскости с белковыми вариантами модельного эксперимента (фактор 1,54 % дисперсии) и в полуплоскости – с вариантами масла и крахмала (фактор 2,38 % дисперсии). Результаты мультисубстратного тестирования указывают на то, что сосуд изначально содержал белковый продукт. Сохранение высокой биомассы микроорганизмов и близость с вариантами безазотистых материалов в плоскости главных компонент позволяет предполагать возможную составляющую масла и крахмала.

Заключение

Проведенный модельный эксперимент позволил получить данные о характере и скорости микробного разложения пищевых продуктов в почве и выявить индикаторные показатели этого процесса. В ходе модельного

Таблица 2. Дыхательные отклики микробных сообществ в слоях сосуда «Бейсужек-35» от венчика (V-1) до дна (V-5): ФЛ – фосфолипиды; АЛ, АА, АЦ – отношение откликов на внесение аскорбата к таковому лактата, ацетата и цистеина соответственно)

Table 2. Respiratory responses of microbial communities in the layers of the vessel “Beisuzhek-35” from the top (V-1) to the bottom (V-5): FL-phospholipids; AL, AA, AC – the ratio of responses to the introduction of ascorbate to that of lactate, acetate and cysteine, respectively)

Слой	Биомасса, нмоль / г ФЛ *	Дыхательный отклик, мкг C-CO ₂ / г час				Соотношения **		
		Аскорбат	Лактат	Ацетат	Цистеин	АЛ	АА	АЦ
V-1	4.98	5.7	2.7	3.6	0.5	2.1	1.6	11.4
V-2	6.81	5.8	1.3	3.0	0.4	4.5	1.9	14.5
V-3	6.51	6.2	1.6	2.9	0.4	3.8	2.1	15.5
V-4	6.27	6.9	1.3	3.6	0.9	5.3	1.9	7.7
V-5	22.89	17.8	2.0	2.8	0.8	8.9	6.4	22.2

Примечания. * Биомасса живых клеток, рассчитанная по содержанию фосфолипидов. ** Соотношения величин дыхательных откликов: АЛ – аскорбат / лактат; АА – аскорбат / ацетат; АЦ – аскорбат / цистеин.

эксперимента было установлено, что скорость микробного разложения связана с обеспеченностью микробных сообществ азотом. Так, белковые материалы быстро и полностью минерализуются, а безазотистые вещества (жир, крахмал) минерализуются гораздо медленнее. Недостаток азота, сформировавшийся в почве в результате разложения безазотистых материалов, стал причиной высокого дыхательного отклика микроорганизмов на внесение аминокислот, богатых азотом, и наоборот, при разложении белков микробные сообщества не испытывают недостатка в этом элементе и отклик на внесение аминокислот невысок. Таким образом, микробные сообщества при разложении различных материалов приобретают различающиеся функциональные особенности, которые регистрируются в системе мультисубстратного тестирования.

Выявлены индикаторные индукторы дыхательных откликов микробных сообществ – аскорбат, лактат и ацетат из группы солей карбоновых кислот, цистеин – из группы аминокислот, которые перспективны для использования в реконструкциях исходного содержимого ритуальных сосудов. Хотя в археологических ситуациях процессы разложения материалов в заполнении сосудов идут существенно медленнее, показана возможность использования результатов модельного эксперимента для реконструкций.

Реконструкция исходного содержимого горшка из подкурганного погребения «Бейсужек-35» проведена на основании характеристик микробных сообществ на разных уровнях заполнения сосуда от венчика до дна. Величина микробной биомассы в придонном слое в 4,5 раза превышала таковую в верхнем слое, что однозначно вызвано исходным присутствием в сосуде питательного продукта.

Разложение исходного содержимого горшка привело не только к увеличению микробной биомассы в придонном слое, но и к изменению функциональной структуры микробного сообщества. Отклики микробных сообществ на внесение дыхательных индукторов и их соотношения указывают на то, что в состав исходного содержимого входили белки с возможным включением безазотистых соединений.

