

ANTROPOLOGICKÝ A GENETICKÝ ROZBOR „HROBU“ 414 A 415 Z VELKOMORAVSKÉHO HRADIŠTĚ SV. HYPOLITA VE ZNOJMĚ

EVA DROZDOVÁ – HANA NOVÁČKOVÁ

Short article follows the previous contribution by B. Klíma, who discovered the Great Moravian fortified settlement in Znojmo, he evaluated it from the archaeological point of view and also dated an interesting discovery of two human skeletal remains thrown into a well. Anthropological research has provided more detailed information on both the tragically deceased people. The entire skeleton belonged to a six-year-old boy and a part of another skull belonged to an adult, about sixty-year-old man.

The dating of the tragedy that B. Klíma associated with the conquest of the fortified settlement by the Hungarians before the mid-10th century will be specified by a further research carried out by the C14 radiocarbon method.

Key words: skeletons in a well; anthropological and genetical assessment; Great Moravian stronghold Znojem.

Úvod

Na pozemku P. Dobeše ve Znojmě-Hradišti byl při záchranném výzkumu katedry historie PdF MU, prováděném před výstavbou rodinného domu, prošetřen také 230 cm hluboký objekt (č. 543) pravidelného válcovitého tvaru. V jeho záspy byla objevena část lidské lebky, označená jako (hrob 414) a na dně jámy potom zcela kompletní, dobře zachovalá dětská kostra (hrob 415).

Kosterní materiál byl prostudován antropologicky i geneticky.

Metody antropologického výzkumu

Antropologické posouzení kosterního materiálu se skládalo především z určení věku kosterních pozůstatků z obou hrobů, kdy byl věk nositele lebky z hrobu 414 určen metodou posouzení obliterace vnějších lebečních švů, podle Rösinga.¹ U dítěte z hrobu 415 byl věk určen podle stupně vývoje chrupu na základě Ubelakerova schématu.²

Metody genetického výzkumu

Izolaci genetického materiálu jsme provedly ze vzorků kostní tkáně (Hr. 414) a zubní tkáně (Hr. 415). Vzorky byly odebrány za standardních podmínek, to znamená za dodržení přísných

¹ KNUSSMANN, R. (ed.): *Anthropologie, Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen (4. Auflage des Lehrbuchs der Anthropologie begründet von Rudolf Martin), Band I und II.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1988.

² Tamtéž.

protikontaminačních opatření, která jsou vždy dodržována při práci s aDNA.³ Veškerá činnost spojená s izolací a amplifikací DNA proběhla v laboratořích určených pouze pro práci s aDNA. Izolace byla provedena dvakrát prostřednictvím dvou izolačních postupů (tedy celkem čtyřikrát): první pomocí silikátových kolonek (MinElute™ PCR purification Kit, Quiagen) a druhou izolační metodu představoval postup pomocí magnetických částic (PrepLifer® BTA Forensic DNA Extraction Kit, AB).⁴

Určení pohlaví a kvantifikace množství aDNA získané z každé z izolací jsme provedly prostřednictvím real-time PCR s využitím forenzních kitů Plexor® HY (Promega) a Investigator® Quantiplex HYres (Quiagen).

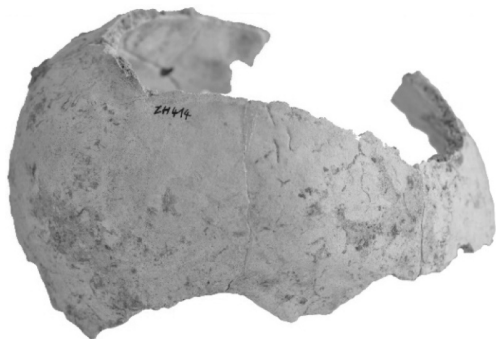
Že se skutečně jedná o lidskou, mužskou DNA, bylo také ověřeno pomocí PCR a gelové elektroforézy s využitím primerů pro 62 bp dlouhý fragment lidské tyrozin hydroxylázy (ověření určení přítomnosti lidské DNA) a 116 bp dlouhý fragment genu SRY (ověření přítomnosti lidské mužské DNA).