Таким образом, сравнительный анализ результатов мультисубстратного тестирования почвенных микробных сообществ в грунте заполнения сосудов и в почвах модельного эксперимента по разложению известных пищевых продуктов позволяет на качественном уровне реконструировать исходное содержимое горшков. С помощью данного метода возможно разделение ритуальных пищевых продуктов на уровне «азотистые – безазотистые субстраты». Принимая во внимание потенциальный ограниченный набор ритуальных продуктов в горшках, это дает возможность диагностировать исходное присутствие белковой пищи или жиров.

ПРИМЕЧАНИЯ

¹ Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 17-29-04257.

This study was supported by the Russian Foundation for basic research, project no. 17-29-04257.

² В соответствии с концепцией биомаркеров, предложенной для реконструкции исходного присутствия органики в различных археологических контекстах [Evershed, 2008, с. 895–924], мы будем оперировать термином «биомаркер» пищи в горшках, что, как мы полагаем, даст нам возможность исключить все недостатки и ограничения количественного подхода к реконструкции содержимого горшков.

ИЛЛЮСТРАЦИИ



Рис. 1. Погребение 6 кургана 8 могильника «Бейсужек-35» и исследованный горшок
Fig. 1. Burial 6 of mound 8 of the Beisuzhek-35 kurgan cemetery and the investigated pot

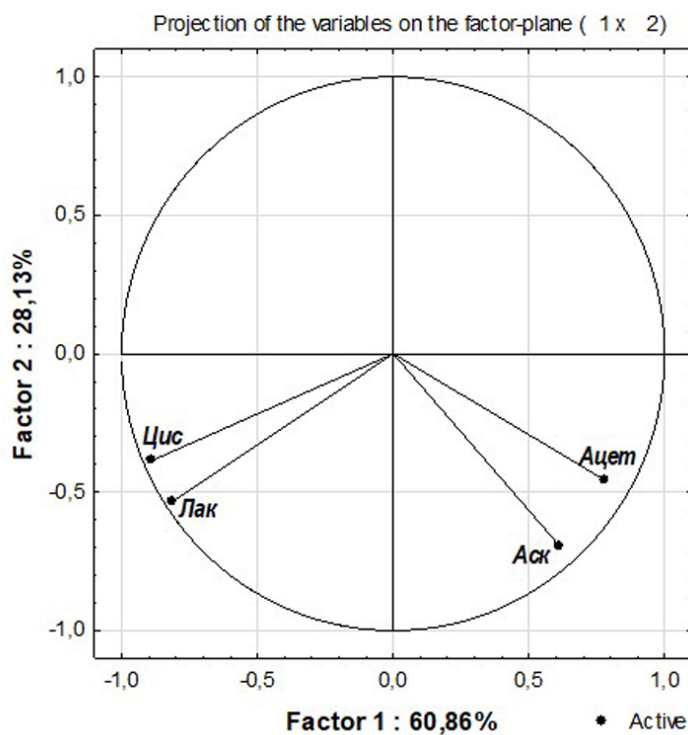
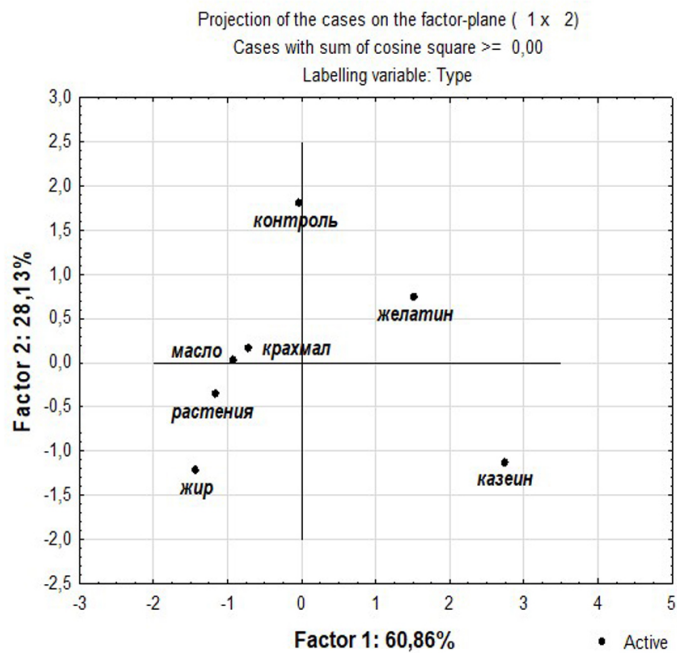


Рис. 2. Распределение вариантов модельного эксперимента (13-й месяц от его начала) в плоскости главных компонент. Анализ проведен для следующих индукторов микробного дыхания: аск – аскорбат, ацет – ацетат, лак – лактат, цис – цистеин

Fig. 2. Distribution of variants of the model experiment (13th month from its beginning) on the factor plane. Analysis is performed for the following respiratory inducers: ascorbate, lactate, acetate, and cysteine

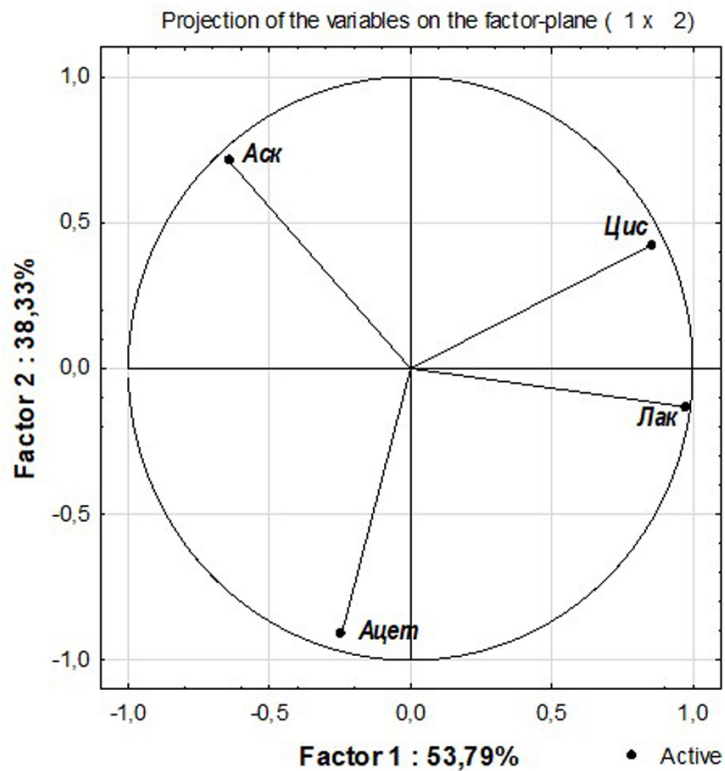
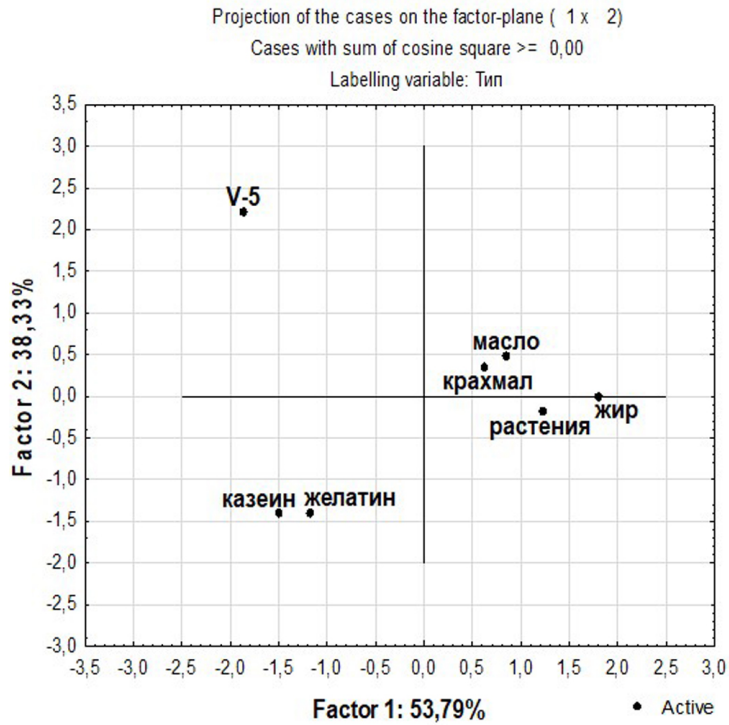