Výsledky

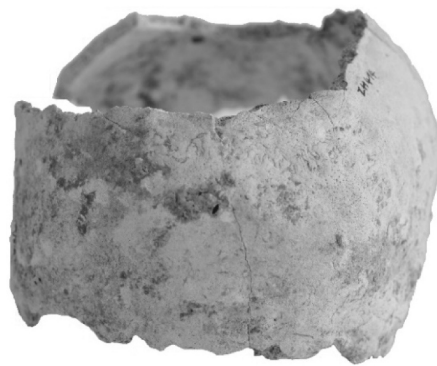
Hrob 414

Věk asi 60 let – senilis, pohlaví nemohlo být určeno.

Zachoval se silně poškozený fragment mozkovny, tvořený částí lební klenby (obr. 1). Chybí většina mozkovny, lební báze i celá obličejová část. Mohly jsme studovat vlastně jen části šupin všech krycích kostí lebky (os frontale, ossa parietalia a os occipitale). Nález zbytku lebky neposkytl žádné pohlavní znaky, které by bylo možné pro antropologickou analýzu použít. Kostí jsou silné, zvláště v oblasti protuberantia occipitalis externa a eminentia cruciformis z vnitřní strany,



Obr. 1. Fragment mozkovny z hrobu 414.



Obr. 2. Os incae na squama occipitalis mozkovny z hrobu 414.

³ YANG, D. Y. – WATT, K.: *Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis*. Journal of Archaeological Science 32: s. 331–336. 2005; PÄÄBO, S. – POINAR, H. – SERRE, D. – JAENICKE-DESPRÉS, V. – HEBLER, J. – ROHLAND, N. – KUCH, M. – KRAUSE, J. – VIGILANT, L. – HOFREITER, M.: *Genetic Analyses from Ancient DNA*. Annu. Rev. Genet. 38: s. 645–679. 2004.

⁴ ANDERUNG, C. – PERSSON, P. – BOUWMAN, A. – ELBURG, R. – GÖTHERSTRÖM, A.: *Fishing for ancient DNA*. Forensic Science International, 2008, Genetics. 2, s. 104–107; YANG, D. Y. – ENG, B. – WAYE, J. S. – DUDAR, J. C. – SAUNDERS, S. R.: *Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns*. American journal of physical anthropology, 105, 1998, s. 539–543.

Tab. 1. Shrnutí základních antropologických charakteristik u obou hrobů.

hrob č.	pohlaví	věk	poznámka
H414 Dobeš	neurčeno	60 a více let	fragment mozkovny, přítomna výrazná sutura mendosa a os incae
H415 Dobeš	mužské	6 let	nepoškozený skelet i lebka. Slabé Harrisovy linie na kostech dolních končetin

ale není vyvinut výběžek protuberantia occipitalis externa. Ani metrickou analýzu jsme nemohly provést, protože byly poškozeny, nebo nebyly k dispozici všechny důležité antropometrické body.

Vzhledem k absenci pohlavních znaků na zachovalém fragmentu mozkovny, byl učiněn pokus o stanovení pohlaví geneticky, ze vzorků odebraných z kostí mozkovny. Genetická analýza neprokázala přítomnost DNA v kostní tkáni. Z toho důvodu nelze pohlaví určit ani genetikou cestou.

Určení věku bylo možné provést pouze podle uzavření lebečních švů.⁵ A to pouze v oblasti švu lambdového a věncového. Lebeční švy jsou na zachovalých částech mozkovny téměř všechny srostlé, otevřené zůstávají pouze úseky sutura mendosa, která je na fragmentu, spolu s os incae, patrná (obr. 2) a sutura lambdaidea. Věk byl stanoven přibližně na 60 let, tedy do věkové kategorie senilis.

Okraje lomů jsou ostré, makroskopicky bez známek hojení. RTG vyšetření (obr. 3) rovněž neukázalo v této oblasti žádné změny. Proto lze poškození lebečních kostí považovat za post-mortální.



Obr. 3. RTG snímek mozgovny z hrobu 414 neukazuje žádné změny vzniklé před smrtí.