Рис. 3. Положение придонного слоя (V-5) сосуда «Бейсужек-35» в плоскости распределения вариантов модельного эксперимента (показатели, взятые в анализ: дыхательные отклики на аскорбат, лактат, ацетат, цистеин)

Fig. 3. Location of the bottom layer (V-5) of the «Bejsuzhek-35» vessel on the plane of distribution of the variants of model experiment (variables taken into analysis: respiratory responses to ascorbate, lactate, acetate, and cysteine)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Борисов А. В., Демкин В. А., Ельцов М. В., Сергацков И. В., 2004. Исходное содержимое глиняных сосудов из курганного могильника Авиловский II // *Материалы по археологии Волго-Донских степей*. Вып. 2. Волгоград : Изд-во ВолГУ. С. 55–60.
- Борисов А. В., Демкин В. А., Ганчак Т. В., Ельцов М. В., 2006. Исследование содержимого глиняных сосудов из курганных захоронений эпохи поздней бронзы могильника Неткачево I // *Материалы по археологии Волго-Донских степей*. Вып. 3. Волгоград : Изд-во ВолГУ. С. 376–387.
- Демкин В. А., Демкина Т. С., Удальцов С. Н., 2014. Реконструкция погребальной пищи в глиняных сосудах из курганных захоронений с использованием фосфатного и микробиологических методов // *Вестник археологии, антропологии и этнографии*. № 2 (25). С. 148–159.
- Chernysheva E. V., Korobov D. S., Khomutova T. E., Borisov A. V., 2015. Urease Activity in Cultural Layers at Archaeological Sites // *Journal of Archaeological Science*. Vol. 57. P. 24–31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.01.022>.
- Craig O. E., Love G. D., Isaksson S., Taylor G, Snape C. E., 2004. Stable Carbon Isotopic Characterization of Free and Bound Lipid Constituents of Archaeological Ceramic Vessels Released by Solvent Extraction. Alkaline Hydrolysis and Catalytic Hydrolysis // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. Vol. 71, iss. 2. P. 613–634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2003.09.001>.
- Degens B. P., Harris J. A., 1997. Development of a Physiological Approach to Measuring the Catabolic Diversity of Soil Microbial Communities // *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 29, iss. 9–10. P. 1309–1320. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00076-X).
- Evershed R., 2008. Organic Residues Analysis in Archaeology: the Archaeological Biomarkers Revolution // *Archaeometry*. Vol. 50 (6). P. 895–924. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2008.00446.x>.
- Frostegård A., Bååth E., 1996. The Use of Phospholipid Fatty Acid Analysis to Estimate Bacterial and Fungal Biomass in Soil // *Biology and Fertility of Soils*. № 22 (1). P. 59–65. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00384433>.
- Isaksson S., Hallgren F., 2012. Lipid Residue Analyses of Early Neolithic Funnel-Beaker Pottery from Skogsmossen, Eastern Central Sweden, and the Earliest Evidence of Dairying in Sweden // *Journal of Archaeological Science*. № 39 (12). P. 3600–3609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2012.06.018>.
- Kashirskaya N., Chernysheva E., Plekhanova L., Borisov A., 2019. Thermophilic Microorganisms as an Indicator of Soil Microbiological Contamination in Antiquity and at the Present Time // 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2019. Conference Proceedings. Vol. 19. P. 569–574.
- Khomutova T. E., Demkin V. A., 2011. Assessment of the Microbial Biomass Using the Content of Phospholipids in Soils of the Dry Steppe // *Eurasian Soil Science*. Vol. 44, № 6. P. 686–692. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229311060081>.
- Khomutova T. E., Demkina T. S., Borisov A. V., Shishlina I. I., 2017. State of Microbial Communities in Paleosols Buried under Kurgans of the Desert-Steppe Zone in the Middle Bronze Age (27th–26th Centuries BC) in Relation to the Dynamics of Climate Humidity // *Eurasian Soil Science*. Vol. 50, № 2. P. 229–238. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229317020065>.
- Khomutova T., Borisov A., 2019. Estimation of Microbial Diversity in the Desert Steppe Surface Soil and Buried Palaeosol (IV mil. BC) Using the TRFLP Method // *Journal of Arid Environments*. Vol. 171. P. 104004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.104004>.
- Khomutova T. E., Dushchanova K. S., Smirnov V. E., Borisov A. V., 2019. Succession of Microbial Community in Gray Forest Soil during the Decomposition of Different Organic Compounds // *Eurasian Soil Science*. Vol. 52. № 8. P. 963–970. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229319080088>.
- Margesin R., Siles J. A., Cajthaml T., Ohlinger B., Kistler E., 2017. Microbiology Meets Archaeology: Soil Microbial Communities Reveal Different Human Activities at Archaic Monte Iato (sixth century BC) // *Microbial Ecology*. Vol. 73. P. 925–938. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0904-8>.
- Peters S., Borisov A., Reinhold S., Korobov D., Thiemeyer H., 2014. Microbial Characteristics of Soils Depending on the Human Impact on Archaeological Sites in the Northern Caucasus // *Quaternary International*. Vol. 324. P. 162–171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2013.11.020>.
- Pető Á., Gyulai F., Pópitay D., Kenéz Á., 2013. Macro- and Micro-Archaeobotanical Study of a Vessel Content from a Late Neolithic Structured Deposition from Southeastern Hungary // *Journal of Archaeological Science*. № 40 (1). P. 58–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2012.08.027>.

REFERENCES

- Borisov A.V., Demkin V.A., Eltsov M.V., Sergatskov I.V., 2004. Ishodnoe sodержimoe glinyanyh sosudov iz kurgannogo mogilnika Avilovskiy II [Initial Content of Clay Vessels from the Kurgan Cemetery Avilovskiy II]. *Materialy po arheologii Volgo-Donskih stepej* [Proceedings of Archaeology of the Volga-Don Steppes], iss. 2. Volgograd, Volgograd state University, pp. 55-60.
- Borisov A.V., Demkin V.A., Ganchak T.V., Eltsov M.V., 2006. Izuchenie sodержimogo glinyanyh sosudov iz kurgannyh pogrebenij kurgannogo mogilnika pozdnej bronzy Netkachevo I [Studies of the Content of Clay Pots from the Kurgan Burials of the Late Bronze Ages Kurgan Cemetery Netkachevo I]. *Materialy po arheologii Volgo-Donskih stepej* [Proceedings of Archaeology of the Volga-Don Steppes], iss. 3. Volgograd, Volgograd State University, pp. 376-387.
- Demkin V.A., Demkina T.S., Udaltsov S.N., 2014. Rekonstruktsiya pogrebalnoj pishchi v glinyanyh sosudah iz kurgannyh zahoroneniij s ispolzovaniem fosfatnogo i mikrobiologicheskogo metodov [Reconstruction of Funeral Food in Clay Vessels in the Kurgan Burials Using the Phosphate and Microbiological Methods]. *Vestnik arheologii, antropologii i etnografii* [Bulletin of Archaeology, Anthropology and Ethnography], no. 2 (25), pp. 148-159.
- Chernysheva E.V., Korobov D.S., Khomutova T.E., Borisov A.V., 2015. Urease Activity in Cultural Layers at Archaeological Sites. *Journal of Archaeological Science*, vol. 57, pp. 24-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.01.022>.
- Craig O.E., Love G.D., Isaksson S., Taylor G, Snape C.E. 2004. Stable Carbon Isotopic Characterization of Free and Bound Lipid Constituents of Archaeological Ceramic Vessels Released by Solvent Extraction. Alkaline Hydrolysis and Catalytic Hydropyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 71, iss. 2, pp. 613-634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2003.09.001>.
- Degens B.P., Harris J.A., 1997. Development of a Physiological Approach to Measuring the Catabolic Diversity of Soil Microbial Communities. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 29, iss. 9-10, pp. 1309-1320. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00076-X).
- Evershed R., 2008. Organic Residues Analysis in Archaeology: the Archaeological Biomarkers Revolution. *Archaeometry*, vol. 50 (6), pp. 895-924. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2008.00446.x>.
- Frostegård A., Bååth E., 1996. The Use of Phospholipid Fatty Acid Analysis to Estimate Bacterial and Fungal Biomass in Soil. *Biology and Fertility of Soils*, no. 22 (1), pp. 59-65. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00384433>.
- Isaksson S., Hallgren F., 2012. Lipid Residue Analyses of Early Neolithic Funnel-Beaker Pottery from Skogsmossen, Eastern Central Sweden, and the Earliest Evidence of Dairying in Sweden. *Journal of Archaeological Science*, no. 39 (12), pp. 3600-3609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2012.06.018>.
- Kashirskaya N., Chernysheva E., Plekhanova L., Borisov A., 2019. Thermophilic Microorganisms as an Indicator of Soil Microbiological Contamination in Antiquity and at the Present Time. *19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2019. Conference Proceedings*, vol. 19, pp. 569-574.
- Khomutova T.E., Demkin V.A. 2011. Assessment of the Microbial Biomass Using the Content of Phospholipids in Soils of the Dry Steppe. *Eurasian Soil Science*, vol. 44, no. 6, pp. 686-692. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229311060081>.
- Khomutova T.E., Demkina T.S., Borisov A.V., Shishlina I.I., 2017. State of Microbial Communities in Paleosols Buried under Kurgans of the Desert-Steppe Zone in the Middle Bronze Age (27th – 26th Centuries BC) in Relation to the Dynamics of Climate Humidity. *Eurasian Soil Science*, vol. 50, no. 2, pp. 229-238. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229317020065>.
- Khomutova T., Borisov A., 2019. Estimation of Microbial Diversity in the Desert Steppe Surface Soil and Buried Palaeosol (IV mil. BC) Using the TRFLP Method. *Journal of Arid Environments*, vol. 171, p. 104004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.104004>.
- Khomutova T.E., Dushchanova K.S., Smirnov V.E., Borisov A.V., 2019. Succession of Microbial Community in Gray Forest Soil during the Decomposition of Different Organic Compounds. *Eurasian Soil Science*. vol. 52, no. 8. pp. 963-970. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1064229319080088>.
- Margesin R., Siles J.A., Cajthaml T., Ohlinger B., Kistler E., 2017. Microbiology Meets Archaeology: Soil Microbial Communities Reveal Different Human Activities at Archaic Monte Iato (sixth century BC). *Microbial Ecology*, vol. 73, pp. 925-938. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0904-8>.