⁵ KNUSSMANN, R. (ed.): Anthropologie, Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen (4. Auflage des Lehrbuchs der Anthropologie begründet von Rudolf Martin), Band I und II. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1988.

Hrob 415

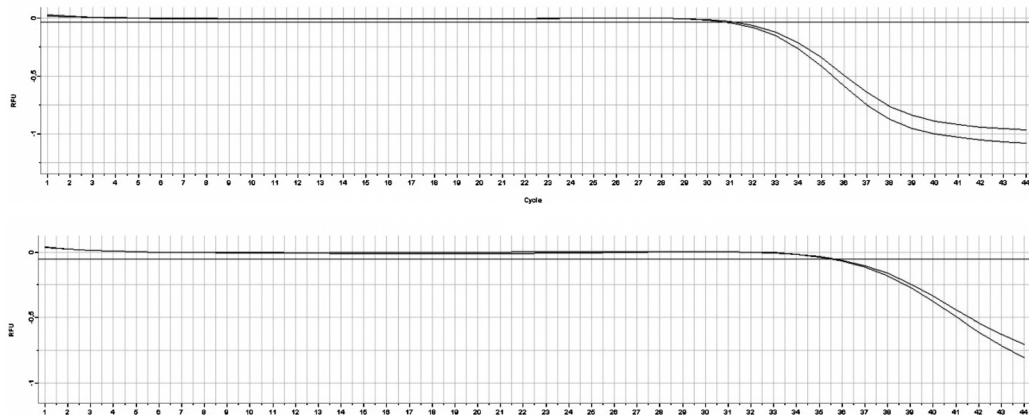
Pohlaví dítěte jsme určili jako mužské, protože genetická analýza prokázala přítomnost chromozomu Y (obr. 4, 5, 6). Věkově, podle stupně vývoje chrupu, dosáhl chlapec stáří asi 6 let (obr. 7). Kostra se velmi dobře zachovala (obr. 8) a to jak lebka, tak i většina kostí postkranialního skeletu spolu s nepřirostlými epifýzami. Na kostře jsme neobjevily patologické změny, které by mohly sloužit jako podklad pro zjištění příčiny úmrtí.

Závěr

Nálezová situace obou koster je značně neobvyklá. Na dně studny archeologové objevili pohozenou kostru asi šestiletého chlapce, bez vizuálních známek zranění nebo patologických změn na kostech (Hr. 415). Provedly jsme i analýzu kostry prostřednictvím RTG vyšetření, které prokázalo pouze přítomnost slabých Harrisových linií v tělech dlouhých kostí dolních končetin (obr. 9). Ty indikují sklerotické změny ve tvorbě kostní tkáně v dlouhých kostech. A to při působení stresu na dětský organismus a jeho ústup a návrat do normálu.⁶

V zásypu nad první kostrou se našla zničená lebka (Hr. 414) asi 60letého člověka, která měla odlámaný všechny pohlavní znaky. Antropologicky (morfologicky ani metricky) proto nebylo možné u ní určit pohlaví.

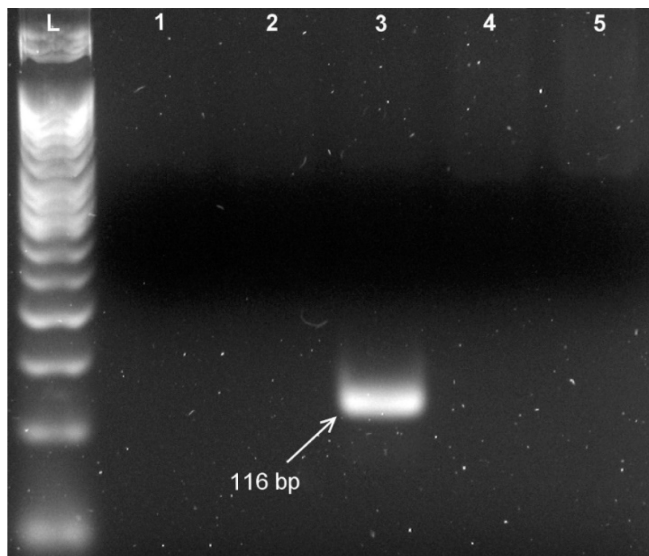
Výsledky genetické analýzy prokázaly, že pouze vzorky odebrané z hrobu 415 obsahovaly lidskou DNA, vhodnou pro další analýzy. Mohly jsme tak doložit genetické určení pohlaví pohřbeného dítěte jako mužské. Opakovaná izolace DNA ze vzorků kostní tkáně z hrobu 414 přítomnost DNA neprokázala. Díky této skutečnosti nebylo možné provést další plánované analýzy založené na genetické bázi, jako např. porovnání genetických profilů obou pohřbených nebo studium jejich původu.