- Peters S., Borisov A., Reinhold S., Korobov D., Thiemeyer H., 2014. Microbial Characteristics of Soils Depending on the Human Impact on Archaeological Sites in the Northern Caucasus. *Quaternary International*, vol. 324, pp. 162-171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2013.11.020>.
- Pető Á., Gyulai F., Pópty D., Kenéz Á., 2013. Macro- and Micro-Archaeobotanical Study of a Vessel Content from a Late Neolithic Structured Deposition from Southeastern Hungary. *Journal of Archaeological Science*, no. 40 (1), pp. 58-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2012.08.027>.

Information About the Authors

Tatiana E. Khomutova, Candidate of Sciences (Biology), Leading Scientist, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences, Institutskaya St., 2, 142290 Pushchino, Russian Federation, khomutova-t@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9856-3025>

Kamilla S. Dushchanova, Postgraduate Student, Pushchino Institute of Natural Sciences, Prosp. Nauki, 3, 142290 Pushchino, Russian Federation, kamilla.dushchanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7980-9560>

Alexandr V. Borisov, Candidate of Sciences (Biology), Leading Scientist, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences, Institutskaya St., 2, 142290 Pushchino, Russian Federation, a.v.borisovv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5031-7477>

Информация об авторах

Татьяна Эдуардовна Хомутова, кандидат биологических наук, ведущий сотрудник, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, ул. Институтская, 2, 142290 г. Пушкино, Российская Федерация, khomutova-t@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9856-3025>

Камилла Савировна Душанова, аспирант, Пушкинский естественнонаучный институт, просп. Науки, 3, 142290 г. Пушкино, Российская Федерация, kamilla.dushchanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7980-9560>

Александр Владимирович Борисов, кандидат биологических наук, ведущий сотрудник, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, ул. Институтская, 2, 142290 г. Пушкино, Российская Федерация, a.v.borisovv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5031-7477>