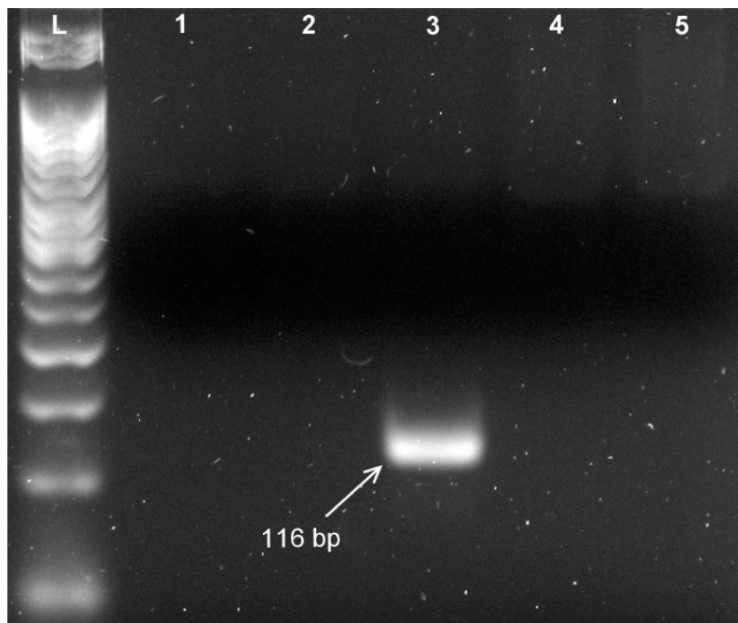
Obr. 4. Genetické určení pohlaví. Křivky poklesu fluorescence při real-time PCR pomocí Plexor® HY (Promega) u vzorku ZH_413. (a) Pokles při amplifikaci autozomální DNA. (b) Pokles při amplifikaci Y DNA.

⁶ HORÁČKOVÁ, L. – STROUHAL, E. – VARGOVÁ, L.: *Základy paleopatologie*. Nadace Universitas Masarykiana. Brno 2004.

Jak ukázala antropologická analýza, na žádné z nalezených koster se nenacházejí odchylky od normálu, které bylo možné považovat za příčinu úmrtí.



Obr. 5. Určení pohlaví. Gelová elektroforéza produktů amplifikace s primery pro gen SRY (116 bp dlouhý produkt). V jamce 3 se nachází vzorek ZH_415, v jamce 4 se nachází vzorek ZH_414.



Obr. 6. Ověření přítomnosti lidské DNA v analyzovaných vzorcích prostřednictvím gelové elektroforézy produktů amplifikace s primery pro lidskou tyrozin hydroxylázu (62 bp dlouhý produkt). V jamce 3 se nachází vzorek ZH_415, v jamce 4 se nachází vzorek ZH_414.



Obr. 7. RTG snímek vývoje zubů v dolní čelisti chlapce z hrobu 415.



Obr. 8. Všechny objevené kosterní pozůstatky chlapce z hrobu 415.



Obr. 9. RTG snímek dlouhých kostí chlapce z hrobu 415.

doc. RNDr. Eva Drozdová, Ph.D. – Mgr. Hana Juránková
Laboratoř biologické a molekulární antropologie
Ústav experimentální biologie
Přírodovědecká fakulta MU
Kamenice 753/5, bud. A 36/345
625 00 Brno
Česká republika
drozdova@sci.muni.cz